

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР  
ГЛАВНОЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ УПРАВЛЕНИЕ  
ИНСТИТУТ ПИТАНИЯ АМН СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ  
ТОКСИЧНОСТИ ЗЕРНА (РЖИ, ПШЕНИЦ  
С РОЗОВОЙ ОКРАСКОЙ ОБОЛОЧЕК).

МОСКВА - 1985 г.

Методические рекомендации предназначены для использования учреждениями Государственного санитарного надзора и ведомственными лабораториями, осуществляющими контроль за качеством поступающего зерна.

Разработаны отделом гигиены питания Главного санитарно-эпидемиологического управления СССР ( Л.В.Селивановой, И.П.Луковцевой ) и Институтом питания АМН СССР (И.Б.Куваевой, В.П.Богородицкой, Э.В.Болдынской, Е.А.Кряковой.)



ребление в пищу фузариозного зерна и продуктов его переработки может стать причиной заболевания людей (алиментарно-токсическая эллекция, расстройства функции кишечного тракта и др.). Поражение зерна грибами рода *Fusarium* обычно приводит к появлению розовой окраски оболочек отдельных зерен, так как многие представители фузариел при своем росте на зерне образуют наряду с токсинами красно-розовый пигмент. Поэтому розовоокрашенные оболочки зерна рассматриваются как косвенный признак фузариозного поражения. Однако розовую окраску оболочек зерна могут формировать и другие микроскопические грибы помимо фузариел.

Исследования, проведенные в Институте питания АМН СССР, показали, что токсическими свойствами может обладать не только розовоокрашенное зерно с признаками фузариоза, но и зерно без признаков фузариозного поражения, если содержание в испытуемом образце розовоокрашенных зерен превышает 3%.

В связи с этим по решению Минздрава СССР в государственные ресурсы принимается зерно с содержанием зерен с розовой окраской и признаками фузариоза до 10 процентов. При этом зерно, содержащее до 3% розовоокрашенных, в том числе фузариозных, зерен допускается на продовольственные цели без ограничений. Вопрос об использовании зерна, содержащего от 3% до 10% розовоокрашенных и фузариозных зерен, должен решаться только после лабораторного исследования зерна на токсичность в соответствии с настоящими Методическими указаниями. Зерно, содержащее свыше 10% розовоокрашенных и фузариозных зерен, может быть использовано на фуражные и технические цели в соответствии с заключением ветеринарного надзора.

Поскольку в зерне с розовой окраской оболочек, пораженного микроскопическими грибами, может накапливаться целый ряд токсических грибных метаболитов, природа которых не всегда известна, для выявления

токсичности такого зерна целесообразно использовать биологические методы определения, позволяющие выявить в зерне весь комплекс токсических компонентов, независимо от его химической природы.

Биологические методы исследования токсичности зерна с розовой окраской оболочек включают биопробы с культурами дрожжей *Saccharomyces fragilis*, бактерий *Bac. pasteurianus* ВКМБ-44 и испытания на растущих крысках.

Штамм дрожжей *Saccharomyces fragilis* 25-Д был рекомендован в качестве чувствительной микромодеи для выявления фюзариотоксинов ранее (Методические указания по определению токсичности зерновых культур и продуктов их переработки, пораженных грибами рода *Fusarium* секции *Sporotrichiella*. Москва, 1978г.). Этот штамм оказался удобным тест-организмом в работе и избирательно чувствительным к фюзариотоксинам, поэтому он включен и в настоящие "Методические указания".

Бактериальная культура *Bac. pasteurianus* ВКМБ-44 чувствительна к действию ряда микотоксинов, содержащихся в экстрактах токсичного зерна (фюзариотоксинам, афлатоксинам, ократоксинам). Использование этой культуры в качестве микромодеи для определения токсичности зерна позволяет выявлять контаминацию зерна не только фюзариотоксинами, но и микотоксинами широко распространенных микроскопических грибов из рода *Aspergillus*.

