

СССР  
ГОСУДАРСТВЕННЫЕ СТАНДАРТЫ

МОЛОКО,  
МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ  
И КОНСЕРВЫ МОЛОЧНЫЕ

*Издание официальное*

МОСКВА  
1958

Сборник «Молоко, молочные продукты и консервы молочные» составлен Государственным издательством стандартов и включает стандарты, действующие на 1 февраля 1958 г.

В связи с тем, что стандарты периодически пересматриваются и в них вносятся изменения, а также учитывая, что сборник составлен на определенную дату, необходимо при пользовании сборником проверять действие стандартов и наличие изменений к ним.

Для удобства пользования в стандарты, включенные в сборник, внесены изменения, действующие на 1 февраля 1958 г. Эти стандарты в индексе около номера имеют знак\*.

Текущая информация обо всех вновь утвержденных и пересмотренных стандартах, а также об изменениях к ним публикуется в «Информационном указателе стандартов», заказы на который следует направлять в отдел распространения Стандартиза (Москва, И-90, 2-я Мещанская ул., д. 51).

---

<b>СССР</b> — <b>Всесоюзный комитет стандартов при Совете Министров Союза ССР</b>	<b>ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ</b>	<b>ГОСТ</b> <b>3630—47</b>
	<b>Молоко и молочные продукты</b> <b>МЕТОДЫ</b> <b>МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО</b> <b>ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	Взамен ОСТ ВКС 7761 в части биоба- териологических методов испытания
		<b>Группа Н19</b>
<p>Настоящий стандарт распространяется на методы отбора проб молока и молочных продуктов для микробиологического исследования, подготовки их к анализу и на методы микробиологического исследования молока и молочных продуктов при производстве, при хранении и при реализации в торговой сети и в предприятиях общественного питания.</p> <p>Примечание. Микробиологическое исследование молочных консервов, сухого молока, сухого творога и пищевого казеина производят по ОСТ НКММП 3.</p> <p><b>1. ОТБОР ПРОБ И ПОДГОТОВКА ИХ К ИССЛЕДОВАНИЮ</b></p> <p>1. Обязательный отбор проб и последующее микробиологическое исследование их производят:</p> <p>а) На предприятии или производственной базе—в порядке контроля молочных продуктов с нормированным содержанием микрофлоры.</p> <p>б) Во всех случаях при наличии сомнения в качестве продуктов и подозрения, что они могут представлять опасность для здоровья потребителей.</p> <p>в) Для определения степени чистоты культуры, предписанной для некоторых продуктов действующими стандартами.</p> <p>г) По предписанию санитарно-пищевой инспекции в порядке контроля за соблюдением санитарно-гигиенических требований в процессе обработки, хранения, реализации и транспортирования молока и молочных продуктов.</p> <p>2. Пробы от продуктов для микробиологического исследования отбирают в стерильную посуду с помощью стерильных приспособлений и раньше чем для физико-химических испытаний.</p> <p>3. Вымытую и высушенную посуду стерилизуют сухим жаром в сушильном шкафу (при 160°C в течение 1,5 часа) или паром в автоклаве (под давлением 1 атм в течение 20 мин.). Чашки Петри, пипетки и т. п. стерилизуют завернутыми в плотную гладкую бумагу. В конец пипетки, который</p>		
Внесен Министерством мясной и молочной промышленности СССР	Утвержден Всесоюзным комитетом стандартов 15/IV 1947 г.	Срок введения 1/IX 1947 г.

берется в рот, предварительно вкладывают тампон из ваты, а другой конец обертывают ватой. Каучуковые пробки стерилизуют отдельно завернутыми в бумагу (каждую порознь). Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками.

4. Отбор проб и перемешивание продуктов перед отбором проб производят черпаком, ложкой, щупом, шпателем или другим соответствующим данной цели приспособлением, которое каждый раз перед использованием им должно быть стерилизовано любым из следующих методов:

- а) фламбированием, т. е. обжиганием в пламени спирта;
- б) обтиранием ватой, смоченной спиртом, и обжиганием;
- в) погружением на 30 сек. в кипящую воду.

После стерилизации приспособление должно быть охлаждено в окружающем воздухе, если он не загрязненнее обычного.

