23058-89

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
СОЮЗА ССР

ЖЕЛАТИН—СЫРЬЕ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

ГОСТ 23058—89

Издание официальное

30 коп. БЗ 1—89/28

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР ПО УПРАВЛЕНИЮ
КАЧЕСТВОМ ПРОДУКЦИИ И СТАНДАРТАМ
Москва

gost.e-ecolog.ru

УДК 665.931.7 : 006.354 Группа Н98

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

ЖЕЛАТИН — СЫРЬЕ ДЛЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Технические условия

Gelatin. Raw material for medical industry. Specifications

ГОСТ 23058—89

ОКП 92 1935

Срок действия с 01.07.91
до 01.07.96

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на желатин, предназначенный в качестве сырья для переработки на предприятиях медицинской промышленности.

1. ТЕХНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ

1.1. Желатин должен быть выработан в соответствии с требованиями настоящего стандарта по технологической инструкции с соблюдением санитарных правил для предприятий желатиновой промышленности, утвержденных в установленном порядке.

1.2. Марки

1.2.1. В зависимости от назначения желатин вырабатывают следующих марок, указанных в табл. 1.

1.2.2. Коды ОКП приведены в приложении.

Таблица 1

Обозначение марки	Назначение желатина
ТК	Для твердых капсул
МК	Для мягких капсул
Ж	Для желатиноля

Издание официальное

Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1990

1.3. Характеристики

1.3.1. Для выработки желатина применяют:

кость крупного рогатого скота по ГОСТ 16147;

белковые отходы от шкур животных (смесь гольевую консервированную, обрезь спилковую шкур крупного рогатого скота).

1.3.2. По органолептическим и физико-химическим показателям желатин должен соответствовать требованиям, указанным в табл. 2.

Таблица 2

Наименование показателя	Характеристика и норма для желатина марки			Метод анализа
	ТК	МК	Ж	
1. Внешний вид и цвет	Крупинки светло-желтого цвета			По ГОСТ 11293
2. Запах	Специфический, без гнилостного			По ГОСТ 11293
3. Размер частиц желатина, мм	От 0,5 до 5,0			По п. 3.2
4. Продолжительность растворения, мин, не более	25			По ГОСТ 25183.3
5. Массовая доля влаги, %, не более	16			По ГОСТ 25183.10
6. Массовая доля золы, %, не более	1,5			По ГОСТ 11293
7. Динамическая вязкость раствора с массовой долей желатина 10%, мПа·с	Не менее 24,6		22,5±2,5	По п. 3.3
8. Падение вязкости раствора с массовой долей желатина 10%, %, не более	15		—	По п. 3.3
9. Прочность студня с массовой долей желатина 10%, Н (гс), не менее	15(1500)	13(1300)	13±2 (1300±±200)	По ГОСТ 11293
10. Прозрачность раствора с массовой долей желатина 5%, %, не менее	70			По ГОСТ 11293
11. Температура плавления студня с массовой долей желатина 10%, °С, не менее	32			По ГОСТ 11293
12. pH раствора с массовой долей желатина 1%	5,4±0,2	5,6±0,4	6,0±1,0	По п. 3.4
13. Массовая доля сернистой кислоты (в пересчете на SO_2), %, не более	0,06			По ГОСТ 11293

Продолжение табл. 2

Наименование показателя	Характеристика и норма для желатина марки			Метод анализа
	ТК	МК	Ж	
14. Массовая доля цинка, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	100,0			По ГОСТ 26934
15. Массовая доля свинца, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	2,0			По ГОСТ 26932
16 Массовая доля кадмия, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	0,03			По ГОСТ 26933
17. Массовая доля меди, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	15,0			По ГОСТ 26931
18 Массовая доля мышьяка, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	1,0			По ГОСТ 26930
19 Массовая доля ртути, млн$^{-1}$ (мг/кг), не более	0,05			По ГОСТ 26927
20. Посторонние примеси	Не допускаются			По ГОСТ 11293

Примечания:

1. Нормы по показателям массовой доли золы и динамической вязкости указаны в пересчете на абсолютно сухой желатин
2. Нормы по показателям прочности и температуры плавления студня желатина указаны в пересчете на абсолютно сухой беззольный желатин.
3. Допускается массовая доля частиц желатина размером менее 0,5 мм не более 20%, размером более 5 мм — не более 5% от массы партии.

1.3.3. По бактериологическим показателям желатин должен соответствовать требованиям, указанным в табл. 3.

Таблица 3

Наименование показателя	Норма для желатина марки			Метод анализа
	ТК	МК	Ж	
1. Мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы, клеток в 1 г желатина, не более	$1{,}0 \cdot 10^3$			По ГОСТ 11293

Продолжение табл. 3

Наименование показателя	Норма для желатина марки			Метод анализа
	ТК	МК	Ж	
2. Колиформные бактерии, клеток в 0,1 г желатина	Не допускаются			По п. 3.5.3
3. Бактерии группы протея	То же			По п. 3.5.4
4. Желатиноразжижающие бактерии, клеток в 1 г желатина, не более	»			По п. 3.5.5
5 Патогенные микроорганизмы	»			По п 3.5.6

Примечание. При подозрении на наличие патогенных микроорганизмов в желатине пробы направляют в лаборатории СЭС для окончательного заключения о пригодности продукта.

1.3.4. *Требования безопасности*

1.3.4.1. Желатин относится к трудногорючим веществам. Температура воспламенения желатина — 235 °С, температура самовоспламенения — 310 °С (тлеет).