Биопробы с дрожжами *Saccharomyces fragilis* 25-Д и бактериями *Bacillus pasteurianus* ВКМБ-44 позволяют быстро проверить наличие у зерна токсических свойств и выявить розовоокрашенное зерно, загрязненное токсинами фюзариев и аспергиллов (трихотеценовыми микотоксинами, афлатоксинами, ократоксинами).

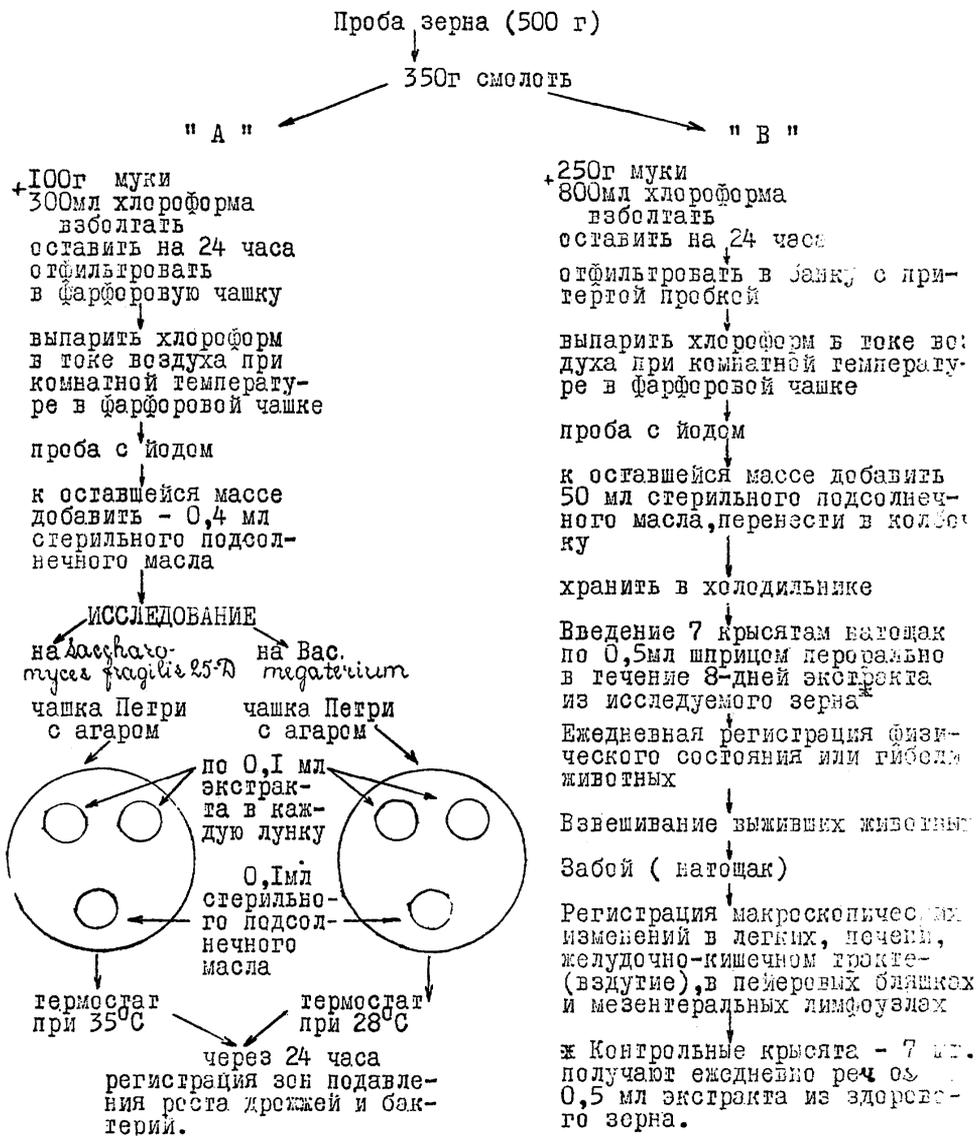
Кроме проверки с дрожжевыми и бактериальными тестами токсичность зерна должна быть дополнительно проверена в опытах на высших животных. В качестве животных, чувствительных к действию всего комплекса токсических компонентов розовоокрашенного зерна, предлагается

крысята вместо рекомендованных ранее голубей, так как голуби избирательно чувствительны только к фузариотоксинам, а фузариотоксины выявляются с помощью культуры дрожжей.

