

SOUHRNNÁ DOKUMENTACE BIOLOGICKÉ ZKOUŠENÍ KRMIV VYROBENÝCH Z MIKROORGANISMŮ

Souhrnná dokumentace biologického zkoušení krmiv vyrobených z mikroorganismů obsahuje:

1. Údaje o použitém mikroorganismu

- 1.1. Taxonomie, původ, morfologie, biologické vlastnosti, v daném případě genetické změny.
- 1.2. Neškodnost, případná stálost mimo kultivační medium a případné účinky na životní prostředí.
- 1.3. Stálost a stupeň čistoty kultivovaných kmenů mikroorganismů, metody použitelné k ověřování těchto znaků.

2. Kultivační medium a výrobní postup

- 2.1. Složení substrátu, přidávaných látek atd..
- 2.2. Postup výroby, sušení a čištění, postup k devitalizaci použitých mikroorganismů, metody stanovení k ověření stálosti složení krmiva vyrobeného kultivací mikroorganismů a ke stanovení případných chemických, fyzikálních nebo biologických nečistot v průběhu výroby.
- 2.3. Technický postup úpravy pro použití.

3. Znaky krmiva

- 3.1. Fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti : makro a mikroskopická morfologie, velikost částic, hustota, specifická hmotnost, vazba vody, rozpustnost, elektrostatické vlastnosti atd..
- 3.2. Chemické složení a znaky
 - 3.2.1. Vlhkost, obsah dusíkatých látek, tuku, vlákniny, popela, veškerých cukrů, kolísání rozpětí obsahů.
 - 3.2.2. Obsah celkového dusíku, bílkovin, nukleových kyselin, amoniakálního dusíku, aminového dusíku, nitrátů a nitritů. Kvalitativní a kvantitativní složení aminokyselin celkem a volných, purinových a pyrimidinových bází.
 - 3.2.3. Kvalitativní a kvantitativní složení tuků (mastné kyseliny, nezmýdelnitelné látky, pigmenty rozpustné v tuku, fosfolipidy).

3.2.4. Složení obsažených cukrů.

3.2.5. Kvalitativní a kvantitativní obsah minerálních složek.

3.2.6. Kvalitativní a kvantitativní obsah vitamínů.

3.2.7. Kvalitativní a kvantitativní obsah speciálních složek : doplňkové látky, zbytky substrátů a zředňovacích prostředků, jiné případně škodlivé zbytky látkové přeměny substrátu, kultivačního média, výrobního postupu.

3.3. Mikrobiologická kontaminace krmiva.

3.4. Chování a stabilita krmiva a ve směsi s jinými krmivy při skladování.

4. Úprava a podmínky pro použití

4.1. Navržený obchodní název krmiva.

4.2. Úprava krmiva navrhovaná pro uvádění do oběhu.

4.3. Předpokládané užití krmiva ve výživě zvířat, pro uvažované druhy zvířat, navržené koncentrace krmiva v kompletní krmné směsi a navržené množství krmiva v denní krmné dávce.

5. Kontrolní metody

Kvalitativní a kvantitativní analytické metody stanovení pro kontrolu krmiva v krmných směsích a v premixech; popis těchto metod se doplňuje následujícími údaji : zvláštnost, citlivost, hranice důkazu, rozpětí chyby a případné interference s doplňkovými látkami a krmivy. Vzorčky výrobku se dávají k dispozici.

6. Ověření výživářsko-fyziologických vlastností krmiva

6.1. Určení hodnoty bílkoviny krmiva

6.1.1. Chemické, biochemické a mikrobiologické zkoušky.

6.1.2. Zkoušky krmiva provedené na laboratorních zvířatech ve srovnání s kontrolní bílkovinou.

6.2. Zkoušky krmiva provedené na druzích zvířat, pro něž je krmivo určeno.

Na každém druhu zvířat, u něhož je předpoklad užití krmiva, se provádějí dále uvedené zkoušky ve srovnání s kontrolní skupinou, která je krmena obvyklým krmivem s ekvivalentním podílem dusíkatých látek bílkovinné povahy, u přežvýkavců ekvivalentním podílem celkového dusíku, za naprosto stejných podmínek výživářsko-fyziologické srovnatelnosti.