1.3.4.2. Желатин не взрывоопасен. Нижний предел взрываемости аэровзвеси желатина — 162,5 г/м³.

1.3.4.3. Помещения, где проводятся работы, связанные с измельчением и пересыпанием желатина, должны быть снабжены местной вытяжной вентиляцией.

1.3.4.4. При пожаре для тушения следует использовать огнетушители, асбестовую ткань, воду, песок.

1.4. Маркировка

1.4.1. Транспортная маркировка — по ГОСТ 14192 с дополнительным нанесением манипуляционного знака «Боится сырости».

1.4.2. Маркировка, характеризующая продукцию, наносится на транспортную тару несмывающейся непахнущей краской при помощи штампа, трафарета или наклеивания ярлыка с указанием:

наименования предприятия-изготовителя, его подчиненности и (или) товарного знака;

наименования и марки желатина;

номера партии;

массы нетто;

даты выработки;

обозначения настоящего стандарта.

1.5. Упаковка

1.5.1. Желатин должен быть упакован в бумажные непропитанные четырехслойные мешки по ГОСТ 2226 с пленочным меш-

ком-вкладышем по ГОСТ 19360; в пленочные мешки-вкладыши или бумажные непропитанные четырехслойные мешки с последующей укладкой в картонные навивные барабаны по ГОСТ 17065. Полиэтиленовый мешок-вкладыш должен быть заварен, бумажный мешок — зашит машинным способом.

1.5.2. Масса нетто желатина, упакованного в один мешок или барабан, должна быть не более 25 кг.

2 ПРИЕМКА

2.1. Желатин принимают партиями. Под партией понимают любое количество желатина одной марки однородного по своим качественным показателям, оформленного одним документом о качестве и предъявленного к одновременной сдаче-приемке.

2.2. Документ о качестве должен содержать:

наименование предприятия-изготовителя, его подчиненность и (или) товарный знак;

наименование и марку желатина;

номер партии и дату выработки;

количество упаковочных единиц;

массу нетто;

результаты лабораторного анализа;

обозначение настоящего стандарта.

2.3. При массовой доле влаги в желатине менее 16% партию принимают по расчетной массе ($m_р$), которую вычисляют по формуле

$$m_р = m_ф \frac{100 - W_ф}{100 - 16},$$

где $m_ф$ — фактическая масса партии желатина, кг;

$W_ф$ — фактическая массовая доля влаги в желатине, %;

16 — нормированная массовая доля влаги в желатине, %.

2.4. Объем выборки для контроля качества желатина определяют в соответствии с требованиями табл. 4.

Таблица 4

Объем партии, упаковочная единица	Объем выборки, упаковочная единица
От 2 до 15 включ.	2
» 16 » 25 »	3
» 26 » 90 »	5
» 91 » 150 »	8
» 151 » 280 »	13

2.5. Массовую долю цинка, свинца, кадмия, меди, мышьяка и ртути предприятие-изготовитель определяет периодически, но не реже одного раза в квартал и по требованию потребителя.

При получении неудовлетворительных результатов испытания переводят в приемо-сдаточные до получения положительного результата на трех партиях.

2.6. При получении неудовлетворительных результатов анализа хотя бы по одному из показателей проводят повторный анализ на удвоенной выборке, взятой от той же партии. Результаты повторного анализа распространяются на всю партию.

3. МЕТОДЫ АНАЛИЗА

3.1. Отбор и подготовка проб — по ГОСТ 26668, ГОСТ 26669, ГОСТ 11293.

3.2. Определение размера частиц желатина проводят по ГОСТ 11293 со следующим дополнением: используют сетки № 5 и 05.

3.3. Определение динамической вязкости и падения вязкости проводят по ГОСТ 25183.4 со следующими дополнениями: используют также вискозиметры типа ВПЖТ-2, ВПЖ-4, ВПЖТ-4 (d=1,31; 1,47). Массу навески желатина (x) в граммах вычисляют по формуле

$$x=\frac{10\ V\rho}{100-W},$$

где 10 — массовая доля сухого желатина в растворе, %;

V — объем раствора, см³;

ρ — плотность раствора желатина, принятая равной 1,025 г/см³;

W — массовая доля влаги в желатине, %.

Динамическую вязкость (η) в миллипаскаль-секундах определяют по формуле

$$\eta=k\tau\rho,$$

где k — постоянная вискозиметра, мм²/с²;

τ — время истечения раствора, с;

ρ — плотность раствора с массовой долей желатина 10% при (40±0,1) °С, принимаемая равной 1,025 г/см³.

Вязкость раствора желатина до и после выдержки в термостате при определении падения вязкости выражают в миллипаскаль-секундах.

3.4. Определение pH раствора проводят по ГОСТ 25183.9 со следующим дополнением: навеску желатина берут без пересчета на сухое вещество.

