

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-----------------------	--	----------------------

1 Požadavky na rozsah testování GMO pro suroviny a krmiva

Minimální požadavky pro jednotlivé podniky v řetězci certifikace bez GMO jsou uvedeny ve Standardu bez GMO kap. 7.2 Odběry vzorků a rozborů / intervaly auditu. V tomto dokumentu jsou uvedeny postupy pro provádění testování přítomnosti GMO v surovinách a krmivech.

Informace uvedené v tomto dokumentu **nezohledňují všechny GMO suroviny nebo přídavné látky**, které jsou schváleny v EU (např. bavlník, brambory atp.), tolerované nebo mohou být obsaženy v krmivech podle nařízení EU č. 619/2011 včetně variant jejich použití. GMO, která nejsou povolena v EU, nejsou součástí minimálních požadavků na provádění testování. V případě přezkoumání správného označování surovin nebo krmiv v případě, že jsou použity jiné suroviny nebo přídavné látky obsahující GMO (zahrnující jiné GMO povolené v EU, GMO tolerované v krmivech podle nařízení EU č. 619/2011 a GMO nepovolené v EU), se řídí požadavky platné legislativy, především nařízení 1829/2003 ES a 1830/2003 ES.

Rozsah testování je pravidelně kontrolován, a to jak prováděnými audity, tak konzultacemi vlastníka standardu s laboratořemi, které provádění testování GMO a podle potřeby je prováděna aktualizace minimálních požadavků na provádění vzorkování a rozborů GMO u surovin a krmiv. V případě vývoje, kdy jsou relevantní jiné GMO (např. zprávy RASFF), budou poskytnuty certifikovaným společnostem odpovídající požadavky na provádění analýz včas.

Informace uvedené v tomto dokumentu však neznamenají, že certifikované společnosti zapojené do certifikace podle standardu bez GMO, jsou zbaveny povinnosti pravidelně provádět vlastní testy na přítomnost GMO v surovinách nebo v konečných produktech (směsích) a případně aktualizovat rozsah prováděných analýz.

1.1 Princip prevence

Principem pro zabránění kontaminace nebo vstupu neshodného produktu (suroviny obsahující GMO) je testování na přítomnost GMO v surovinách při jejich příjmu. Pravidla pro provádění testování připouští pro prevenci používat prvotní screening na přítomnost GMO.

Pro screening lze využít:

- Orientační metodu FLD – strip test a orientační metoda ELISA pro jednotné komodity jako je sója, kukuřice, řepka atd.
- Provedení screeningu formou PCR

Dále viz kapitola 2.

2 Testování GMO obecná pravidla

Při provádění testování vzorku na přítomnost GMO je vhodné postupovat následovně.

Pro prvotní zjištění provést screening, zda je GMO ve vzorku suroviny nebo krmiva obsažena.

Při provádění screeningu musí být vyloučeny všechny známé genetické modifikace konkrétní suroviny. V případě pozitivního výsledku testu je třeba provést kvantifikaci, za účelem zjištění, zda se jedná se o relevantní množství $> 0,1\%$ - $\leq 0,9\%$; $> 0,9$ nebo stopové množství $< 0,1\%$, které je považováno za technicky nevyhnutelné.

Obecně uznanou metodou je PCR metoda pro provedení kvantifikace GMO v surovině nebo směsi.

Pro provádění orientačního testování se připouští použití jiných adekvátních a validovaných orientačních metod, které poskytují informace o výskytu GMO v konkrétním jednodruhovém nebo směsném krmivu. V případě použití této metody musí být tato metoda předem schválena a musí být předložen odpovídající validační protokol.

Pro provedení přesné kvantifikace je využívána PCR metoda v akreditované laboratoři schválené VLOG.

Další přípustné metody pro provedení testování (screening) a orientační kvantifikaci jsou:

- Orientační metoda FLD – strip test a orientační metoda ELISA pro jednotné komodity jako je sója, kukuřice, řepka atd. Použité testy musí být validovány na dané komodity. V případě positivity při použití strip test metody musí být provedena kvantifikace pomocí metody PCR v akreditované laboratoři schválené VLOG.
- Případně adekvátní metody s předložením dokumentace, prokazující verifikačního protokolu nebo ověření přesnosti

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-----------------------	--	----------------------

2.1 Schválení výsledku provedeného testování

Výsledky musí být schváleny podle zásady čtyř očí autorizovanou osobou nebo jinou způsobilou osobou.