5. Посуду с лабораторным образцом закрывают стерильной ватой или притертой стеклянной или плотно пригнанной каучуковой пробкой. Посуду с образцом, отправляемую для анализа в лабораторию предприятия, снабжают этикеткой, в которой указывают:

- а) номер образца,
- б) наименование продукта,
- в) номер и размер партии,
- г) температуру продукта в момент отбора образца,
- д) день и час отбора образца,
- е) должность и подпись лица, отобравшего образец.

6. Образец, отправляемый в лабораторию вне данного предприятия, пломбируют или опечатывают и снабжают этикеткой, в которой указывают:

- а) номер образца,
- б) наименование предприятия, изготовившего продукт,
- в) наименование и сорт продукта,
- г) размер партии,
- д) дату изготовления,
- е) дату и час отбора образца,
- ж) температуру продукта в момент отбора образца,
- з) наименование сдатчика,
- и) наименование приемщика,
- к) должность и подпись лица, отобравшего образец.

Запечатывание производят перевязкой крепкой ниткой или шпагатом вокруг горлышка, после чего концы закидывают на верх пробки или крышки и там запечатывают мастикой или сургучом.

7. Образцы транспортируют и сохраняют до начала исследования в условиях, обеспечивающих температуру мороженого не выше минус 2°C, а прочих продуктов — не выше плюс 6°C.

8. Микробиологическое исследование продукта производят в срок до 4 час. с момента отбора пробы.

Примечание. В отдельных случаях допускается продление срока до 12 час., но продолжительность задержки испытания должна быть указана в акте с объяснением ее причины.

9. Приборы, посуда, приспособления и материалы, употребляемые для микробиологического исследования, должны соответствовать действующим стандартам.

10. Посевы производят стерильными приспособлениями в стерильные среды, которые должны быть приготовлены согласно указаниям настоящего стандарта и проверены на стерильность и правильность приготовления.

Все стерильные среды, предназначенные для микробиологического исследования, перед использованием выдерживают в термостате при 37°C в течение трех суток. Среда с признаками прорастания микроорганизмов для использования не допускаются.

Каждую вновь приготовленную партию сред, предназначенную для идентификации, испытывают на правильность изготовления путем параллельного посева двух чистых культур: *V. Coli commune* и *V. Aerogenes*.

Выделение чистых культур, хранение их и проверка правильности изготовления сред должны производиться квалифицированным микробиологом.

11. Определение реакции среды (рН) производят по методу Михаэлиса с соответствующим индикатором при помощи компаратора Вальполя по ГОСТ 317—52.

12. Пробы от отдельных продуктов отбирают и готовят для микробиологического исследования следующим образом:

*Молоко, сливки, суфле.* Тщательно перемешивают стерильным черпаком и отбирают им 50 мл в стерильную колбу, которую закрывают стерильной пробкой, после чего измеряют и записывают температуру продукта. От расфасованных продуктов отбирают образец в оригинальной упаковке (1—2 образца). Непосредственно после отбора пробы ее охлаждают до +6°C.

**Мороженое.** С поверхности нерасфасованного мороженого стерильной ложечкой снимают слой толщиной не менее 2,5 см, после чего стерильным шупом (или ложечкой) отбирают образец в 50 г. От расфасованного мороженого берут 1—2 образца в оригинальной упаковке. Образцы помещают в стерильную склянку с притертой или ватной пробкой. Перед исследованием склянку с образцом нагревают в водяной бане с температурой 40—45°C в течение 10—15 мин.

**Примечание.** При необходимости поверхностный слой помещают в отдельную стерильную посуду и исследуют отдельно.

**Творог.** Пробу отбирают стерильным шупом из двух-трех мест тары с творогом на расстоянии 3—5 см от края, направляя к противоположной стенке и опуская примерно на  $\frac{3}{4}$  его длины. Из шупа отбирают стерильным шпателем около 20 г и помещают в стерильную банку с притертой или ватной пробкой. Перед началом исследования точно 10 г творога растирают в стерильной фарфоровой ступке с постепенным добавлением 100 мл стерильной воды, подогретой до 45°C, тщательно растирают стерильным пестиком и сливают в стерильную колбочку.

**Масло.** Пробу отбирают способом, указанным для творога. Перед исследованием масло в банке расплавляют в водяной бане, нагретой до 40—45°C, и перемешивают до получения однородной эмульсии.