3.5. **Методы бактериологического анализа**

3.5.1. Аппаратура, материалы, реактивы по ГОСТ 11293 со следующим дополнением:

анаэростат;

центрифуга;

мел химически осажденный по ГОСТ 8253;

парафин;

бриллиантовый зеленый;

Д-глюкоза по ГОСТ 6038, х. ч.;

молоко коровье пастеризованное по ГОСТ 13277, обезжиренное;

мясо-говядина по ГОСТ 779;

мясо-конина по ГОСТ 27095;

желчь крупного рогатого скота свежая, обезвоженная;

печень крупного рогатого скота, замороженная по ГОСТ 19342;

натрий лимоннокислый;

плазма крови кролика свежая;

натрий серноватистокислый;

натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773;

натрий фосфорнокислый однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245;

натрий кислый селенистокислый;

парадиметиламидобензальдегид;

спирт амиловый;

агар висмут-сульфитный;

агар бактериологический Плоскирева, сухой;

среда Кода;

цистеин;

дрожжи хлебопекарные прессованные по ГОСТ 171;

магний хлористый по ГОСТ 4209, х. ч.

3.5.2. Подготовка к анализу

3.5.2.1. Подготовка и стерилизация посуды, материалов по ГОСТ 11293

3.5.2.2. *Приготовление среды Кесслер (модифицированной)*

В 1 дм^3 дистиллированной воды помещают 10 г пептона, 50 см^3 желчи, кипятят 30 мин, фильтруют через вату, добавляют 2,5 г лактозы и доводят объем дистиллированной водой до первоначального (1 дм^3), добавляют 2 см^3 водного раствора с массовой долей генциан-виолета 1%. Среду разливают в пробирки с поплавками по 10 см^3 и стерилизуют при давлении $5 \cdot 10^4$ Па в течение 15 мин. Среда имеет фиолетовый цвет.

Допускается замена поплавков клочками стерильной ваты.

3.5.2.3. *Приготовление желчи*

Свежую желчь крупного рогатого скота фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Рекомендуется предварительно прогреть желчь на кипящей водяной бане в течение 1 ч, затем дают ей от-

стояться и фильтруют. Фильтрованную горячую желчь разливают по бутылкам и стерилизуют в течение 30 мин при температуре (110±2) °С.

3.5.2.4. *Приготовление среды Мюллера*

Для приготовления среды Мюллера вначале готовят растворы серноватистокислого натрия и Люголя.

В мерный цилиндр с 50 г серноватистокислого натрия добавляют дистиллированную воду до 100 см³. Полученный раствор стерилизуют текучим паром.

Для приготовления раствора Люголя в 100 см³ дистиллированной воды растворяют 25 г кристаллического йода, 20 г йодистого калия.

Для приготовления среды Мюллера в стерильную колбу помещают 4,5 г химически осажденного мела и стерилизуют сухим паром, наливают 90 см³ мясо-пептонного бульона, стерилизуют 30 мин при температуре 120 °С, после чего стерильно добавляют 2 см³ раствора Люголя и 10 см³ раствора серноватистокислого натрия. Среду взбалтывают и разливают в колбы.

3.5.2.5. *Приготовление среды Кауфмана*

К 100 см³ стерильной среды Мюллера, приготовленной по п. 3.5.2.4, добавляют 1 см³ водного раствора с массовой долей бриллиантового зеленого 0,1 % и 5 см³ стерильной желчи крупного рогатого скота. Смесь хорошо взбалтывают, но не стерилизуют.

3.5.2.6. Приготовление селенитовой среды

Среду готовят из двух основных растворов — А и Б.

Раствор А состоит из 5 г пептона чешской фирмы «Спофа» или венгерской фирмы «Рихтер», 7 г безводного двузамещенного фосфорнокислого натрия, 3 г однозамещенного фосфорнокислого натрия, 4 г химически чистой лактозы, 100 см³ дистиллированной воды pH 6,9—7,1. Раствор стерилизуют 30 мин при температуре 112 °С.

Раствор Б состоит из раствора с массовой долей кислого селенистокислого натрия 10%, приготовленного на стерильной воде. Раствор готовят непосредственно перед употреблением.

При изменении серии любого из входящих в среду компонентов (пептона, кислого селенистокислого натрия, фосфатов) проводят предварительную подтитровку. При этом экспериментально определяют точную пропорцию фосфорнокислого двузамещенного безводного натрия и фосфорнокислого однозамещенного натрия, которая с используемыми образцами пептона и селенистокислого натрия дает pH не выше 6,9—7,1, что регулируется изменением соотношения фосфатов. Для приготовления селенитовой среды к 100 см³ раствора А стерильно добавляют 4 см³ раствора Б. Среду не стерилизуют.

3.5.2.7. *Приготовление хлористо-магниевой среды «М» (модифицированной)*

Среда состоит из трех растворов А, В и С.

Для приготовления дрожжевого экстракта в 2 $дм^3$ дистиллированной воды растворяют 1 кг прессованных хлебопекарных дрожжей. Полученную суспензию стерилизуют 30 мин текучим паром, затем отстаивают в холодильнике при температуре (5±1) °С в течение 5—6 сут.

Жидкость над осадком декантируют, приливают 2,5 $см^3$ раствора с массовой долей кристалл-виолета 0,01%, разливают во флаконы или пробирки и вновь стерилизуют при температуре 100 °С в течение 30 мин.

Экстракт хранят в холодильнике при температуре (5±1) °С в течение двух недель со дня приготовления.

Для приготовления раствора А в 90 $см^3$ дистиллированной воды растворяют 0,42 г пептона, 0,7 г хлористого натрия, 0,15 г однозамещенного фосфорнокислого натрия, 2 $см^3$ дрожжевого диализата. (При отсутствии дрожжевого диализата допускается заменять его дрожжевым экстрактом.)

Для приготовления раствора В в 9 $см^3$ дистиллированной воды растворяют 3,6 г кристаллического хлористого магния.