Определение токсичности розовоокрашенного зерна следует проводить по схеме I.

При необходимости настоящие Методические указания могут быть использованы для определения токсичности и других зерновых культур.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.



II. ПОСУДА, АППАРАТУРА. РЕАКТИВЫ .

П о с у д а :

1. чашки Петри (диаметр 90-100 мм) ГОСТ 25336-82 ;
2. пипетки на I и IO мл, градуированные ГОСТ 28336-82;
3. микропипетки на 0,1 мл градуированные ; ГОСТ 1770-64;
4. пробирки ( диаметр 15-16 мм ) ГОСТ 25336-82;
5. банки стеклянные с притертой пробкой , ёмк.10л ;
6. фарфоровые чашки диаметр - 13 мм ;
7. стеклянные палочки ;
8. колбы конические ёмк. 50, 100, 250 и 750 мл ГОСТ 25336-82;
9. воронки стеклянные, диаметр - 10 мм ГОСТ 25336-82 ;
10. пробойник металлический, диаметр 6-7 мм ;
11. микробиологическая петля ;

а п п а р а т у р а :

12. горелка спиртовая или газовая ;
13. весы торговые со стрелками на 200 г;
14. весы технические ;
15. кофемолка или лабораторная мельница ;
16. оптический стандарт мутности ГИСК им.Тарасевича ;
17. ареометр АСТ - 2;
18. бумага фильтровальная лабораторная ГОСТ 12026-76;
19. шприц медицинский на I мл;
20. иглы для шприца № II с напаянной на конце оливой ;
21. ножницы ;
22. скальпель глазной ;
23. линцеты - глазной и анатомический ;
24. холодильник бытовой ;
25. термостат на  $28^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$  и  $35 \pm 1^{\circ} \text{C}$  ;

р е а к т и в ы :

26. глюкоза х.ч. ГОСТ 975-75 ;
27. агар микробиологический ГОСТ I7206-7I ;
28. масло растительное подсолнечное ГОСТ II29-73;
29. хлороформ медицинский ГОСТ 20025-74;
30. пикриновая кислота, насыщенный водный раствор ;
- 3I. спиртовая настойка йода медицинская -5 % ;
32. спирт этиловый ректифицированный ГОСТ I8300-72;
33. сусло пивное - технологическая инструкция от I августа I974г.
34. хлористый натрий ГОСТ 4233-77 ;
35. натрий едкий очищенный ГОСТ II078-78 - IO%раствор ;

III. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ.

I. М я с о - п е п т о н н ы й а г а р с г л ю к о з о й :

- |                       |           |
|-----------------------|-----------|
| мясо-пептонный бульон | - IOOO мл |
| агар                  | - 20 г    |

Стерилизовать в течение 20 мин. при I20<sup>0</sup>С.

В остуженный до 60<sup>0</sup>С мясо-пептонный агар ввести 25 мл 40 % стерильного раствора глюкозы, размешать и использовать для постановки опыта с *Bac. megaterium*, или разлить в стерильные пробирки по 5 мл для приготовления скошенного агара. Пробирки со средой выдержать 24 часа в гермостате при 37<sup>0</sup>С, отбраковать прорешие, остальные хранить в холодильнике не более одного месяца и использовать для посева культуры *Bac. megaterium*.

2. К А Р Т О Ф Е Л Ь Н ы й а г а р :

- |                    |           |
|--------------------|-----------|
| картофель тертый   | - 200 г   |
| агар               | - 20 г    |
| вода водопроводная | - IOOO мл |

Картофель варят I час, фильтруют через марлю, доливают водой до первоначального объема, добавляют агар. Стерилизуют 30 минут при

120°C и разливают по 5 мл в стерильные пробирки для приготовления скошенного агара. Хранят в холодильнике не более одного месяца, используют для пересева культуры *Bac. megaterium*.