Možnosti ověření principem 4 očí:

- V případě realizace screeningu pomocí FLD proužků musí být výsledek ověřen jinou osobou v konkrétním provozu. V případě pozitivního testu udělat test ještě jednou – konfirmační test, kontrola. Touto osobou může být např. zástupce dodavatele, nadřízený pracovník v provozu atp.
- Při provádění rozboru PCR metodou v akreditované laboratoři, je ověření prováděno dle schválených interních postupů kvality konkrétní akreditované laboratoře, která rozbor provádí.

2.2 Dokumentování provedených kontrolních rozborů na přítomnost GMO

2.2.1 Požadavky na záznam o výsledku provedeného testování – FLD proužky

Protokol o provedeném testování pomocí FLD proužků musí obsahovat:

- Jednoznačnou identifikaci vzorku – název
- datum odběru vzorku, popř. číslo vzorku nebo jinou identifikaci (např. SPZ auta atd.)
- druh – typ provedeného rozboru
- Jméno podniku, popřípadě kdo si nechává vzorek analyzovat
- Metoda stanovení
- datum stanovení
- Identifikaci osoby, která provedla rozbor
- Výsledek provedeného rozboru s jednoznačným uvedením výsledku – (+= pozitivní; - = negativní), v případě pozitivního výsledku rozboru (+) je doporučeno provedení kvantifikace pomocí akreditované metody PCR
- Datum zpracování protokolu
- Identifikaci osoby, která provedla přezkoumání výsledku provedeného rozboru

Protokol nemusí být veden v případě, že certifikovaná organizace provádí kontrolní orientační rozbor každé dodávky surovin, vede knihu nebo jinou evidenci provedených rozborů s jednoznačnou identifikací konkrétní dodávky, identifikací vzorku, výsledku provedeného testu a identifikací osoby, která rozbor provedla. Dokumentace o provedeném testu musí být jednoznačně dohledatelná ke konkrétní dodávce a dodací dokumentaci.

2.2.2 Požadavky na záznam o výsledku provedeného rozboru – PCR metoda

Protokol z akreditované laboratoře při provedení rozboru na přítomnost GMO metodou PCR, musí splňovat formát validované metody podle udělené akreditace laboratoři a být schválena pro provádění testování GMO od VLOG.

2.3 Pozitivní výskyt GMO

Při pozitivním výsledku provedeného rozboru – screeningu musí být k dispozici důkaz pro provedení identifikace shody mezi organizací a laboratoři. Za tímto účelem musí být vždy vzorek opatřen jednoznačnou identifikací. Při výskytu GMO, které způsobují pozitivní výsledky screeningu je třeba provést monitorování a účinná opatření.

Mezi opatření patří vyloučení nečistot (přenosy GMO z jiných druhů rostlin) z kukuřice, sóji atp.

V případě pozitivního výsledku provedeného orientačního testu vzorku jednodruhového nebo směsného krmiva, provedeného podle plánu pro odběry vzorků, je informován dodavatel, který daný vzorek odebral a nechal testovat (mlékárna (NK), VKS, distributor, provozovatel mobilní míchárny atd.) laboratoři, která test provedla.

V případě kontrolního testu pomocí jiné metody, než je laboratoří provedený PCR rozbor, je v případě pozitivního výsledku provést potvrzení a kvantifikaci pomocí PCR metody v akreditované laboratoři schválené pro provádění testování GMO od VLOG.

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-----------------------	--	----------------------

2.4 Následné činnosti při pozitivním výsledku provedeného testování

V případě pozitivního výsledku provedeného testování na přítomnost GMO ve vzorku (orientační metodou nebo metodou PCR) je kontaktován dodavatel nebo poskytovatel služby (příloha č. 20 - Oznámení dodavateli o pozitivním výsledku testu na přítomnost GMO v krmivu a vyjádření dodavatele).

