МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ЗАРЕГИСТРИРОВАНО
Регистрационный № 58095
от "15" апреля 2020 г.

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(Минсельхоз России)

П Р И К А З

от 27 марта 2020 г. **№**160

Москва

Об утверждении Методики производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных

В соответствии с пунктом 13 Правил государственной регистрации генно-инженерно-модифицированных организмов, предназначенных для выпуска в окружающую среду, а также продукции, полученной с применением таких организмов или содержащей такие организмы, включая указанную продукцию, ввозимую на территорию Российской Федерации, утвержденных постановлением Правительства Российской Федерации от 23 сентября 2013 г. № 839 (Собрание законодательства Российской Федерации, 2013, № 39, ст. 4991), п р и к а з ы в а ю:

Утвердить прилагаемую Методику производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных.

Министр Д.Н. Патрушев

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДЕНА
приказом Минсельхоза России
от 27.03.2020г № 160

М Е Т О Д И К А
производства экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных

I. Общие положения

1. Настоящая Методика устанавливает порядок проведения экспертиз (исследований) биологической безопасности генно-инженерно-модифицированных организмов, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных (далее – экспертиза, ГМО соответственно).

2. Экспертиза проводится организацией (испытательной лабораторией), аккредитованной в национальной системе аккредитации с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике.

3. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО приведены в главах V, VI настоящей Методики.

4. Результаты экспертизы оформляются заключением о результатах экспертизы, составленным на основании протоколов исследований ГМО, которое должно содержать следующие сведения:

наименование заключения;

полное наименование и место нахождения организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы;

наименование ГМО с указанием его таксономического статуса;

полное наименование, место нахождения, идентификационный номер налогоплательщика юридического лица, осуществляющего на территории Российской Федерации генно-инженерную деятельность в целях создания ГМО (далее – заявитель);

полное наименование и место нахождения юридического лица либо фамилия, имя, отчество (при наличии), место жительства индивидуального

предпринимателя – изготовителя образцов ГМО, представленных на экспертизу;

вид предполагаемого целевого использования ГМО;

сведения о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

место депонирования и коллекционный номер (указывается для депонированных штаммов ГМО);

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГМО, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создан ГМО, в отношении которого проведена экспертиза (в случае если ГМО создан на основе иного (иных) ГМО);

регистрационный номер свидетельства о государственной регистрации ГМО для иного целевого использования (при наличии);

сведения о регистрации ГМО за рубежом (при наличии);

оценка полноты представленных заявителем документов и данных;

краткое содержание документов и данных, представленных заявителем для проведения экспертизы;

перечень исследований ГМО с указанием их результатов;

описание представленных заявителем на экспертизу образцов ГМО и исходного организма-реципиента с указанием их количества, а также оценку их пригодности для проведения исследований;

выводы о результатах экспертизы: о наличии или отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду;

специальные условия использования ГМО (при наличии);

срок действия свидетельства о государственной регистрации ГМО (в случае отсутствия сведений о негативном воздействии ГМО на окружающую среду);

фамилии, имена, отчества (при наличии) лиц, проводивших экспертизу, ученые степени, ученые звания (при наличии), места их работы и должности;

дата и номер заключения экспертизы;

подпись руководителя организации (испытательной лаборатории), осуществившей проведение экспертизы.

5. К заключению о результатах экспертизы должны прилагаться протоколы исследований ГМО, на основании которых оно составлено, подписанные лицами, проводившими исследования.

6. В случае если заявителем не представлены документы и данные, предусмотренные пунктами 7, 11, 15 настоящей Методики, и (или) необходимые образцы, пригодные для проведения исследований в случаях, если протоколы исследований не представлены заявителем, экспертиза не проводится. Заявителю должен быть выдан мотивированный отказ в проведении экспертизы, подписанный руководителем организации (испытательной лаборатории), аккредитованной в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике, в которую обратился заявитель для проведения экспертизы.