Раствор С состоит из 0,09 $см^3$ водного раствора с массовой долей бриллиантового зеленого 5%.

Для приготовления хлористо-магниевой среды «М» (модифицированной) растворы А, В и С смешивают и стерилизуют 30 мин при давлении $5 \cdot 10^4$ Па.

3.5.2.8. *Приготовление сред Плоскирева, Кода и висмут-сульфитного агара (сухие готовые)* проводят согласно инструкции, утвержденной в установленном порядке.

3.5.2.9. *Приготовление пептонной воды*

К 1 $дм^3$ дистиллированной воды добавляют 10 г пептона и 5 г хлористого натрия, кипятят до растворения пептона, фильтруют, устанавливают pH 7,2—7,4 и стерилизуют 30 мин при температуре 120 °С.

3.5.2.10. *Приготовление полужидкого агара*

К 1 $дм^3$ мясо-пептонного бульона добавляют 0,5 г агара. Среда должна иметь pH 7,0—7,2. Среду стерилизуют 20 мин при температуре 120 °С.

3.5.2.11. *Приготовление реактива Эрлиха*

В 50 $см^3$ этилового 96°-ного спирта растворяют 4 г парадиметиламидобензальдегида, затем медленно добавляют 50 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Реактив хранят в склянке из темного стекла при температуре (6±2) °С.

3.5.2.12. *Приготовление реактива Ковача*

В 75 $см^3$ амилового спирта растворяют 5 г парадиметиламидобензальдегида, затем медленно добавляют 25 $см^3$ концентриро-

ванной соляной кислоты. Реактив хранят в склянке из темного стекла при температуре (6±2) °С.

3.5.2.13. *Приготовление мясной воды, мясо-пептонного бульона, мясо-пептонного агара, питательного агара, карболового раствора генциана фиолетового и кристалл виолета, раствора Люголя, фуксин-насыщенного спиртового раствора, физиологического раствора, среды Хейфеца (модифицированной), основного раствора желатина* — по ГОСТ 11293.

3.5.2.14. *Приготовление цитратной плазмы крови, яично-желточно-солевого агара или молочно-солевого агара, сахарно-кровяного агара по Цейсслеру, лакмусового молока, среД Вильсон-Блера, среды Гисса, среды Китт-Тароцци* - по ГОСТ 10444.1.

3.5.3. Определение колиформных бактерий

Сущность метода заключается в способности колиформных бактерий расщеплять глюкозу и лактозу. При этом в средах Хейфеца и Кода образуются кислые продукты, меняющие цвет индикаторов, а в среде Хейфеца, как и в среде Кесслер, в поплавке образуется газ вследствие расщепления лактозы.

Цель определения этой группы бактерий — проверка соблюдения технологического режима или санитарно-гигиенических условий в процессе производства медицинского желатина.

При микробиологическом контроле продукта в производственных лабораториях можно ограничиваться обнаружением колиформных бактерий без их биохимической дифференциации.

3.5.3.1. *Проведение анализа*

В две пробирки, содержащие по 7—9 см^3 среды Хейфеца, среды Кода или среды Кесслер, вносят по 1 см^3 основного раствора желатина стерильной пипеткой вместимостью 1—2 см^3. Посевы помещают в термостат с температурой (37±1) °С на 18—20 ч.

При росте колиформных бактерий среда Кода окрашивается в желтый цвет, среда Хейфеца — в желтый цвет с образованием газа в поплавке, который может меняться до желто-зеленого цвета, на среде Кесслер в поплавке образуется газ.

Для окончательного заключения о присутствии в продукте колиформных бактерий проводят высев со среды Хейфеса или Кесслер в чашки Петри со средой Эндо или Плоскирева, или Левина. Чашки Петри помещают в термостат с температурой (37±1) °С. Через 18—20 ч посевы просматривают. На среде Эндо колиформные бактерии образуют темно-красные колонии с металлическим блеском или розово-красные без блеска, на среде Плоскирева — кирпично-красные с глянцевой поверхностью, на среде Левина — темно-фиолетовые колонии или фиолетово-черные блестящие. Из подозреваемых колоний готовят мазки, которые окрашивают по Граму.

Специфическое изменение среды Кода не требует дальнейшего подтверждения.

3.5.3.2. *Оценка результатов*

Обнаружение грамотрицательных палочек, специфически изменяющих цвет жидких дифференциально-диагностических сред и образующих характерные колонии на элективных средах с лактозой, указывает на наличие колиформных бактерий.

3.5.4. Определение бактерий группы протея

Сущность метода заключается в специфическом росте бактерий группы протея на скошенном мясо-пептонном агаре.

3.5.4.1. *Проведение анализа*

0,5 см³ основного раствора желатина (1 : 10) засевают в две пробирки со свежескошенным мясо-пептонным агаром или средой, приготовленной из сухого питательного агара. Раствор желатина вносят в конденсационную воду, не касаясь поверхности агара.

Посевы выдерживают в термостате при (36±1) °С в течение 24—48 ч, после чего их просматривают.

Протей образует тонкий налет, всползающий вверх по поверхности мясо-пептонного агара. При обнаружении характерного роста для бактерий группы протея из культуры готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Бактерии группы протея — палочки, окрашиваются по Граму отрицательно.