**Сыр.** Поверхность сыра в намеченном месте отбора пробы прижигают раскаленным ножом. Стерильный шуп вводят наклонно в середину сыра на  $\frac{3}{4}$  его длины. Из шупа отбирают примерно 10 г и помещают в стерильную банку с притертой или ватной пробкой. Перед исследованием отвешивают на профламбированном часовом стекле на технических весах 1 г сыра, тщательно растирают его в профламбированной ступке профламбированным пестиком с постепенным добавлением 100 мл стерильной воды (получают разведение 1/100).

**Прочие молочные продукты,** не упомянутые выше, исследуют в микробиологическом отношении с соблюдением требований, предписанных настоящим стандартом.

## II. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Определение общего количества микробов

#### 13. Счет колоний по Коху

Степень обсемененности продукта микрофлорой определяют на основании подсчета общего количества микробов в 1 мл или 1 г продукта.

**Разведения.** Исследуемый продукт разводят стерильной водой:

Наименования продуктов	Разведения
Молоко сырое, сливки сырые, масло сладкосливочное	1/10000, 1/100000, 1/1000000
Молоко пастеризованное, сливки пастеризованные, молоко солодовое, суфле, мороженое	1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000

**Посев.** По 1 мл разведенного продукта от каждого разведения засевают в отдельные стерильные чашки Петри, заливают молочно-сывороточным или мясо-пептонным агаром (см. пп. 31 и 34), закрывают заранее маркированной крышкой.

**Выращивание.** Чашки Петри с посевом помещают в термостат с температурой 37°C на 48 час.

**Счет колоний.** Количество выросших колоний подсчитывают в каждой отдельной чашке, пользуясь лупой с увеличением в 8—10 раз. Число колоний по каждой чашке умножают на знаменатель дроби, обозначающей соответствующее разведение, и получают общее количество колоний, выросших из 1 мл или 1 г продукта. Окончательный результат, характеризующий загрязненность исследуемого продукта, подсчитывают как среднее арифметическое от чисел, выражающих число колоний в каждой чашке.

**Примечания:**

1. В зависимости от предполагаемой загрязненности продукта допускаются иные разведения.

2. Указанный подсчет производят лишь в том случае, если наименьшее разведение дает не менее 20 колоний, а наибольшее — не свыше 500. В иных случаях конечный результат выражают ориентировочно. Например, если наименьшее разведение 1/100 дало менее 20 колоний, то считают, что в 1 мл (или 1 г) продукта — менее 2000 колоний, для наибольшего разведения 1/10000 при наличии более 500 колоний — считают в 1 мл (или 1 г) 50000000 колоний.

#### 14. Счет колоний по Фросту

**Посев.** Разведенный исследуемый продукт в количестве 0,1 мл с добавлением капли питательного агара быстро и равномерно распределяют на стерильном предметном стекле площадью точно 4 см<sup>2</sup>.

**Выращивание.** После застывания стекло с посевом помещают во влажную камеру и выдерживают в термостате при 30°C в течение 8—10 час.

**Счет колоний.** Подсчет колоний ведут в 20—25 полях зрения, пользуясь микроскопом, вычисляют среднее количество колоний в одном поле зрения, пересчитывают на всю площадь мазка. Количество колоний в 1 мл разведенного продукта определяют путем умножения количества колоний на площади мазка на 10.

#### 15. Счет микробов по Бриду

Этот метод применяют при исследовании продуктов со значительной обсемененностью микрофлорой.

Разведенный исследуемый продукт в количестве 0,01 мл равномерно распределяют на стерильном предметном стекле площадью точно 4 см<sup>2</sup>, мазок высушивают на воздухе, фиксируют спиртом, окрашивают метиленовой синью, после чего под микроскопом с иммерсионной системой подсчитывают количество микробов в 25—30 полях зрения. Счет микробов аналогичен указанному для метода Фроста. Количество микробов в 1 мл разведенного продукта определяют путем умножения количества микробов на площади мазка на 100.

#### Определение загрязнения продуктов кишечной палочкой (титр-коли)

16. Степень загрязнения продукта кишечной палочкой (*B. Coli*) выражают как титр-коли, что означает наименьшее количество продукта, в котором содержатся кишечные палочки.

Титр-коли характеризует состояние санитарно-гигиенических условий в процессе производства и реализации продукта.

#### Разведение продукта для исследования

17. Исследуемый продукт разводят стерильной водой, после чего засевают в пробирки с питательной средой.