### 3. Сусло-агар :

ливное сусло I4 Ball	- 100 мл
вода водопроводная	- 100 мл
агар	- 4 г

В ливном сусле определяют содержание сахара ареометром и разводят водопроводной водой до нужной концентрации ( 7 Ball ). Определяют рН и доводят 10% р-ром NaOH до 5,8-6,0 . Добавляют агар по 2 г на 100мл разведенного сусла. Стерилизуют 30 мин. при 112°C.

Перед использованием в слите с дрожжами расплавить на кипящей водной бане, охладить до 50° С и разлить в чашки Петри по 20 мл или в стерильные пробирки для приготовления скошенного агара. Хранить пробирки со средой в холодильнике не более одного месяца и использовать для пересева дрожжей *Saccharomyces fragilis* 25-90 .

## IV. ТЕСТ-ОБЪЕКТЫ.

### 1. К у л ь г у р а д р о ж ж е й - *Saccharomyces fragilis* 25-90

Культуру засевают штрихом на скошенный сусло-агар в пробирки микробиологической петлей, обожженной в пламени горелки, инкубируют при 35°C 24 часа. Выросшую односуточную культуру хранят в холодильнике и пересеваят на свежие косяки сусло-агара 1 раз в месяц.

### 2. К у л ь г у р а б а к т е р и й - *Bacillus megaterium* - ВКМВ-44.

Культуру засевают штрихом на скошенный картофельный агар в пробирки микробиологической петлей, обожженной в пламени горелки, и инкубируют при 28°C 24 часа. Выросшую односуточную культуру хранят в холодильнике и пересеваят на свежие косяки картофельного агара через каждые две недели.

## VI. СБОР ЗЕРНА И ЕГО ПАСПОРТИЗАЦИЯ.

Пробы отбирают от каждой поступающей партии зерна, в соответствии с ГОСТом 3040-55.

Отобранные образцы должны быть паспортизованы. На этикетках указывается:

- а) место отбора зерна (область, район, колхоз, совхоз и т.д.);
- б) наименование зерновых культур (пшеница, рожь, просо и др.);
- в) количество зерна, от которого взята проба (или размер партии);
- г) откуда взят образец (снят на корню, из валков, из зернохранилища и т.д.);
- д) дата сбора пробы ;
- е) вес взятого образца;
- ж) фамилия ответственного за отбор проб.

Отобранные образцы направляют на исследование в областную, краевую и республиканскую санитарно-эпидемиологическую станции и в ведомственные лаборатории, осуществляющие контроль за качеством поступающего зерна.

## VII. ПОДГОТОВКА МАТЕРИАЛА ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Из поступившего на исследование образца зерна отбирают среднюю пробу около 500г, подсушивают её при температуре 40-50°C, из них 350 г измельчают на лабораторной мельнице или кофемолке в течение двух минут, делят на две порции по 100 г ("А") и 250 г ("Б"), и помещают в две стеклянные банки с притертыми пробками. Порции заливают хлороформом в количестве: порцию "А" - 300 мл, порцию "Б" - 800 мл, взбалтывают, оставляют на 24 часа. Отфильтровывают через бумажный фильтр порцию "А" в фарфоровую чашку, порцию "Б" в банку с притертой пробкой ёмкостью 1 л. Выпаривают порции "А" и "Б" каждую отдельно в фарфоровых чашках в токе воздуха при комнатной температуре до исчезновения следов хлороформа, определяемых по реакции с иодом

ж) Постановка иодной реакции на остаточный хлороформ в экстракте зерна: на дно пустой фарфоровой чашки наносят стеклянной палочкой каплю выпаренного экстракта и каплю спиртового раствора иода. Появ-

ление розовой окраски свидетельствует о присутствии хлороформа и необходимости дальнейшего выпаривания. Отсутствие порозовений свидетельствует о полном удалении хлороформа из экстракта.

Полученный таким образом стуженный экстракт порции "А" используют для постановки опытов с культурой дрожжей *Saccharomyces fragilis* 25-9 и бактерий *Bacillus megaterium*. Если остаток экстракта затвердел, его слегка разводят добавлением 0,4 мл стерильного подсолнечного масла.