3.5.4.2. *Оценка результатов*

Наличие на мясо-пептонном агаре культуры в виде тонкого налета, всползающего вверх по поверхности среды, и грамотрицательных палочек указывает на бактерии группы протея.

3.5.5. Определение желатиноразжижающих бактерий

Сущность метода заключается в специфическом росте желатиноразжижающих бактерий на желатине, которые продуцируют и выделяют в среду протеолитический фермент — желатиназу, расщепляющий белок желатина, вследствие чего отмечается его разжижение.

3.5.5.1. *Проведение анализа*

10 см³ основного раствора желатина вносят в две чашки Петри. Желатин распределяют по дну чашек легкими вращательными движениями и выдерживают при (24±1) °С. Через 48—56 ч чашки с желатином просматривают. Колонии желатиноразжижающих бактерий имеют вид маленьких прозрачных пузырьков за счет разжижения желатина. При выдерживании чашек с желатином более 4 сут колония увеличивается. При наклоне чашки на месте колонии желатин сползает.

3.5.5.2. *Оценка результатов*

Обнаруженные на желатине колонии желатиноразжижающих бактерий подсчитывают в каждой чашке Петри (в 1 г продукта) для желатина марки ТК — через 96 ч, для других марок — через 48 ч.

3.5.6. Определение патогенных микроорганизмов

3.5.6.1. *Определение бактерий группы сальмонелл*

Сущность метода заключается в определении сальмонелл на дифференциально-диагностических средах и дифференциации их от других видов микробов по биохимическим и серологическим свойствам.

3.5.6.1.1. *Проведение анализа*

50 см³ основного раствора желатина вносят в 450 см³ одной из сред накопления: селенитового бульона, хлористо-магниевой среды Мюллера, Кауфмана. Колбу тщательно встряхивают и помещают в термостат при (36±1) °С. Через 16—24 ч из среды накопления проводят посев на дифференциальные среды Вильсон-Блера (висмут-сульфитный агар) и Плоскирева. Для этого стерильной пипеткой 0,1—0,2 см³ культуральной жидкости переносят в чашки Петри со средой Плоскирева и 0,5 см³ — на Вильсон-Блера. Затем стерильным шпателем культуральную жидкость распределяют по всей поверхности агара. Чашки с посевами перевертывают вниз крышкой и помещают в термостат. Посевы термостатируют при (36±1) °С на среде Плоскирева в течение 24 ч, а на среде Вильсон-Блера — 48 ч.

На среде Плоскирева колонии группы сальмонелл бесцветные.

На среде Вильсон-Блера тифозные бактерии растут в виде черных с антрацитовым блеском и с выпуклым центром колоний. Среда под ними окрашивается в черный цвет, паратифозные (А) бактерии растут в виде мелких серовато-зеленых колоний с черным центром, колонии бактерий паратифа (В) и других сальмонелл — коричневого цвета с металлическим блеском.

При обнаружении характерных колоний на бактерии группы сальмонелл из небольшой части колонии делают мазок, окрашивают по Граму. Бактерии группы сальмонелл окрашиваются по Граму отрицательно.

При обнаружении в мазках грамотрицательных палочек проводят определение ферментирующих свойств, способности образовывать индол, подвижность клеток, реакцию агглютинации.

Ферментирующую способность определяют в средах Гисса с лактозой, глюкозой, сахарозой и маннитом. Бактерии группы сальмонелл не разлагают лактозу и сахарозу, сбраживают глюкозу и маннит.

Способность образовывать индол определяют на пептонной воде. Подозрительную на бактерии группы сальмонелл колонию растирают в 0,5—1,0 см³ физиологического раствора. Полученную взвесь засевают на указанную среду и помещают на 24 ч в термостат при (36±1) °С. Затем в пробирку с суточной культурой осторожно по стенке добавляют пять-десять капель реактива Эрлиха. При наличии индола на границе реактива Эрлиха и куль-

туральной жидкости через 5 мин образуется ярко-красное кольцо, при отсутствии — кольцо остается светло-желтого цвета. Бактерии группы сальмонелл не образуют индола.

Для определения индола пользуются также реактивом Ковача. К 24-часовой культуре, выращенной при (36±1) °С, добавляют 0,2—0,3 см³ реактива и взбалтывают. Результаты учитывают через 10 мин; реактив поднимается на поверхность среды и при наличии индола окрашивается в темно-красный цвет.

Подвижность определяют посевом уколом в полужидкий агар. Подвижная культура дает сплошной рост, вызывая равномерное помутнение среды, неподвижные культуры образуют рост только по ходу иглы. Бактерии группы сальмонелл в большинстве подвижны.

Если выделенная культура грамотрицательная, не разлагает лактозу и сахарозу, не образует индол и подвижна, то она подозрительная на сальмонеллы и с ней проводят серологический анализ путем постановки реакции агглютинации на предметном стекле с агглютинирующей адсорбированной поливалентной сальмонеллезной О-сывороткой.

Получение положительной реакции на стекле с поливалентной сывороткой дает основание отнести анализируемую культуру к роду сальмонелл.

3.5.6.1.2. *Оценка результатов*

Наличие в большинстве подвижных, грамотрицательных палочек, не расщепляющих лактозу и сахарозу, разлагающих глюкозу с образованием кислоты и газа, маннит — с образованием кислоты, не образующих индола, обладающих положительной реакцией агглютинации с поливалентной сывороткой, указывает на бактерии рода сальмонелл.

3.5.6.2. *Определение стафилококков*

Сущность метода заключается в характерном росте стафилококков на элективной среде.