При исследовании молока и сливок пастеризованных, ацидофильного молока и простокваши засевают шесть пробирок: три — по 1 мл и в три — по 0,1 мл продукта.

При исследовании масла засевают восемь пробирок с 1 г, 0,1 г, 0,01 г и 0,001 г продукта, по 2 пробирки от каждого разведения.

При исследовании сыра засевают десять пробирок: с 0,01 г, 0,001 г, 0,0001 г, 0,00001 г и 0,000001 г продукта, по 2 пробирки от каждого разведения.

18. Посев на среду Кесслера (см. п. 36).

*Посев.* По 1 мл разведенного продукта засевают в пробирки со средой Кесслера, тщательно перемешивают, избегая образования пузырьков газа.

*Выращивание.* Пробирки с посевом помещают в термостат с температурой 42—43°C на 48 час.

*Идентификация.* При отсутствии признаков брожения (газообразования) через 48 час. продукт считают не загрязненным кишечной палочкой.

При наличии газообразования производят идентификацию, т. е. устанавливают принадлежность бактерий, вызвавших брожение, к определенному виду, для чего производят высев на среду Эндо.

*Примечание.* Допускается замена среды Кесслера средой Краевской (см. п. 37).

19. Посев на среду Эндо (см. п. 38)

*Посев.* Из числа забродивших пробирок производят высев в чашки Петри со средой Эндо с таким расчетом, чтобы получить отдельные колонии.

*Выращивание.* Чашки с посевами помещают (крышками вниз) в термостат с температурой 37°C на 18—24 часа.

*Идентификация.* При отсутствии на среде Эндо колоний, типичных для группы коли (красных с металлическим блеском или без блеска, розоватых и выпуклых, слизистых), продукт считают не загрязненным кишечной палочкой.

При наличии на среде Эндо колоний, типичных для группы коли, а также бесцветных, характерных для *V. Paracoli*, выделяют из колоний чистые культуры, микроскопируют и идентифицируют их.

*Примечание.* Если газообразование обнаружено в одной из пробирок с посевом 0,1 мл, то на среду Эндо высевают из всех пробирок с посевом 1 мл.

20. Бактериоскопическое исследование окрашенных препаратов

*Посев.* От каждой подозрительной колонии, выросшей на среде Эндо, производят посев в мясо-пептонный бульон (см. п. 33).

*Выращивание.* Пробирки с посевом помещают в термостат при 37°C на 2,5—3 часа.

**Идентификация.** Из пробирок после выращивания готовят препараты, окрашивают их по Граму и устанавливают морфологию и чистоту культуры.

21. Посев на среду Симмонса (см. п. 39) и на среду с лактозой (см. п. 40).

**Посев.** Из бульона с чистой культурой от подозрительной колонии, выросшей на среде Эндо, производят посев на среду с лактозой — для выделения *V. Paracoli* и на среду Симмонса — для выделения *V. Aerogenes*.

Посев производят пипеткой, емкостью 1 мл, в количестве трех капель.

**Выращивание.** Пробирки с посевами помещают в термостат с температурой 37°C на 24 часа.

**Идентификация.** Отсутствие газа и кислой реакции среды с лактозой характерно для *V. Paracoli*.

При наличии *V. Aerogenes* среда Симмонса в присутствии индикатора бромтимолблау из светло-оливково-зеленоватой становится светло-синей.

#### 22. Учет результатов

В результате идентификации учитывают все разновидности кишечной палочки, кроме *V. Aerogenes*.

За типичную кишечную палочку признают палочку, которая:

- а) морфологически соответствует кишечной палочке;
- б) обладает подвижностью (хотя бы слабо выраженной);
- в) не окрашивается по Граму;
- г) вызывает брожение с образованием кислоты и газа на среде с лактозой.

#### 23. Установление титра-коли

Титр-коли для молока и сливок пастеризованных, мороженого, суфле, солодового молока, ацидофильного молока и простокваши устанавливают, руководствуясь следующими указаниями:

а) если ни в одной из пробирок газообразование не обнаружено, то считают титр-коли «более 3 мл»;

б) если в одной из пробирок с 1 мл продукта обнаружены признаки брожения, то считают титр-коли «3 мл»;

в) если брожение обнаружено более чем в одной пробирке с 1 мл продукта или хотя бы в одной из пробирок с 0,1 мл, то считают титр-коли «0,3 мл»;

г) если брожение обнаружено во всех пробирках с посевами от обоих разведений, а также и в том случае, если забродили три пробирки одного (любого) разведения и две другого, то считают титр-коли «менее 0,3 мл».