Стуженный экстракт из порции "Б" разводят 50 мл стерильного подсолнечного масла и получают масляный экстракт зерна, который хранят в холодильнике в стерильных колбочках емк. 50 мл. и используют для введения экспериментальным крысам.

В качестве контроля готовят как описано выше для порции "Б" масляный экстракт доброкачественного зерна нормальной окраски.

#### VIII. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧНОСТИ ЗЕРНА ПРИ ПОМОЩИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО К СУЗАРИТОКСИНАМ ШТАММА ДРОЖЕЙ *Saccharomyces fragilis* 25-9

Для проведения исследования культуру дрожжей из исходной пробирки, хранящейся в холодильнике, пересевают штрихом микробиологической петлей, обожженной в пламени горелки, на скошенный сусло-агар в пробирку и инкубируют при температуре 35°C в течение 24 часов.

Затем в пробирку с выросшей односуточной культурой дрожжей наливают 10 мл стерильной водопроводной воды и стерильной петлей взбалтывают дрожжи в воде до получения суспензии. Суспензию переносят стерильной пипеткой на 10 мл в пустую стерильную пробирку и разводят стерильной водой до мутности, соответствующей 5 единицам мутности (0,5 млрд клеток в 1 мл) стандарта мутности. По 2 мл приготовленной суспензии дрожжевых клеток наливают в заранее приготовленные стерильные чашки Петри (2мл суспензии на 1 чашку) и заливают расплавленным и охлажденным до 50°C сусло-агаром из расчета 20 мл на чашку и тщательно перемешивают. В застывшей пластинке агара пробочным пробойником

диаметром 6-7 мм, обработанным методом фламбирования, делают лунки по 3 лунки на чашку согласно схеме I. В лунку вносят по 0,1 мл экстракта порции "А" стерильными микропипетками. Для каждого образца закапывают две лунки. В качестве контроля в третью лунку вносят стерильное подсолнечное масло. Чашки, не переворачивая вверх дном, ставят в термостат и инкубируют сутки при 35°C.

В контроле стерильные зоны отсутствуют. При наличии стерильных зон в контроле опыт повторяют со свежей культурой.

При наличии в экстрактах зерна фузариотоксинов вокруг лунок с экстрактами образуются зоны подавления роста дрожжей-стерильные зоны. В случае образования стерильных зон шириной 1 мм зерно оценивается как токсичное. Содержание трихотеценовых микотоксинов, в частности Т-2 токсина в таком зерне достигает - 0,45 мг/кг зерна и больше превышает предполагаемый предельно допустимый уровень Т-2 токсина в пищевых продуктах.

Если стерильные зоны не образуются, то дается заключение, что зерно не содержит фузариотоксинов трихотеценовой природы.

Далее зерно исследуют в опытах с *Bacillus megaterium* и на крысках.

#### IX. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТАМИНАЦИИ ЗЕРНА МИКОТОКСИНАМИ ПРИ ПОМОЩИ

##### ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО ШТАММА БАКТЕРИЙ *Bacillus megaterium* ВКМБ-44.

Для проведения анализа культуру бактерий *Bac. megaterium* ВКМБ-44 на картофельном агаре из пробирки, хранящейся в холодильнике, пересевают штрихом микробиологической петлей, обожженной в пламени горелки, на скошенный МПА с 1% глюкозы или картофельный агар<sup>ж</sup> и инкубируют при температуре 28°C 24 часа. Готовят суспензию клеток из вырос-

-----  
<sup>ж</sup> Картофельный агар обеспечивает лучший рост культуры, чем МПА с 1% глюкозы.

шей односуточной культуры бактерий в стерильном физиологическом растворе МАСЕ (0,85%) по эталону мутности № 5, что соответствует Бединцам мутности стандарта мутности.