3.5.6.2.1. *Проведение анализа*

0,3 см³ основного раствора желатина (1 : 10) наносят на поверхность яично-желточно-солевого агара или молочно-солевого агара в две чашки Петри, равномерно растирают, и чашки со средой термостатируют в течение 48 ч при (37±1) °С.

На поверхности питательной среды колонии стафилококков имеют вид плоских, блестящих, эмалево-белых или золотистых колоний с ровными краями. Из подозрительных колоний готовят препараты, которые окрашивают по Граму. При наличии стафилококков в препарате обнаруживаются грамположительные кокки, располагающиеся неправильными гроздьями. Определение патогенности у выделенных штаммов стафилококков проводят с помощью реакции плазмокоагуляции.

В реакции плазмокоагуляции используют плазму свежеполученной крови кролика. 8 см³ свежеполученной крови кролика смешивают с 2 см³ раствора с массовой долей лимоннокислого натрия 5%. Смесь центрифугируют или оставляют на холоде, полученную плазму отсасывают.

Для постановки реакции плазмокоагуляции в стерильную пробирку наливают 0,2—0,3 см³ плазмы, разведенной в соотношении (1 : 3)—(1 : 5) стерильным физиологическим раствором. Агаровую культуру стафилококка вносят в плазму петлей, тщательно размешивают. Пробирки выдерживают при 37 °С в течение суток, просматривают их через 3—6 и 18—24 ч. Штаммы стафилококков, продуцирующие фермент плазмокоагулазу, вызывают свертывание плазмы, вследствие чего она превращается в желеобразную массу, не выливающуюся при перевертывании пробирки. Свертывание плазмы обозначается знаком плюс (+).

3.5.5.2.2. *Оценка результатов*

Наличие грамположительных, расположенных гроздьями, кокков, способных коагулировать плазму крови кролика, указывает на патогенные стафилококки.

3.5.6.3. *Определение патогенных спорообразующих аэробов*

Сущность метода заключается в определении и Bac. cereus биологической пробой на мышах. Bac. anthracis.

3.5.6.3.1. *Проведение анализа*

Для выявления в желатине Bac. anthracis и Bac. cereus по 1 см³ основного раствора желатина вносят в две пробирки с 1%-ным мясо-пептонным бульоном с глюкозой.

Посевы термостатируют при (36±1) °С в течение 5 сут, ежедневно наблюдая за их состоянием. При обнаружении в посевах признаков роста микроорганизмов (появление осадка, помутнение среды, газообразование) посевы микроскопируют. Мазки готовят не позже чем через 18 ч после появления в пробирке видимого роста и окрашивают по Граму. В конце 5 сут посевы также микроскопируют. При обнаружении в мазках аэробных грамположительных палочек культуру проверяют на патогенность путем биологической пробы на белых мышах. Для этого после 5 сут культивирования микрофлору из каждой пробирки с мясо-пептонным бульоном пересевают в свежеприготовленный мясо-пептонный бульон. Посевы выдерживают 12 ч при (36±1) °С. Полученную культуру в количестве 0,25 см³ вводят белым мышам внутрибрюшинно. При наличии в культуре патогенных штаммов Bac. cereus у мышки спустя 1 ч после инъекции появляются признаки заболевания. После короткого периода возбужденного состояния животные становятся очень спокойными, перестают двигаться, дыхание становится затрудненным. Иногда умеренная судорога. Смерть наступает чаще всего через 3—6 ч после инъекции, иногда в пределах первых 24 ч. В месте инъекции на коже может образоваться язва.

Если смерть зараженного животного наступает через 2 и более суток, то причиной ее может быть Bac. anthracis или ложносибироязвенные бактерии. Зараженных животных держат под наблюдением в течение 10 сут. Гибель мышей свидетельствует о патогенности выделенной микрофлоры.

3.5.6.3.2. *Оценка результатов*

При постановке биологической пробы на мышах, последние погибают через двое и более суток, что указывает на наличие в желатине Bac. anthracis.

Если мыши погибают через 3—6 или 24 ч, это указывает на наличие в желатине Bac. cereus.

3.5.6.4. *Определение Cl. perfringens*

Сущность метода заключается в специфическом росте Cl. perfringens на специальных питательных средах.

3.5.6.4.1. *Проведение анализа*

По 1 см^3 основного раствора желатина (1 : 10) высевают в две пробирки со средой Китт-Тароцци. Перед посевом среду прогревают на кипящей водяной бане 20 мин для удаления кислорода. Одну из засеянных пробирок также прогревают при 80 °С на водяной бане для уничтожения аэробной микрофлоры. Посевы помещают на 5 сут в термостат с температурой 37 °С. За появлением роста микроорганизмов наблюдают ежедневно. Cl. perfringens в среде начинается с появлением равномерной мути по всей толще столбика, отступая от его поверхности на (0,5—1,0) см. Прорастание спор и деление клеток сопровождается выделением газа. Среда при развитии в ней Cl. perfringens дает сырный запах. Муть в среде постепенно исчезает, культура остается на дне в виде небольшого осадка. В мазках, приготовленных из 18—24 часовой культуры, наблюдаются грамположительные палочки. В мазках, приготовленных из осадка, наблюдаются толстые палочки с закругленными концами со спорами, расположенными группами параллельно друг другу по две, одиночно или цепочкой.