Výskyt je dokumentován a je vedeno Nápravné opatření vůči dodavateli nebo poskytovateli služby podle čl. 7.1.8 - Nápravná opatření / neustálé zlepšování Standardu Bez GMO.

Nápravné opatření zahrnuje provedení potvrzení výsledku zjištění provedením rozboru na přítomnost GMO – kvantifikace metodou PCR.

3 Minimální požadavky na suroviny / jednosložková a směsná krmiva

3.1 Minimální požadavky na suroviny / jednosložková krmiva

3.1.1 Sója jako surovina nebo jednodruhové krmiva ze sóji

Stanovení a hodnocení celkové hodnoty nejdůležitějších sójových GMO:

- Kvantifikace GTS 40-3-2 (RRS-1)
- Kvantifikace MON89788 (RRS-2)
- Kvalitativní detekce A2704-12
- Kvalitativní detekce A5547-127 LL

V případě pozitivního výsledku pro A2704 a A5547 lze analyzovat množství tohoto GMO pomocí metody PCR nebo podobnou metodou, která zajistí přítomnost dostatečného množství konkrétního DNA. U hodnot vyšších < 0,1% se musí provést kvantifikace konkrétního množství obsahu GMO.

Laboratoř bude pracovat s parametry screeningu, které detekují uvedené GMO.

Při identifikaci GMO v surovině nebo jednodruhovém krmivu musí být provedena kvantifikace a musí být ověřeny všechny varianty GMO (pokud jsou odpovídající prvky pozitivní). Přítomnost GMO musí být kvantifikována.

Pro provádění testování, a to screeningu nebo orientační kvantifikace se připouští využití strip testu (GMO identifikace pomocí testovacích proužků).

Strip testy lze použít pouze na konkrétní vstupní komodity a modifikace, pro které je metoda FLD validována.

Zpravidla se jedná o kukuřici, sóju, řepku, rýži, cukrovou řepu.

Použití testovacích proužků je pouze orientační metoda pro ověření, zda je v surovině nebo jednodruhovém krmivu přítomno GMO. V případě positivity je nutné provést kvantifikaci pomocí metody PCR (viz čl. 2).

Jedná se o semikvantitativní metodu detekce genetické modifikace DNA. Metoda při testu detekuje modifikovanou DNA (screening) s možností kvantifikace pomocí čtečky (software využívá orientační kvantifikaci.) Testovací rozsah je < 0.1% - >5%.

Rozsah metody je:

- < 0.1%
- 0.1-0.5%
- 0.5-1.0%
- 1.0-5.0%
- > 5%

3.1.2 Kukuřice jako surovina nebo jednodruhové krmiva z kukuřice

1. Screening pro promotor 35S (p35S) a NOS Terminator (tNOS).

Mohou být zavedeny i jiné prvky screeningu, aby se snížilo odpovídající GMO.

2. Pokud je výsledek pozitivní: Musí být provedena analýza přinejmenším pro NK603, TC1507, MON810, MON89034 + RRS-1

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-----------------------	--	----------------------

Pokud byly použity při screeningu jeden nebo více z uvedených parametrů, a lze je vyloučit z uvedených typů GMO kukuřice (nebylo detekováno), musí být provedena detekce dalších typů genetické modifikace u komerčně dostupných GMO kukuřičných druhů, které připadají v úvahu.

V případě pozitivního výsledku screeningu je třeba provést kvantifikaci obsahu % GMO ve vzorku.

Při provádění testování musí provedeno vyloučení běžně komerčně dostupných typů GMO v kukuřici. V případě, že bylo provedeno testování s negativním výsledkem, je třeba dále provést testování ostatních typů GMO.

3. Provedení kvantifikace GMO v kukuřici

Identifikované druhy GMO musí být při zjištění jejich přítomnosti kvantifikovány, pokud se odhaduje koncentrace při použití například metody PCR nebo jiné podobné metody a pokud je zjištěna přítomnost různých druhů DNA, které přesahují hodnoty 0,1% (mez kvantifikace).