В расплавленный и охлажденный до 50°C МПА с 1% глюкозы или картофельный агар вносят приготовленную клеточную суспензию в количестве 15 мл на 100 мл агара и разливают в приготовленные чашки Петри в расчете 20 мл на чашку. В застывшей пластинке агара пробочным пробником диаметром 6-7 мм, обработанным методом фламбирования, делают лунки по 3 лунки на чашку согласно схеме I. В две лунки вносят по 0,1 мл экстракта порции "Д" стерильными микропипетками на 0,1 мл. В третью лунку в качестве контроля вносят стерильное подсолнечное масло. Чашки, не переворачивая вверх дном, ставят в термостат и инкубируют сутки при 28°C.

В контроле стерильные зоны вокруг лунок не образуются. В случае появления стерильных зон вокруг лунок в контроле опыт повторяют со свежей культурой бактерий.

При появлении вокруг лунок с экстрактами из испытуемого зерна стерильных зон шириной свыше 1 мм зерно оценивается как токсичное.

Если стерильные зоны вокруг лунок не образуются, дается заключение, что зерно не содержит микотоксины грибов рода *Aspergillus*.

Зерно затем исследуют в опытах с крысятами.

#### Х. БИОЛОГИЧЕСКАЯ ПРОБА НА КРЫСЯТАХ.

Используют молодых крысят линии Вистар, самцов весом 50-70 г в количестве 6-7 животных на каждую пробу зерна.

животных осматривают, отбраковывают больных, взвешивают, мочегликриновой кислотой, в соответствии с меткой записывают номер животного, помещают по 3 штуки в клетку. Клетки маркируют - "опыт", "контроль", ставят дату начала опыта.

Ежедневно крысятам вводят в пищевод через рот по 0,5 мл "масля-

ного экстракта" исследуемой пробы зерна. Для введения используют медицинский шприц, рассчитанный на дозу объемом 1 мл, и иглу для шприца №11, на конец которой налаивается олива. Экстракт вводят ежедневно один раз в сутки утром натощак, для чего с вечера убирают из клетки обычный виварный корм, оставляя воду для питья. После введения экстракта ставят в клетку виварный корм. Длительность опыта с введением "масляного экстракта" зерна 8 суток. В качестве контроля используют 6-7 крысят того же возраста и веса, которым в течение опыта ежедневно натощак по 0,5 мл "масляного экстракта", приготовленного из доброкачественного зерна нормальной окраски.

Ежедневно следят за общим состоянием животных, отмечают вялость, расстройства пищеварения, рвоту, тремор, взъерошенность шерсти как симптомы возможного токсического действия испытываемых образцов зерна.

Признаком острой токсичности служит гибель животных в течение опытного периода.

При отсутствии острого токсического действия экстрактов зерна доброкачественность последнего оценивается на основе комплекса признаков, включающих клинические симптомы; весовые характеристики животных и состояние их органов.

Для получения перечисленных сведений по окончании опыта контрольных и опытных животных натощак взвешивают, забивают методом декапитации, вскрывают и исследуют визуально состояние органов, сначала у контрольных животных, затем у опытных. Отклонения регистрируются по сравнению с контрольными животными. Отмечают светлую окраску или желтизну, зернистую консистенцию печени, воспаление легких, вздутость кишечника, увеличение пейеровых бляшек в тонкой кишке и увеличение размеров мезентерального брыжеечного лимфоузла, гиперемизированные кровеносные сосуды в нем. Печень взвешивают.

При визуально обнаруживаемых отклонениях в печени морфологические

исследования подтвердили наличие жировой и белковой дистрофии и другие нарушения микроструктуры органа; при визуальном обнаруживаемых отклонениях в лимфоузле морфологические исследования подтвердили наличие кровоизлияний в этом органе, обеднение клеточного состава в фолликулярных центрах и другие нарушения микроструктуры; при визуальном осмотре пейеровых бляшек в тонкой кишке при токсическом действии выявляются увеличенные или уменьшенные размеры по сравнению с контролем, резкорегулированные сосуды и изменения морфологической структуры органа; визуальное обнаруживаемые изменения в кишечнике также подтверждались морфологическими исследованиями, свидетельствующими о нарушении микроструктуры крипт, эпителия, субэпителиальных слоев с выраженной их инфильтрацией круглоклеточными элементами; кроме того у этих животных выявлены морфологическими методами нарушения в структуре тимуса, селезенке и почек. Морфологические исследования полностью подтвердили правомочность суждения о наличии токсического действия по визуальным выявляемым признакам патологических отклонений в органах забитых животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ РЕГИСТРИРУЮТСЯ В ЖУРНАЛЕ ПО ФОРМЕ № 1.