Подвижность клеток определяют при микроскопировании в раздавленной капле. Клетки Cl. perfringens неподвижны.

При обнаружении в среде Китт-Тароцци характерных для Cl. perfringens палочек проводят посев в лакмусовое молоко с цистеином, среду Вильсон-Блера и на кровяной агар. Посевы помещают на 18—24 ч в термостат с температурой 37 °С.

Посев на среду Вильсон-Блера проводят следующим образом: среду расплавляют и охлаждают до 45 °С. Посев проводят пастеровской пипеткой вглубь так, чтобы в среду не попали пузырьки воздуха.

Посевы на чашках Петри с кровяным агаром (по Цейсслеру) выдерживают в анаэростате при 37 °С.

При отсутствии анаэростатов можно использовать чашечный метод или метод Виньяля-Вейона.

При использовании чашечного метода в среду, приготовленную по Цейсслеру, вносят 0,5 см³ анализируемого материала. Среду осторожно взбалтывают без образования пены и наливают в крышку стерильной чашки Петри, после чего на почти застывший агар помещают вторую половину чашки Петри так, чтобы ее дно плотно соприкасалось с поверхностью залитого агара. Края чашки заливают парафином или замазывают пластилином. Чашки помещают на 24—48 ч в термостат при 37°С. Выросшие колонии рассматривают с помощью лупы.

При использовании метода Виньяля-Вейона засеянный материал набирают в стеклянную трубку (пастеровская пипетка длиной 20 см и диаметром 0,75 см), один конец которой закрыт ватой, а другой оттянут. Среду набирают не более чем на ¾ длины трубки, после этого оттянутый конец трубки запаивают. Трубки со средой помещают в термостат при 37°С. Через 2—5 сут посевы в трубках просматривают и отмечают рост отдельных колоний. При наличии газа столбик агара разрывается.

По истечении срока термостатирования учитывают результаты роста:

в пробирках с лакмусовым молоком Cl. perfringens бурно ферментирует молоко с образованием губчатого сгустка красновато-сиреневого цвета в верхней части пробирки, при этом сыворотка становится прозрачной;

на среде Вильсон-Блера через 18 ч отмечается образование в глубь агара черных колоний, разрывающих среду вследствие газообразования.

3.5.6.4.2. *Оценка результатов*

Наличие неподвижных грамположительных палочек, вызывающих бурную ферментацию молока с образованием губчатого сгустка красновато-сиреневого цвета, черных колоний на среде Вильсон-Блера указывает на присутствие Cl. perfringens в желатине.

3.5.6.5. *Определение Cl. botulinum*

Сущность метода заключается в обнаружении Cl. botulinum по характерному росту на специальной среде и определении ботулинических токсинов на мышах.

3.5.6.5.1. *Проведение анализа*

По 1 см³ основного раствора желатина высевают в две пробирки со средой Китт-Тароцци. Перед посевом среду прогревают в течение 20 мин на кипящей водяной бане. После посева одну из пробирок прогревают в течение 20 мин при 80 °С для уничтожения вегетативной микрофлоры. Посевы помещают на 7 сут в термостат при 37 °С. За ростом бактерий наблюдают ежедневно.

Если возбудители ботулизма находятся в вегетативной форме, то будет наблюдаться рост в непрогретой пробирке. При наличии

споровых форм рост будет наблюдаться как в прогретой пробирке, так и в непрогретой.

Рост Cl. botulinum характеризуется газообразованием и помутнением среды.

Для приготовления мазков пастеровской пипеткой берут культуру со дна пробирки. Мазки окрашивают по Граму и микроскопируют. Возбудитель ботулизма имеет вид палочек с закругленными концами различной длины и ширины в зависимости от типа, часто — коротких цепочек. Клетки со спорой имеют вид ракетки, отделившиеся споры — овальные. Клетки в молодом возрасте грамположительные. При старении культуры (через четверо и более суток) появляются грамотрицательные палочки.

При наличии в мазках характерных палочек и спор для ботулинуса проводят биологическую пробу. Для этого стерильной пипеткой отсасывают культуральную жидкость так, чтобы вазелиновое масло осталось в пробирке. Культуральную жидкость центрифугируют с частотой вращения 3000 об/мин$^{-1}$ в течение 20 мин. С полученной надосадочной жидкостью ставят биологическую пробу на мышах.

Анализ на ботулинический токсин проводят следующим образом. Вначале ставят реакцию нейтрализации со смесью противоботулинических сывороток. Смешивают равные объемы моновалентных сывороток типов A, B, C, E, F и 0,6 см^3 полученной смеси добавляют в пробирку к 2,4 см^3 исследуемого центрифугата. В другую (контрольную) пробирку к 2,4 см^3 исследуемого центрифугата добавляют 0,6 см^3 физиологического раствора. Содержимое пробирок перемешивают и выдерживают в течение 30 мин при (21±3) °С. Для биологической пробы анализируемый центрифугат вначале отбирают из контрольной, а затем из опытной пробирки по 1 см^3 и вводят двум белым мышам массой по 16—18 г каждая.

Остаток центрифугата сохраняют в холодильнике для дальнейших исследований.

Наблюдение за животными ведут на протяжении 2, 4, 6, 24 ч в течение 4 суток.

При наличии ботулинического токсина две контрольные мыши, которым вводился не смешанный с сывороткой центрифугат, болеют, а иногда гибнут; у мышей, которым вводили смешанный с сывороткой центрифугат, признаков заболевания ботулизмом не наблюдается.