RRS-1 pozitivní:

Odhad obsahu sóji a stanovení množství GMO v sóje. Vždy je třeba vyjasnit, zda se jedná se o relevantní množství nebo minimální stopové množství. Pokud je zjištěna kontaminace obsahem GMO, je třeba provést posouzení – kvantifikaci.

Pro provádění testování, a to screeningu nebo orientační kvantifikace se připouští využití strip test (proužkový test) a pro provedení kvantifikace musí být využita PCR metoda.

Přípustné použití strip testu pro detekci modifikace GMO kukuřice:

- CP4 EPSPS (MON15985XMON88913)
- Cry3Bb1 (MON15985XMON88913)
- Cry1A.105 (MON15985XMON88913)
- Cry1F
- Cry34Ab1
- PAT, MPI
- Cry9C
- VIP3A

Strip testy lze použít pouze na konkrétní vstupní komodity a modifikace, pro které je metoda FLD validována.

Zpravidla se jedná o kukuřici, sóju, řepku, rýži, cukrovou řepu.

Použití testovacích proužků je pouze orientační metoda pro ověření, zda je v surovině nebo jednodruhovém krmivu přítomno GMO. V případě positivity je nutné provést kvantifikaci pomocí metody PCR (viz čl. 2).

Jedná se o semikvantitativní metodu detekce genetické modifikace DNA. Metoda při testu detekuje modifikovanou DNA (screening) s možností kvantifikace pomocí čtečky (software využívá orientační kvantifikaci.). Testovací rozsah je < 0.1% - >5%.

Rozsah metody je:

- < 0.1%
- 0.1-0.5%
- 0.5-1.0%
- 1.0-5.0%
- > 5%

3.1.3 Minimální požadavky na řepku jako surovinu nebo jednodruhová krmiva z řepky

1. Triple screening

Detekce všech relevantních GMO odrůd řepky (např. TNOS, PAT gen (nebo LibertyLink konstrukt), CTP2-CP4psps (nebo pFMV))

2. ID v závislosti na pozitivních výsledcích screeningu

- tNOS pozitivní: alespoň RRS + bar gen pro MS8 / RF3 nebo oba
- PAT gen / LibertyLink pozitivní: alespoň řepka T45
- CTP2-CP4epsps / pFMV pozitivní: alespoň GT73

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-------------------------------------	--	----------------------

3. Kvantifikace hodnoty GMO řepky

Identifikované odrůdy geneticky modifikované řepky se musí kvantifikovat, pokud je pro kvantitativní odhad množství použita například metoda PCR nebo jiná metoda, která zajistí přítomnost dostatečného množství DNA vede k hodnotám nad limit 0,1%.

Pozitivní výsledky screeningu musí být vysvětleny.

Pokud není detekována žádná GMO řepka, musí být provedeno ověření, zda není přítomna botanická kontaminace obsahující GMO sóji nebo kukuřice (odhad a hodnocení hmoty). Jedná se o relevantní množství nebo o stopové množství? Pokud je zjištěna kontaminace obsahem GMO, musí být provedeno oficiální analýza podle ověřené metodiky (PCR).

3.2 Minimální požadavky na krmné směsi

3.2.1 Minimální požadavky na krmné směsi obsahující sóju

Určení a hodnocení kvantifikace nejdůležitějších GMO:

Sója:

- Kvantifikace GTS 40-3-2 (RRS-1)
- Kvantifikace MON89788 (RRS-2)
- Kvalitativní detekce A2704-12
- Kvalitativní detekce A5547-127 LL

V případě pozitivního výsledku pro A2704 a A5547 lze množství tohoto GMO analyzovat pomocí metody PCR nebo podobným způsobem zajistit, že je přítomno dostatečné množství druhové DNA (např. Celkový obsah sóji ve vzorku). U hodnot vyšších než 0,1% se musí provádět kvantifikace, zda je množství GM v rozsahu > 0,1 % - ≤ 0,9% nebo > 0,9%.

V případě omezené analýzy sójové složky musí být uveden LOD (limit detekce).