24. При определении титра-коли для прочих продуктов при посеве от стандартных разведений (см. п. 17) руководствуются следующим:

а) если ни в одной из пробирок не обнаружено газообразование, то считают продукт практически не загрязненным кишечной палочкой;

б) если признаки брожения обнаружены во всех пробирках, то титр-коли равен наименьшему объему или весу продукта, засеянному в пробирку с наибольшим разведением;

в) если признаки брожения обнаружены только в одной пробирке, то титр-коли равен общему объему или весу продукта во всех засеянных пробирках;

г) если признаки брожения обнаружены не во всех пробирках, то титр-коли равен общему объему или весу продукта, засеянному во все пробирки и деленному на количество пробирок с признаками брожения, но при больших разведениях (более 1 : 100) за титр-коли принимают количество продукта в забродившей пробирке с наименьшим разведением.

25. Определение количества дрожжей и плесеней

Дрожжи и плесени являются показателем состояния санитарно-гигиенических условий в процессе производства и хранения продуктов.

*Разведение и посев.* Для определения количества дрожжей и плесеней в масле производят посев 0,1 г и 0,01 г продукта в чашки Петри и заливают суловым агаром (см. п. 42).

*Выращивание и счет.* Чашки с посевом выдерживают в термостате при 30°C в течение трех суток, после чего производят подсчет количества дрожжей и плесеней.

26. Определение количества пептонизирующих бактерий

Пептонизирующие бактерии вызывают разложение белка, в результате чего в продукте появляется порок — горький вкус.

*Разведение и посев.* Для определения количества пептонизирующих бактерий в масле производят посев 0,001 г и 0,0001 г продукта в чашки Петри и заливают мясо-пептонной желатиной (см. п. 35).

*Выращивание.* Чашки с посевом выдерживают в термостате при 20—22°C до прекращения увеличения количества колоний.

*Счет колоний.* Счет колоний начинают через двое суток и заканчивают после увеличения количества колоний.

Примечание. Рост отдельных колоний, разжижающих желатину, приостанавливают прижиганием их ляписом.

## 27. Определение количества маслянокислых бактерий

Маслянокислые бактерии являются частой причиной порока сыров — вспучивания (во второй стадии созревания) при одновременном ухудшении вкуса.

*Разведение и посев.* Для определения количества маслянокислых бактерий в сыре производят посев 0,001 г, 0,0001 г и 0,00001 г продукта в пробирки со стерильным цельным молоком (см. п. 35). После посева пробирки нагревают в водяной бане до 85°C в течение 10 мин.

*Выращивание.* Пробирки с посевом выдерживают в термостате при 30°C в течение трех дней.

*Идентификация.* Наличие маслянокислых бактерий определяют по следующим признакам:

- а) образование газа,
- б) запах масляной кислоты,
- в) в препарате видны споровые бактерии, имеющие форму барабанных палочек.

### Бактериоскопическое исследование продуктов

## 28. Окраска по Граму

Протоплазма некоторых видов бактерий дает с йодом и анилиновыми красками не растворимое в спирту соединение. Основанный на этом способ окраски по Граму служит важным диагностическим признаком при определении вида бактерий (при исследовании употребляемой в производстве культуры и т. п.).

Для окраски по Граму высушенный и фиксированный препарат окрашивают сквозь фильтровальную бумагу генциан-виолетом (см. п. 44), слегка споласкивают водой и обрабатывают в течение 1—2 мин. раствором Люголя (см. п. 45). После раствора Люголя препарат вновь слегка споласкивают водой и погружают на 30—60 сек. в 96%-ный этиловый спирт. Спиртом обрабатывают до прекращения выделения с препарата струек краски.

После обработки спиртом препарат споласкивают водой и дополнительно окрашивают разбавленным раствором фуксина (см. п. 46) в течение 1—3 мин.

Бактерии, окрашивающиеся по Граму, имеют темно-фиолетовую окраску, а не окрашивающиеся приобретают дополнительную окраску — красный цвет.

Примечание. Окраску исследуемого препарата проводят параллельно с препаратами культур, заведомо окрашивающихся и неокрашивающихся по Граму.