Если в центрифугате обнаружен ботулинический токсин, то для определения типа токсина ставят развернутую реакцию нейтрализации с моновалентными типоспецифическими антитоксическими диагностическими сыворотками.

Для этого в шесть пробирок разливают по 2,4 см^3 фильтрата, затем в пять пробирок добавляют по 0,6 см^3 сыворотки типов A,

B, C, E, F, а в шестую контрольную пробирку добавляют 0,6 см³ физиологического раствора. Приготовленную смесь выдерживают в течение 30 мин при (21±3) или 37 °С, после чего вводят по 1 см³ каждой смеси внутрибрюшинно двум мышам. Для взятия пробы из каждой пробирки используют чистый шприц. Результат учитывают в течение 4 сут через 4—6 ч, затем через 24 ч. Выживают мыши, получившие смесь токсина и гомологической сыворотки, остальные мыши погибают.

Типовую принадлежность определяют по типам сывороток, нейтрализующих токсин.

3.5.6.5.2. *Оценка результатов*

Наличие палочек, типичных по морфологии для Cl. botulinum и ботулинического токсина указывает на присутствие возбудителя ботулизма.

4. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

4.1. Транспортирование

4.1.1. Желатин транспортируют всеми видами транспорта в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок грузов, действующими на транспорте данного вида.

4.1.2. В пакетированном виде транспортируют по ГОСТ 21929. Пакеты укладывают на поддоны по ГОСТ 9557 или ГОСТ 9078. Средства скрепления грузов в транспортные пакеты по ГОСТ 21650. Размеры и параметры пакетов должны соответствовать требованиям ГОСТ 24597.

4.1.3. Желатин транспортируют в универсальных контейнерах по ГОСТ 18477.

4.2. Хранение

Желатин должен храниться в сухом закрытом помещении при температуре не выше 25 °С и относительной влажности воздуха не более 70%. Желатин нельзя хранить вместе с химикалиями, особенно с формалином, сульфитами, сульфидами, аммиаком, кислотами, а также с веществами с высокой гигроскопичностью и сильным запахом.

5. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ

5.1. Изготовитель гарантирует соответствие желатина требованиям настоящего стандарта при соблюдении условий транспортирования и хранения.

5.2. Гарантийный срок хранения желатина марок ТК, МК и Ж — один год с даты выработки.

ПРИЛОЖЕНИЕ
Обязательное

Наименование и марка продукта	Код ОКП
Желатин. Сырье для медицинской промышленности:	92 1935 0100 06
марки ТК	92 1935 0200 03
марки МК	92 1935 0300 00
марки Ж	92 1935 0400 08

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. **РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН** Государственным агропромышленным комитетом СССР

РАЗРАБОТЧИКИ

В. А. Тукмачев, канд. хим. наук (руководитель темы); **В. К. Чупрасов**, канд. техн. наук; **Л. И. Стасевич**; **Т. Х. Чурукба**; **М. М. Павликова**; **А. Н. Гусева**; **Н. А. Строкова**

2. **УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ** Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 26.12.89 № 4152

3. **Срок первой проверки — 1994 г.**
Периодичность проверки — 5 лет

4. **ВЗАМЕН ГОСТ 23058—78, ТУ 49 1208—85, ТУ 49 1218—85**

5. **ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ**

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 171—81	3.5.1
ГОСТ 245—76	3.5.1
ГОСТ 779—87	3.5.1
ГОСТ 2226—88	1.5.1
ГОСТ 4209—77	3.5.1
ГОСТ 6038—79	3.5.1
ГОСТ 8253—79	3.5.1
ГОСТ 9078—84	4.1.2
ГОСТ 9557—87	4.1.2
ГОСТ 10444.1—84	3.5.2.14
ГОСТ 11293—89	1.3.2; 1.3.3; 3.1; 3.2; 3.5.1; 3.5.2.13
ГОСТ 11773—76	3.5.1
ГОСТ 13277—79	3.5.1
ГОСТ 14192—77	1.4.1
ГОСТ 16147—88	1.3.1
ГОСТ 17065—77	1.5.1
ГОСТ 18477—79	4.1.3
ГОСТ 19342—73	3.5.1
ГОСТ 19360—74	1.5.1
ГОСТ 21650—76	4.1.2
ГОСТ 21929—76	4.1.2
ГОСТ 24597—81	4.1.2
ГОСТ 25183.4—82	3.3
ГОСТ 25183.9—82	3.4
ГОСТ 25183.10—82	1.3.2
ГОСТ 26668—85	3.1

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 26669—85	3.1
ГОСТ 26927—86	1.3.2
ГОСТ 26930—86	1.3.2
ГОСТ 26931—86	1.3.2
ГОСТ 26932—86	1.3.2
ГОСТ 26933—86	1.3.2
ГОСТ 26934—86	1.3.2
ГОСТ 27695—88	3.5.1

Редактор *Т. И. Василенко*
Технический редактор *Л. А. Кузнецова*
Корректор *В. С. Черная*

gost.e-ecolog.ru

Сдано в наб. 26.01.90 Подп. в печ. 24.04.90 1,5 усл. печ. л 1,5 усл. кр.-отт. 1,35 уч.-изд. л.
Тираж 6000 Цена 30 к.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123557, Москва, ГСП, Новопресненский пер., 3
Тип. «Московский печатник». Москва, Лялин пер., 6. Зак. 1578