6.2.1. Stanovení hodnoty bílkovin a hodnoty energie přidávaného krmiva v krmné dávce v navržených praktických podmínkách použití a v různých fyziologických obdobích zvířat (např. růst, březost, snáška).

6.2.2. Stanovení vlivu krmiva na růst zvířat (přírůstek), produkční účinnost, zdravotní stav zvířat, případné úhyny v navržených praktických podmínkách užití.

6.2.3. Stanovení optimálního podílu krmiva v krmné dávce z výživářsko-fyziologického hlediska.

6.2.4. Ověření působení krmiva za navržených podmínek užití na technologické, organoleptické a ostatní kvalitativní vlastnosti živočišných produktů.

6.3. Pokusné podmínky při zkouškách krmiva na jeho použitelnost u předpokládaných druhů zvířat.

7. Ověření biologických vlivů použití krmiva ve výživě zvířat

7.1. Ověření krmiva na cílových zvířatech

Na každém druhu zvířat, u něhož je předpoklad užití krmiva, se provádějí dále uvedené zkoušky ve srovnání s kontrolní skupinou, která je krmena obvyklým krmivem s ekvivalentním podílem dusíkatých látek bílkovinné povahy, u přežvýkavců ekvivalentním podílem celkového dusíku, za naprosto stejných podmínek výživářsko-fyziologické srovnatelnosti.

7.1.1. Stanovení nejvyššího podílu krmiva v denní krmné dávce bez projevu vedlejších účinků.

7.1.2. Stanovení možných účinků krmiva na plodnost a provedení generačních pokusů, pokud je pro jejich provedení důvod.

7.1.3. Stanovení účinků krmiva v navržených praktických podmínkách užití na mikroorganismy zažívacího traktu, vliv na přítomnost patogenních mikroorganismů v trávicím traktu.

7.1.4. Stanovení možných reziduí krmiva (substrátu, kultivačního média, rozpuštědel, kontaminantů) za navržených podmínek užití v živočišných produktech.

7.1.5 Stanovení možných reziduí krmiva (substrátu, kultivačního média , rozpouštědel, kontaminantů) za navržených podmínek užití v exkrementech.

7.2. Ověření krmiva na laboratorních zvířatech

7.2.1. Sledování metabolismu,t.j.chování krmiva v organismu (absorpce, akumulace,biologická přeměna,vylučování atd.).

7.2.2. Ověření možné mutagenity vyvolané kontaminanty(zejména mykotoxiny a bakteriemi) v krmivu nebo rezidui krmiva (substrátu,kultivačního media,rozpouštědla) včetně pokusů in vitro s aktivací látkové výměny.

7.2.3 Toxikologické zkoušky

Dále uvedené zkoušky krmiva se provádějí ve srovnání s kontrolními skupinami ,kterým jsou podávána obvyklá krmiva s ekvivalentními podíly dusíkatých látek bílkovinné povahy za naprosto stejných podmínek výživářsko-fyziologické srovnatelnosti.Zjištěné toxické účinky musí být prozkoumány,aby byla zdůvodněna jejich příčina a průběh a aby se zejména zjistilo,zda nepocházejí z výživářsko-fyziologické nevyváženosti nebo z předávkování zkoušeného krmiva.