II. Экспертиза ГМО, используемого для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм

7. В рамках экспертизы ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, осуществляется анализ представленных заявителем документов и данных:

а) наименования ГМО с указанием его таксономического статуса; полного наименования, места нахождения, идентификационного номера налогоплательщика заявителя; полного наименования и места нахождения юридического лица либо фамилии, имени, отчества (при наличии), места жительства индивидуального предпринимателя – изготовителя образцов ГМО, предоставленных на экспертизу; вида предполагаемого целевого использования ГМО; регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГМО, предназначенного (предназначенных) для выпуска в окружающую среду, на основе которого (которых) создан ГМО, в отношении которого проводится экспертиза (в случае если ГМО создан на основе иного (иных) ГМО); регистрационного номера свидетельства о государственной регистрации ГМО для иного целевого использования (при наличии) либо информации об отсутствии такого свидетельства;

б) сведений об исходном организме-реципиенте (таксономическая характеристика с указанием метода идентификации; источник выделения штамма: субстрат, географический пункт, дата выделения; методы идентификации штамма, кем идентифицирован (фамилия, имя, отчество (при наличии)), ссылка на использованные определители);

в) описания структуры генетической конструкции (внесенной или удаленной) и места ее локализации, характеристики экспрессии встроенных или измененных генов;

г) сведений о трансформационном событии в виде кода, сформированного согласно Общероссийскому классификатору трансформационных событий;

д) информации о способе генетической модификации (описание метода модификации, структуры вектора, структуры вставки);

е) информации о месте депонирования и коллекционном номере штамма ГМО, паспорт штамма ГМО (для депонированных штаммов ГМО) либо следующей информации (в случае непредставления информации о месте депонирования и коллекционном номере штамма ГМО, паспорта штамма ГМО):

о культурально-морфологических, физиолого-биохимических (ферментативных), антигенных, биологических свойствах и генетических особенностях штамма ГМО;

об условиях культивирования: наименованиях питательных сред, pH среды, температуре и продолжительности выращивания, сроке хранения и периодичности пересева культуры штамма ГМО в нативной форме;

о применяемом способе и условиях хранения штамма ГМО: в случае лиофилизации указывается продолжительность выращивания на питательной среде (возраст культуры), состав защитной среды, титр клеточной суспензии, режим высушивания, температура хранения, срок хранения; в случае криоконсервации указывается продолжительность выращивания на питательной среде (возраст культуры), состав защитной среды, титр клеточной суспензии, скорость замораживания (град/мин), температура хранения, срок хранения;

о диссоциации культуры в зависимости от метода хранения (описание морфологических типов колоний на конкретной среде с подробным описанием типа, сохраняющего полезный или диагностический признак);

о среде, на которой заявителем предоставляется штамм ГМО;

о количестве, дате приготовления и сроке годности образцов штамма ГМО;

ж) информации о вносимых генах (для организмов-доноров указывается таксономический статус, данные о вирулентных, аллергенных и патогенных свойствах);

з) описания свойств, приобретенных ГМО в результате модификации;

и) характеристики различий ГМО с исходным организмом-реципиентом, в том числе описания способа размножения, распространения, вирулентности, схемы культивирования, новых фенотипических свойств, биологических преимуществах ГМО по сравнению с исходным организмом;

к) описания методик, позволяющих подтвердить таксономический статус ГМО и характеристику генетической модификации, описания нуклеотидных последовательностей, используемых праймеров, зондов, состава и свойств стандартных образцов;

л) результатов изучения стабильности ГМО, в том числе в организмах животных (крыс или мышей), а также оценки способности к переносу генов, введенных в исходный организм-реципиент с использованием методов генной инженерии, в том числе генов устойчивости к антибиотикам, в другие организмы;

м) информации о потенциальной колонизации ГМО в желудочно-кишечном тракте животных и его влиянии на естественную микрофлору;

н) информации о регистрации ГМО, кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, в государствах - членах Евразийского экономического союза, иных государствах или об отсутствии такой регистрации, а также о наличии либо отсутствии фактов о негативных последствиях применения ГМО, кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм;

о) копий заключения о результатах молекулярно-генетического исследования ГМО;

п) информации о биоинформатическом анализе, поиске гомологии рекомбинантного белка с аминокислотными последовательностями токсических белков, белков, обладающих фармакологической или иной

биологической активностью, при использовании специализированных баз данных;

р) информации об условиях промышленного культивирования ГМО;

с) протоколов исследований, указанных в пункте 8 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

8. В отношении ГМО, предназначенного для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, должны быть проведены следующие исследования в сравнении с исходным организмом-реципиентом:

а) токсикологические исследования на лабораторных животных;

б) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных;

в) исследование вирулентности ГМО на лабораторных животных;

г) исследования микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности на эритроцитах животных (в отношении ГМО-бактерий);

д) исследования стабильности свойств ГМО-бактерий, простейших, грибов;

е) исследование жизнестойкости ГМО на объектах окружающей среды, в том числе на влажных опилках, ватных тампонах, при термической обработке;

ж) исследование инвазивности ГМО с помощью кератоконъюнктивальной пробы;

з) исследование антагонистической активности ГМО с представителями резидентной микрофлоры кишечника;

и) иммунологические исследования ГМО на лабораторных животных.

9. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «с» пункта 7 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы ГМО и исходного организма-реципиента. Соответствующие исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертизы.

10. Если ГМО соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 19 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГМО.

III. Экспертиза ГМО, используемого для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм

11. В рамках экспертизы ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, осуществляется анализ представленных заявителем документов и данных, предусмотренных подпунктами «а» – «л», «о», «п», «р» пункта 7 настоящей Методики, а также:

а) информации о регистрации ГМО, кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, в государствах – членах Евразийского экономического союза, иных государствах или об отсутствии такой регистрации, а также о наличии либо отсутствии фактов негативных последствий применения кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм;

б) протоколов исследований, указанных в пункте 12 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

12. В отношении ГМО, предназначенных для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм, должны быть проведены следующие исследования образцов кормов и (или) кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося

микроорганизмом, или содержащих такой организм, образцов жизнеспособного ГМО в сравнении с исходным организмом-реципиентом:

а) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных;

б) исследования на отсутствие жизнеспособного ГМО с использованием микробиологических методов в представленных образцах кормов и кормовых добавок для животных;

в) токсикологические исследования на лабораторных животных;

г) иммунологические исследования на лабораторных животных.

13. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «б» пункта 11 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы кормов и (или) кормовых добавок для животных, образцы жизнеспособного ГМО и образцы исходного организма-реципиента. Исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертизы.

14. Если ГМО соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 20 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГМО.

IV. Экспертиза ГМО, используемых для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм

15. Экспертиза ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм, должна включать анализ представленных заявителем документов и данных, указанных в подпунктах «а» – «д», «ж», «з», «и», «к», «о» – «р» пункта 7 настоящей Методики, а также:

а) информации о регистрации ГМО, кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм, в государствах-членах Евразийского экономического союза, иных

государствах или об отсутствии такой регистрации, а также о наличии либо отсутствии фактов негативных последствий применения кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм;

б) результатов изучения стабильности рекомбинантного белка при обработке, хранении, технологической переработке; влияния температуры и pH, возможных модификаций и (или) образований стабильных белковых фрагментов в результате различных воздействий; устойчивости белка к обработке протеолитическими ферментами в эксперименте;

в) результатов исследований острой пероральной токсичности белка в эксперименте на лабораторных животных (мышах или крысах);

г) протоколы исследований, указанных в пункте 16 настоящей Методики, проведенных в организациях (испытательных лабораториях), аккредитованных в национальной системе аккредитации, с областью аккредитации, соответствующей исследованиям, указанным в настоящей Методике (при наличии).

16. В отношении ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм, должны быть проведены следующие исследования образцов ГМО в сравнении с исходным организмом-реципиентом:

а) оценка композиционной эквивалентности ГМО и исходного организма-реципиента;

б) токсикологические исследования ГМО на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности;

в) иммунологические исследования ГМО на лабораторных животных;

г) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных.

17. В случае отсутствия у заявителя протоколов исследований, указанных в подпункте «г» пункта 15 настоящей Методики, им должны быть представлены образцы ГМО и образцы исходного организма-реципиента. Соответствующие исследования этих образцов проводятся организацией (испытательной лабораторией), осуществляющей проведение экспертизы.

18. Если ГМО соответствует показателям (условиям) безопасности, указанным в пункте 21 настоящей Методики, заявителю должно быть выдано заключение об отсутствии негативного воздействия ГМО на окружающую среду. В заключении об отсутствии негативного воздействия на окружающую среду могут быть указаны специальные условия использования ГМО.

V. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО, являющегося микроорганизмом

19. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением жизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм:

а) токсикологические исследования на лабораторных животных должны проводиться на самцах и самках крыс или мышей (в зависимости от вида животных, сведения о которых представлены заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики) в течение 90 календарных дней при соотношении полов 1:1. Животные должны быть разделены на 2 равные группы: группа «контроль» и группа «опыт». Группа «контроль» должна получать рацион с включением исходного организма-реципиента; группа «опыт» должна получать рацион с включением исследуемого ГМО. Обе группы животных должны получать одинаковый по объему и составу рацион, за исключением включенного исследуемого ГМО или исходного организма-реципиента. Исследуемый ГМО и исходный организм-реципиент должен быть включен в состав корма в равном количестве. Животные должны иметь доступ к корму и воде, содержаться в помещении с системой отопления и регулируемым микроклиматом.

Должны исследоваться следующие показатели состояния животных:

персистенция и выделение ГМО из организма животных;

общее состояние животных: внешний вид, двигательная активность, состояние шерстного покрова – каждые 2 календарных дня; поедаемость корма – ежедневно; масса тела – каждые 7 календарных дней;

гематологические показатели крови: концентрация гемоглобина; гематокрит; общее количество эритроцитов; средний объем эритроцита (СОЭ); среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССЭ); средняя концентрация гемоглобина в эритроците (СКЭ); общее количество

тромбоцитов; общее количество лейкоцитов; дифференцированный подсчет лейкоцитов (нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы, моноциты, базофилы);

биохимические показатели крови: аланинаминотрансфераза (АЛТ); аспартатаминотрансфераза (АСТ); желчные кислоты; фосфатаза щелочная; билирубин общий; билирубин прямой; белок общий; альбумин; глобулин; креатинин; глюкоза; альфа-амилаза; липаза; лактатдегидрогеназа; общие липиды; триглицериды; холестерин; холинэстераза; мочевина; хлориды; натрий; фосфор; калий;

общий анализ мочи: цвет и прозрачность; относительная плотность; pH; белок; глюкоза; креатинин.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови, персистенции и показателей мочи должны проводиться на 90-й календарный день опыта у 50% животных из каждой группы. По окончании восстановительного периода (10-й календарный день со дня окончания дачи рациона с ГМО, 101-й календарный день опыта) должны проводиться те же исследования у второй половины животных каждой группы.

Скармливание животным рациона, содержащего ГМО, не должно вызывать клинических изменений (показатели крови, мочи, общего состояния животных группы «опыт», персистенции и выделения ГМО не должны отклоняться от показателей группы «контроль»), не должны выявляться патологоанатомические изменения при вскрытии;

б) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных должны проводиться на крысах линии Вистар. Животные должны быть разделены на 2 равные группы: группа «контроль» и группа «опыт». Группа «контроль» должна получать рацион с включением исходного организма-реципиента; группа «опыт» должна получать рацион с включением исследуемого ГМО. Обе группы животных должны получать одинаковый по объему и составу рацион, за исключением включенного исследуемого ГМО или исходного организма-реципиента. Исследуемый ГМО и исходный организм-реципиент должен быть включен в состав корма в равном количестве. Рацион не должен содержать яичный белок. Животные должны иметь доступ к корму и воде; содержаться в помещении с системой отопления и регулируемым микроклиматом.

На 1-й, 3-й, 5-й календарный день опыта крысам внутрибрюшинно должен вводиться пищевой антиген – овальбумин куриного яйца (далее –

ОВА), а на 21-й календарный день эксперимента должна вводиться доза ОВА, уменьшенная в 10 раз в сравнении с дозами, введенными ранее. Кормление рационами необходимо продолжать до 29-го календарного дня эксперимента и, затем необходимо ввести внутривенно ОВА, после чего должны быть оценена на протяжении 24 часов тяжесть развивающейся реакции анафилаксии по величине анафилактического индекса. Непосредственно перед внутривенным введением разрешающей дозы у крыс должна отбираться кровь в количестве 0,1 - 0,2 мл из хвостовой вены для иммуноферментного определения уровня специфических антител к ОВА.

Тяжесть реакции анафилактического шока в каждой из групп животных должна оцениваться по анафилактическому индексу, учитывающему тяжесть реакции анафилаксии, и проценту летальных реакций анафилаксии.