### III. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

#### 29. Стерильная вода

Водопроводную или другую питьевую воду наливают в чистые пробирки по 10 мл и стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин.

#### 30. Дрожжевой автолизат

Прессованные дрожжи смешивают с равным по весу количеством воды до получения однородной массы, ставят в термостат при 50—55°C на 3 суток. После этого массу помещают в автоклав при 0,8 атм на 15 мин., затем несколько раз фильтруют, осадок промывают водой с таким расчетом, чтобы общее количество фильтрата составило 4 л. Фильтрат нейтрализуют до pH=6,8, разливают мелкими порциями и стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин.

#### 31. Молочно-сывороточный агар

Молочная сыворотка . . . . .	1 л
Пептон . . . . .	10 г
Агар-агар . . . . .	15 »

Обезжиренное молоко нагревают до 40°C, добавляют сычужный порошок (0,1 г), выдерживают один час при той же температуре. Образовавшийся сгусток разбивают стеклянной палочкой, нагревают смесь до 80°C, процеживают через редкий холст, устанавливают реакцию среды (pH=6,8—7,0). В сыворотку добавляют пептон и агар-агар, расплавляют в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин., фильтруют, разливают в пробирки и стерилизуют при 1 атм в течение 15 мин.

#### 32. Мясо-пептонный бульон (МПБ)

а) Из мясного экстракта:

Вода питьевая . . . . .	1 л
Пептон . . . . .	10 г
Мясной экстракт . . . . .	10 »
Дрожжевой автолизат . . . . .	100 »
Соль поваренная . . . . .	5 »

(Нормальная реакция среды pH=7,2—7,4)

Смесь тщательно перемешивают, нагревают до кипения, фильтруют через складчатый фильтр, разливают в пробирки (обычно по 5 мл) и стерилизуют при 1 атм в течение 10 мин.

б) Из мясо-костной муки:

Вода питьевая . . . . .	1 л
Мука мясо-костная . . . . .	200 г
Дрожжевой автолизат . . . . .	100 »
Панкреатин . . . . .	3 »
или	
Поджелудочная железа (проверну-	
тая через мясорубку) . . . . .	25—30 »
Сода двууглекислая . . . . .	2 »
Хлороформ . . . . .	10 мг

Помещают в бутыл, смешивают, плотно укупорируют, выдерживают 3—4 дня в термостате при 37°C или 6—7 дней при комнатной температуре; ежедневно взбалтывают.

По истечении указанного срока смесь фильтруют через вату и марлю, остаток промывают 200 мл воды; фильтрат разливают в бутылки, стерилизуют при 1 атм в течение 20 мин., после чего сразу же фильтруют через бумажный складчатый фильтр, разливают по 200 мл в бутылочки и вторично стерилизуют; хранят до употребления.

33. Питательный бульон. Из полученного крепкого бульона в случае необходимости готовят питательный бульон по следующей рецептуре:

Вода питьевая . . . . .	1 л
Бульон крепкий . . . . .	200 мл
Соль поваренная . . . . .	0,5%

Устанавливают реакцию среды рН=7,2—7,4. Перед использованием бульон разливают в пробирки по 5 мл и стерилизуют при 1 атм в течение 10 мин.

34. Мясо-пептонный агар-агар (МПА)

В мясо-пептонный бульон добавляют 1,5—2% агар-агара, кипятят до расплавления, после чего добавляют 1% дрожжевого автолизата, перемешивают до растворения, фильтруют через вату, разливают в пробирки и стерилизуют: при употреблении бульона из мясного экстракта — при 1 атм в течение 20 мин., при употреблении бульона из мясо-костной муки — текучим паром в течение трех дней, по 20 мин. каждый день.

## 35. Мясо-пептонная желатина

Мясо-пептонный бульон . . . . .	1 л
Желатина пищевая . . . . .	100 г

Мясо-пептонный бульон с желатиной плавят в текучем пару 20—30 мин., устанавливают реакцию среды ( $pH=7,2-7,4$ ) и осветляют белком куриного яйца или кровяной сывороткой.

Примечание. В летнее время рекомендуется брать 150 г желатины на 1 л бульона.