1. На основе полученных данных учитывают количество погибших животных и их %; если гибели животных не отмечалось, то записывают 0
2. На основе взвешивания животных рассчитывают прирост массы тела в г и в % к исходному весу:

а) прирост массы в г = масса конечная - масса начальная;

б) относительный прирост массы тела в % =  $\frac{\text{конечная масса} - \text{начальная масса} \times 100}{\text{начальная масса}}$

(пример: нач. масса 50г, конечная - 65г

прирост в % =  $\frac{(65-50) \times 100}{50} = 30\%$ )

(M)

Рассчитывают среднее арифметическое значение массы тела и прироста массы у всех животных за опытный период.



3. Подсчитывают средние весовые показатели массы печени и высчитывают относительную массу по следующей формуле:

$$\text{Мотн.} = \frac{\text{масса органа} \times 100}{\text{конечная масса тела}}$$

пример: вес крысенка перед забоем 70г  
вес печени 3,5г

$$\text{Мотн. печени} = \frac{3,5 \times 100}{70} = 5,0\text{г}$$

4. Подсчитывают количество животных, у которых были обнаружены клинические симптомы заболевания и при вскрытии визуально обнаружены изменения в вышеперечисленных органах.

По форме I заполняются и результаты обследования контрольных животных.

5. Затем составляют суммарную таблицу по форме №2, где приводят полученные данные для всех исследованных опытных образцов зерна с розовой окраской оболочек и образцов контрольного зерна нормальной окраски.

6. Оценивают токсичность зерна по данным формы №2. При токсичности зерна наблюдаются изменения одновременно по ряду признаков.

Зерно оценивается по 4-х балловой системе:

- 1) резко токсичное - при гибели одного или более экспериментальных животных - (++++ или 4+);
- 2) токсичное - при наличии клинических признаков токсичности и отклонений в макроскопических характеристиках одного органа у 100% опытных животных или при поражении двух, трех, и более органов более чем у 50% опытных животных, что может сопровождаться потерей веса животными или резким снижением прироста массы тела и/или изменением относительной массы печени по сравнению с контролем (например: шерстный покров вьерошен, все животные малоподвижны; прирост <sup>массы</sup> тела снижен - в опыте - 17%, в контроле - 30%; печень с желтизной и зернистостью - у 5 крысят; пневмония - у 4; лимфоузлы больше нормы - у 4 крысят; кишечник вздут - у 5 крысят) -(+++ или 3+)



3) слаботоксичное - клинических проявлений нет, прирост массы близок к контролю, но при вскрытии обнаруживаются визуально у 2-3х из 7 животных 1 или 2 признака патологических отклонений (пневмония и желтизна печени; или вздутый кишечник и увеличенные лимфоузлы с гиперимированными сосудами и увеличенные пейеровы бляшки и т.д.) - (++) или +).

При сопоставлении контрольных и опытных животных при взятии в опыт полноценных животных, изменения в печени, кишечнике, лимфоузлах, а также свежая пневмония в контрольной группе животных не должны обнаруживаться более чем у одного животного. Если пневмония обнаружена у половины контрольных животных, то этот признак не может рассматриваться как свидетельство токсического действия исследуемого зерна при оценке показателей у опытных животных.