Вычисление анафилактического индекса должно проводиться по формуле:

$$\frac{(Nx4) + (N1x3) + (N2x2) + (N3x1) + (N4x0)}{N + N1 + N2 + N3 + N4},$$

где:

N – число животных, у которых наступила смерть;

N1 – число животных, у которых развился тяжелый анафилактический шок (асфиксия, общие судороги, при которых животное теряет способность удерживаться на лапах, не погибает);

N2 – число животных, у которых развился умеренный анафилактический шок (судороги, при которых животное не теряет способность удерживаться на лапах, бронхоспазм);

N3 – число животных, у которых развился слабый анафилактический шок (беспокойство, учащенное дыхание, почесывание мордочки, непроизвольное мочеиспускание, дефекация, шерсть взъерошена);

N4 – животные, у которых анафилактический шок не наступил.

Анафилактический индекс и процент летальных реакций анафилаксии группы «опыт» не должен превышать анафилактический индекс и процент летальных реакций анафилаксии группы «контроль». Уровень антител к ОВА у группы «опыт» не должен отличаться от уровня антител к ОВА группы «контроль»;

в) исследования вирулентности ГМО на лабораторных животных должны проводиться на свободных от специфических патогенов мышах, цыплятах с определением летальной дозы для 50% лабораторных

животных (далее – ЛД50). Определение ЛД50 проводится путем внутрибрюшинного введения по 0,1 $см^3$ живой суточной культуры исследуемого штамма в концентрации 1x10(9), 1x10(7), 1x10(5) и 1x10(3) КОЕ/$см^3$. Каждая группа животных должна быть размещена в отдельные клетки и в течение 10 календарных дней необходимо наблюдать за гибелью животных. В качестве контрольных групп должны использоваться группы животных, которым внутрибрюшинно вводится стерильный физиологический раствор или вирулентный штамм с установленной дозой ЛД50. По завершении эксперимента необходимо подсчитать гибель животных в каждой группе и определить ЛД50. Если ЛД50 равна 5x10(8) КОЕ/$см^3$ и более штамм считается авирулентным. ЛД50 для штамма ГМО не должна быть меньше ЛД50 исходного организма-реципиента;

г) исследования микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности на эритроцитах животных должны проводиться в отношении штаммов ГМО-бактерий. Эксперименты необходимо проводить с использованием компонентов (сред, диагностических панелей, антибиотиков, бактериофагов и иных) и методов согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Определение микробиологических свойств, чувствительности к антибиотикам и бактериофагам, гемолитической активности ГМО необходимо проводить с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать.

Микробиологические свойства, чувствительность к антибиотикам и бактериофагам, гемолитическая активность ГМО не должны отличаться от свойств исходного организма-реципиента в части, не затронутой генетической модификацией;

д) стабильность свойств ГМО-бактерий, простейших, грибов должна проверяться при пассировании исследуемых штаммов на жидких и плотных питательных средах с тестированием фенотипических (биохимических) свойств через 6 последовательных пассажей. Молекулярно-генетическими методами должен исследоваться исходный ГМО и ГМО после шестикратного пассирования. Стабильными являются штаммы ГМО-бактерий, простейших, грибов, не изменившие фенотипических (биохимических) свойств и сохранившие генетическую структуру после проведения шестикратного пассирования. ГМО-бактерии,

простейшие, грибы должны демонстрировать стабильность фенотипических (биохимических) свойств и генетической структуры;

е) исследование жизнестойкости ГМО на объектах окружающей среды, в том числе на влажных опилках, ватных тампонах, после термической обработки должно проводиться с использованием питательных сред, культур клеток или иных тест-объектов, чувствительных к исходному организму-реципиенту, согласно информации, представленной заявителем в соответствии с пунктом 7 настоящей Методики. Эксперименты должны проводиться с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия экспериментов для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. Жизнестойкость ГМО в окружающей среде не должна превышать жизнестойкость исходного организма-реципиента;

ж) определение инвазивности ГМО с помощью кератоконъюнктивальной пробы должно осуществляться путем внедрения ГМО и исходного организма-реципиента в качестве контроля в эпителиальные клетки конъюнктивы и роговицу лабораторных животных для оценки размножения в них. Условия эксперимента для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. Инвазивность ГМО не должна превышать инвазивность исходного организма-реципиента;