Pro kukuřičnou složku:

Další kvalitativní detekce 4 komerčně dostupných kukuřičných modifikovaných odrůd: NK603, TC1507, MON810, MON89034

V případě pozitivního výsledku lze množství tohoto GMO analyzovat pomocí metody PCR nebo podobným způsobem zajistit, že je přítomno množství konkrétního druhové DNA. U hodnot vyšších než 0,1% se musí provádět kvantifikace detekovaných GMO.

V případě omezené analyzovatelnosti složky kukuřice musí být uveden LOD (limit detekce).

Pro složky řepky:

Další kvalitativní detekce řepky v krmné směsi jsou tyto modifikace GT73, MS8, RF3(bar Gen)

V případě pozitivní identifikace GT73, MS8, RF3, musí být provedena kvantifikace a případně odhad množství např. metodou PCR nebo jinou metodou, která zajistí, zda je přítomno konkrétní druhové DNA, vedoucích k hodnotám nad 0,1%.

V případě omezené analyzovatelnosti složky řepky musí být uvedeno LOD.

Alternativně může laboratoř pracovat s parametry screeningu, které detekují alespoň uvedené GMO (sója, řepka, kukuřice). Při následné identifikaci / kvantifikaci pozitivních výsledků musí být ověřeny všechny GMO (pokud příslušné prvky jsou pozitivní). Všechny uvedené GMO musí být identifikovány, v případě potřeby kvantifikovány pomocí PCR rozboru.

3.2.2 Minimální požadavky na krmné směsi obsahující sóju, kukuřici a semeno řepky

Určení a kvantifikace nejdůležitějších GMO:

Odhad sójové hmoty:

V prvním kroku se odhaduje množství sóje v krmivech. Pro množství vyšší než 0,9% GMO sóji musí být určeno (viz minimální požadavky na krmiva obsahující sóju) a provedeno posouzení podle oficiální směrnice1.

Standard „Bez GMO“	Testování a rozborů GMO Suroviny / krmiva	Příloha č. 18
-------------------------------------	--	----------------------

Pro složku ze semene řepky:

Kvalitativní důkaz semene GT73 + semene MS8 nebo semene RF3 (nebo bar gen)

V případě pozitivní identifikace musí být provedena kvantifikace a zjištění GMO nebo více druhů GMO v případě odhadu množství při použití například metody PCR nebo jiné podobné metody, která zajistí, že je dostatečná. Pokud jsou přítomny druhy DNA v množství vedoucí k hodnotám nad 0,1%.

V případě omezené analyzovatelnosti složky kukuřice musí být uvedeno praktické LOD.

Pro kukuřičnou složku:

Kvalitativní důkaz 4 komerčně používaných odrůd kukuřice: NK603, TC1507, MON810, MON89034

V případě pozitivní identifikace musí být provedena kvantifikace a zjištění GMO nebo více druhů GMO v případě odhadu množství při použití například metody PCR nebo jiné podobné metody, která zajistí, že je dostatečná. Pokud jsou přítomny druhy DNA v množství vedoucí k hodnotám nad 0,1%.

V případě omezené analyzovatelnosti složky kukuřice musí být uveden LOD (limit detekce).

Alternativně může laboratoř pracovat s parametry screeningu, které detekují alespoň uvedené GMO (sója, řepka, kukuřice). Při následné identifikaci / kvantifikaci pozitivních výsledků musí být ověřeny všechny GMO (pokud příslušné prvky jsou pozitivní), které jsou zde uvedeny a musí být identifikovány, v případě potřeby kvantifikovány.

4 Ostatní produkty / suroviny

Strategie pro analýzu GMO v jiných jednosložkových krmivech, surovinách, (potravinářských) složkách, meziproduktech nebo potravinách musí být nadále schvalovány s pověřenými laboratořemi s ohledem na složení a původ produktů/složek. Testovací proužky lze použít pouze u specifických vstupních komodit a modifikací, pro které je metoda screeningu validována, u rýže většinou PAT - Liberty Link konstrukt, LLRice 62, LLRice61. Pro bavlnu většinou Cry1Ac, DMO. Pokud je test pozitivní, musí být provedena kvantifikace metodou PCR.

Pro další jiné suroviny se doporučuje PCR test.