XI. РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РОЗОВООКРАШЕННОГО ЗЕРНА  
ПОСЛЕ ПРОВЕРКИ ЕГО ТОКСИЧНОСТИ.

1. При наличии стерильных зон с дрожжами и/или *Bacillus megaterium* и при гибели опытных крысят (+4) зерно оценивается как резкотоксичное и не может быть использовано на пищевые цели.
2. При отсутствии стерильных зон с дрожжами и/или *Bacillus megaterium* но при гибели опытных крысят зерно также оценивается как резкотоксичное и не может быть использовано на пищевые цели.
3. При наличии стерильных зон с дрожжами и/или *Bacillus megaterium* токсическом действии на опытных крысят (3+), но без гибели животных, зерно оценивается как токсичное и не может быть использовано на пищевые цели.
4. При наличии стерильных зон с дрожжами и/или *Bacillus megaterium* и отсутствии токсического действия на опытных крысят зерно оценивается как слаботоксичное и может быть использовано на пищевые цели с подсортировкой доброкачественным зерном нормальной окраски до содержания розовоокрашенных зерен не выше 3%.
5. Если у зерна установлены слабые токсические свойства на животных (2+), но гибели экспериментальных животных не наблюдалось и не было выявлено стерильных зон с дрожжами и *Bacillus megaterium*, зерно может быть использовано на пищевые цели с подсортировкой доброкачественным зерном нормальной окраски до содержания розовоокрашенных зерен не выше 3%.
6. Если у зерна не установлены токсические свойства в опытах на животных и не было выявлено стерильных зон с дрожжами и *Bacillus megaterium*, зерно с содержанием от 3 до 5% розовоокрашенных и фузариозных зерен может быть использовано на продовольственные цели без ограничений.

В очень редких случаях зерно, содержащее свыше 5% зерен с розовоокрашенными оболочками, в опытах по применяемой схеме не обнаруживает токсических свойств. Однако, хлеб является продуктом

ежедневного массового употребления и поэтому особенно нуждается в контроле за его безопасностью. Так как проверка зерна на токсичность в условиях длительного хронического эксперимента не проводится учреждениями санитарного надзора, зерно с содержанием зерен с розовоокрашенными оболочками от 5 до 10% даже при отсутствии выраженной токсичности может быть использовано на пищевые цели только с подсортировкой доброкачественным зерном до содержания розовоокрашенных зерен не выше 3%.

С введением в действие настоящих Методических указаний отменяется действие "Методических указаний по определению токсичности зерновых культур и продуктов их переработки, пораженных грибами рода *Fusarium* секции *Sporotrichiella*" , утвержденных Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 23 марта 1978г за № 1829-78.

---

По вопросам практического внедрения биологических методов определения токсичности зерна следует обращаться в Институт питания АМН СССР (Москва, Г09240, Устьинский проезд, дом 2/14, телефон 227-88-61 297-74-43).

Культуру дрожжей *Saccharomyces fragilis* 25-Д можно получить в Институте питания АМН СССР по указанному выше адресу.

Культуру *Bacillus megaterium* ВКМВ-44 можно выписать из Всесоюзной коллекции микроорганизмов по адресу Г42292, г. Пущино, Московской области, Институт биохимии и физиологии микроорганизмов АН СССР, телефон 231-30-87, а также в Институте питания АМН СССР.

ОТРЫВНОЙ ЛИСТ

учета использования методов профилактики, диагностики  
и лечения

Направить в Отдел гигиены питания  
Главного санитарно-эпидемиологиче-  
ского управления при МЗ СССР (Ис-  
ва, Рахмановский пер.3) или в Инсти-  
тут питания АМН СССР (г. Москва, Мо-  
вский проезд, дом 2/14).

1. Временные методические рекомендации по определению токсичнос-  
ти зерна (ржи, пшеницы) с розовой окраской оболочек.
2. Утверждены заместителем Главного государственного санитарного  
врача СССР

Следующие пункты заполняются в учреждении, где использованы  
рекомендации.

3. ....  
(кем и когда получен)
  4. Количество учреждений, внедривших методы, предложенные данным  
документом. ....
  5. Формы внедрения (семинары, ~~подготовка кадров~~ ~~учреждения~~ ~~на~~ ~~специ-~~  
альных, обобщения и пр.) и ~~результаты внедрения~~ ~~метода~~ (чис-  
ло наблюдений за год и ~~экономический эффект~~ ~~в~~ ~~виду~~ ~~пол-~~  
жительных результатов ~~.....~~ .....
  6. Замечания и предложения (~~.....~~) .....
- Подпись .....  
Должность, Ф.И.О. лица, заполнившего отрывной лист.