з) при определении антагонистической активности ГМО для контроля должны использоваться исходный организм-реципиент и тест-штаммы микроорганизмов, представляющие основные виды резидентной кишечной микрофлоры животных-реципиентов (грамположительные: облигатно-анаэробные бактерии-лактобактерии, бифидобактерии, пептостептококки; грамотрицательные: облигатно-анаэробные бактерии, бактероиды, факультативно-анаэробные микроорганизмы, кишечная палочка, стафилококки, стрептококки, дрожжеподобные грибы рода Candida). Уровень антагонистической активности в отношении штаммов резидентной микрофлоры должен определяться методом отсроченного антагонизма на плотной среде по зонам задержки роста тест-штаммов. Антагонистическое действие ГМО не должно проявляться к представителям резидентной микрофлоры и не должно превышать антагонистическую активность исходного организма-реципиента;

и) иммунологические исследования ГМО должны проводиться на мышах линий СВА, высокочувствительных к введению эритроцитов

барана и нечувствительных к гистамину и Salmonella typhimurium, и C57B1/6, низкочувствительных к введению эритроцитов барана, чувствительных к гистамину и Salmonella typhimurium, и должны включать изучение иммуномодулирующих и сенсибилизирующих свойств по четырем тестам: действие на гуморальное звено иммунитета в тесте определения уровня гемагглютининов к эритроцитам барана; действие на клеточное звено иммунитета в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к эритроцитам барана; действие как сенсибилизирующего агента в тесте чувствительности к гистамину; действие на естественную резистентность мышей к Salmonella typhimurium. Эксперименты должны проводиться с использованием в качестве контроля исходного организма-реципиента. Условия экспериментов для исходного организма-реципиента и ГМО должны совпадать. ГМО должен быть не менее безопасен, чем исходный организм-реципиент.

20. Требования к проведению исследований и показатели (условия) биологической безопасности ГМО для производства кормов и кормовых добавок для животных, полученных с применением нежизнеспособного ГМО, являющегося микроорганизмом, или содержащих такой организм:

а) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных должны проводиться на крысах линии Вистар в порядке, установленном подпунктом «б» пункта 19 настоящей Методики;

б) исследования образцов кормов и кормовых добавок для животных на отсутствие жизнеспособного ГМО должны проводиться с использованием микробиологических методов. В качестве контрольных посевов и (или) пассажей должна использоваться живая культура штамма;

в) токсикологические исследования на лабораторных животных должны проводиться в соответствии с подпунктом «а» пункта 19 настоящей Методики;

г) иммунологические исследования ГМО должны проводиться в соответствии с подпунктом «и» пункта 19 настоящей Методики.

VI. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО растительного или животного происхождения

21. Требования к проведению исследований и показатели (условия) безопасности ГМО для производства кормов и кормовых добавок

для животных, полученных с применением ГМО растительного или животного происхождения или содержащих такой организм:

а) оценка композиционной эквивалентности ГМО и исходного организма-реципиента должна проводиться с целью исключения риска снижения биологической полноценности ГМО по результатам сравнения химического состава ГМО с химическим составом исходного организма-реципиента по следующим показателям:

содержание белка;

аминокислотный состав;

содержание жира;

жирнокислотный состав;

углеводный состав;

содержание витаминов;

содержание макро- и микроэлементов;

содержание биологически активных веществ;

содержание аллергенов;

содержание антропогенных и природных контаминантов (токсичных элементов, микотоксинов, пестицидов, радионуклидов, вредных примесей);

содержание антинутриентов.

В случае если генетическая модификация направлена на изменение химического состава ГМО, химический состав ГМО должен соответствовать данным, представленным заявителем в соответствии с пунктом 15 настоящей Методики. В случае если генетическая модификация не направлена на изменение химического состава ГМО, химический состав ГМО не должен отличаться от химического состава исходного организма-реципиента;

б) токсикологические исследования ГМО на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности должны проводиться на двух поколениях крыс линии Вистар в течение 180 календарных дней.