7.2.3.1 Zkouška krátkodobé toxicity krmiva (minimálně 90 dní)

Všeobecně se tyto zkoušky provádějí na dvou druzích zvířat,z nichž jeden jsou hlodavci.Krmivo se podává v denní dávce v minimálně dvou různých hladinách.Tyto se volí tak,aby alespoň jedna dávka se uváděla jako bez účinku a jedna jako škodlivě se projevující.Skupiny zvířat jsou složeny z určeného počtu zvířat každého pohlaví.Vždy je zastoupena kontrolní skupina zvířat .V určených intervalech se zaznamenávají všechny rozhodující biologické údaje,zejména růstová křivka zvířat, spotřeba krmiva,hematologická vyšetření,rozbory moče,biochemické parametry,úhyny,hmotnost orgánů,symptomy patologických účinků,histologické změny nejdůležitějších orgánů a tkání. Výsledky se zevrubně doloží a vyhodnotí statisticky.

7.2.3.2 Zkoušky dlouhodobé toxicity krmiva

Všeobecně se tyto zkoušky provádějí na dvou druzích zvířat, z nichž jeden jsou hlodavci.Krmivo se podává v denní dávce minimálně ve dvou různých hladinách.Pokusné období je minimálně dva

roky u potkanů a nejméně 80 týdnů u myší. Skupiny zvířat jsou složeny z určeného počtu zvířat každého pohlaví. Vždy je zastoupena kontrolní skupina zvířat. V průběhu zkoušek na určení dlouhodobé toxicity v určených časových intervalech a rovněž na konci zkoušky na zvířatech, která přežila, se provádějí biologické zkoušky na stanovení krátkodobé toxicity přednostně na malé "satelitní" skupině zvířat (t.j. oddělená, na hlavní skupině závislá skupina) (viz 7.2.3.1).

7.2.3.3 Zkoušení karcinogenity krmiva

U zkoušek na karcinogenitu se stanoví časový mezník prvních příznaků u pokusných zvířat, histologické typy nádorů a jejich četnost. Účinky na četnost nádorů nebo na vývoj onemocnění, které by mohly být vyvolány zkoušeným krmivem, se vyhodnotí proti kontrolní skupině zvířat podle bodu 7.2.3.. Výsledky je třeba zevrubně doložit a vyhodnotit statisticky.

7.2.4 Speciální zkoušky krmiva v generačních pokusech

Generační pokusy se vztahují minimálně na dvě generace zvířat v přímé linii a jsou spojeny se zkouškami na embryotoxicitu včetně teratogenity. Zvláštní pozornost se věnuje plodnosti a vrhům a jejich vývoji po narození. Lze předložit jinou metodu, která je vědecky doložena a dává měřitelné výsledky (např. Relais-toxicita).

7.2.5 Pokusné podmínky pro zkoušení krmiva na laboratorních zvířatech se popisují s uvedením následujících podrobností

7.2.5.1 Druh, rasa a pohlaví zvířat.

7.2.5.2 Počet pokusných a kontrolních skupin, počet zvířat v každé skupině (dostatečný počet pro statistické vyhodnocení při použití vhodných statistických parametrů).

7.2.5.3 Procentický podíl krmiva v krmné dávce, kvalitativní a kvantitativní složení krmné dávky a její analýza.

7.2.5.4 Podmínky chovu v průběhu celé doby trvání zkoušek.

7.2.5.5 Přesná doba trvání zkoušek a datum zkoušek.

7.2.5.6 Přírůstky zvířat a procenta úhynů v jednotlivých skupinách zvířat.

7.2.5.7 Klinické symptomy a patologické změny v průběhu zkoušek a časový mezník jejich projevu.

7.3 Ověření ve vztahu k životnímu prostředí - podle druhu zbytků krmiva (substrát, kultivační médium, rozpouštědla, kontaminanty) ve výkalech krmených zvířat se požadují údaje o přetrvávání

těchto reziduí v hnoji, půdě a vodě a o jejich účincích na půdní biologii, rostlinná společenstva a život ve vodě.

8. Speciální účelová vyšetření

Podle druhu a podmínek použití krmiva se požadují údaje o alergii, zánětech kůže, dráždění očních sliznic, dýchacích nebo trávicích cest a za účelem stanovení možných rizik při zacházení s krmivem a pro zajištění preventivních opatření.