Токсикологические исследования должны включать изучение репродуктивной функции крыс поколения F0, изучение эмбриотоксического и тератогенного действий, регистрируемых в пре- и постнатальном периодах развития потомства поколения F1, а также оценку физиолого-биохимических показателей крыс поколения F0, F1. Эксперимент проводится на самцах и самках крыс (исходный возраст 25 – 30 дней). Животные должны быть разделены на 2 равные группы:

группа «контроль» и группа «опыт». Группа «контроль» должна получать рацион с включением исходного организма-реципиента; группа «опыт» должна получать рацион с включением исследуемого ГМО. Обе группы животных должны получать одинаковый по объему и составу рацион, за исключением включенного исследуемого ГМО или исходного организма-реципиента. Исследуемый ГМО и исходный организм-реципиент должен быть включен в состав корма в равном количестве. Количество животных в группах в начале эксперимента должно составлять 55 самок и 25 самцов. Животные должны иметь доступ к корму и воде; содержаться в помещении с системой отопления и регулируемым микроклиматом.

Должны оцениваться показатели состояния животных:

общее состояние животных (внешний вид, двигательная активность, состояние шерстного покрова) - каждые 2 календарных дня; поедаемость корма - ежедневно; масса тела - каждые 7 календарных дней;

гематологические показатели крови: концентрация гемоглобина; гематокрит; общее количество эритроцитов; средний объем эритроцита (СОЭ); среднее содержание гемоглобина в эритроците (ССЭ); средняя концентрация гемоглобина в эритроците (СКЭ); общее количество тромбоцитов; общее количество лейкоцитов; дифференцированный подсчет лейкоцитов (нейтрофилы, лимфоциты, эозинофилы, моноциты, базофилы);

биохимические показатели крови: аланинаминотрансфераза (АЛТ); аспартатаминотрансфераза (АСТ); желчные кислоты; фосфатаза щелочная; билирубин общий; билирубин прямой; белок общий; альбумин; глобулин; креатинин; глюкоза; альфа-амилаза; липаза; лактатдегидрогеназа; общие липиды; триглицериды; холестерин; холинэстераза; мочевина; хлориды; натрий; фосфор; калий;

общий анализ мочи: цвет и прозрачность; относительная плотность; pH; белок; глюкоза; креатинин.

Исследование гематологических и биохимических показателей крови, персистенции и показателей мочи должны проводиться на 90-й календарный день опыта у половины животных из каждой группы. По окончании восстановительного периода (10-й календарный день со дня окончания дачи рациона с ГМО, 101-й календарный день опыта) должны проводиться те же исследования у второй половины животных каждой группы.

На 90-й и 180-й календарные дни эксперимента (плановый забой 15 крыс на группу) должны выполняться макроскопические и микроскопические исследования, обзорные гистологические исследования, морфометрический анализ, определения массы внутренних органов (головного мозга, сердца, селезенки, легких, тимуса, гипофиза, печени, почек, надпочечников, матки, яичников и семенников). Для погибших в течение эксперимента животных должны проводиться морфологические исследования кожи, головного мозга, сердца, аорты, селезенки, легких. В случае если невозможно установить причину смерти, дополнительно должны проводиться морфологические исследования лимфатических узлов, тимуса, щитовидной железы, гипофиза, желудка, тонкой и толстой кишки, печени.

Токсикологическое исследование на лабораторных животных с изучением репродуктивной токсичности на двух поколениях крыс линии Вистар (F0 и F1) должны быть продолжены на третьем поколении (F2) и четвертом поколении (F3) указанных лабораторных животных в случаях, если:

в результатах исследований между группой «опыт» и группой «контроль» наблюдаются различия в диапазоне между погрешностью эксперимента и величиной двукратной погрешности (статистически значимое различие) по исследуемым показателям;

между группой «опыт» и группой «контроль» наблюдаются различия по следующим показателям: пигментация, отклонение в поведении, появление нехарактерных физиологических, анатомических, биохимических признаков;

в процессе проведения экспертизы (исследования) получены данные из научных источников о негативном влиянии исследуемого ГМО на окружающую среду.

Скармливание животным рациона, содержащего ГМО, не должно вызывать клинических изменений (показатели крови, мочи, общего состояния животных, персистенции и выделения ГМО не должны отклоняться от показателей группы «контроль»), не должны выявляться патологоанатомические изменения при вскрытии;

в) иммунологические исследования ГМО должны проводиться в порядке, установленном подпунктом «и» пункта 19 настоящей Методики;

г) аллергологические исследования ГМО на лабораторных животных должны проводиться на крысах линии Вистар в соответствии с подпунктом «б» пункта 19 настоящей Методики.

gost.e-ecolog.ru