## 36. Среда Кесслера (модифицированная)

Питьевая вода . . . . .	1 л
Пептон . . . . .	10 г
Бычья желчь свежая . . . . .	50 мл
Лактоза . . . . .	2,5 г
Генциан-виолет (1%-ный водный раствор) . . . . .	2 мл

Добавляют в воду пептон и бычью желчь, кипятят при помешивании 20—30 мин., фильтруют через вату, растворяют лактозу, доводят объем до 1 л, устанавливают реакцию среды ( $pH=7,4-7,6$ ), добавляют генциан-виолет, разливают в пробирки, стерилизуют при 1 атм в течение 15 мин.

## 37. Среда Краевской

Бычья желчь . . . . .	1 л
Пептон . . . . .	10 г
Лактоза . . . . .	10 г
Генциан-виолет (1%-ный водный раствор) . . . . .	4 мл

Чистую свежую желчь фильтруют через ватный фильтр, стерилизуют при 1 атм в течение 10 мин. и еще раз фильтруют через ватный фильтр. К фильтрату добавляют лактозу и пептон; смесь нагревают в текучем пару 10 мин., после чего добавляют генциан-виолет (4 мл на 1 л среды), разливают в пробирки и стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин.

## 38. Среда Эндо

Мясо-пептонный агар-агар ( $pH=7,6-7,8$ ) . . . . .	1 л
Лактоза . . . . .	10 г
Фуксин основной (насыщенный спиртовый раствор)	5 мл
Натрий сернистокислый (10%-ный водный раствор)	25 »

Раствор лактозы и сернистокислого натрия стерилизуют по отдельности в аппарате Коха при  $100^\circ$  в течение часа. Из фуксина и свежеприготовленного раствора сернистокислого натрия готовят отдельную смесь — она должна быть

прозрачной, бледно-розового цвета. Перед употреблением смесь постепенно приливают к лактозному агару (избегая вспенивания) и разливают в чашки Петри.

При изготовлении среды Эндо особенно строго соблюдают требования стерильности (посуда, вода), так как среда после ее приготовления не стерилизуется.

**Примечания:**

1. Для получения бледно-розового цвета допускается употреблять большее или меньшее количество раствора сернистокислго натрия в зависимости от его качества и качества фуксина.

2. Правильность соотношения фуксина и сернистокислго натрия в изготовленной среде Эндо может быть проверена следующим образом: кружок из фильтровальной бумаги (диаметром 2 см) смачивают раствором формалина (1,5%) и накладывают на приготовленную среду — при хорошем качестве среды вокруг кружка образуется красное кольцо с металлическим отливом.

### 39. Среда Симмонса

#### *А. Раствор Козера:*

Натр-аммоний фосфорнокислый . . . . .	1,5 г
Калий фосфорнокислый одноосновной . . . . .	1,0 »
Магний сернокислый . . . . .	0,2 »
Натрий лимоннокислый . . . . .	2,5—3,0 »
Вода дистиллированная . . . . .	1 л

#### *Б. Индикатор:*

Бромтимолблау (0,5%-ный спиртовый раствор) . . . . .	10 мл
---	-------

К раствору Козера (А) добавляют 2% агара, доводят реакцию среды  $pH=7,2-7,4$  и стерилизуют в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин. К незаствившей среде добавляют индикатор (Б), разливают в стерильные пробирки и устанавливают их после посева в наклонном положении.

### 40. Среда с лактозой

В 1%-ном растворе пептона ( $pH=7,2-7,4$ ) растворяют 0,25% лактозы и добавляют несколько капель индикатора Андреса, разливают в пробирки и стерилизуют в аппарате Коха при  $100^\circ$  по 20 мин. в течение трех дней или в автоклаве при 1 атм в течение 15 мин.

### 41. Индикатор Андреса

Фуксин кислый . . . . .	1 г
NaOH (нормальный раствор) . . . . .	32 мл
Вода дистиллированная . . . . .	100 »

Компоненты смешивают, настаивают при комнатной температуре три дня, после чего фильтруют и стерилизуют текущим паром по 30 мин. в течение трех дней.

#### 42. Сусл о в ы й а г а р

Свежее неохмеленное пивное сусло вдвое разводят водой, прибавляют 2% агара и расплавляют при 1 атм в течение 15 мин., фильтруют, разливают в пробирки и стерилизуют при 1 атм в течение 15 мин.

#### 43. Ц е л ь н о е м о л о к о

Свежее цельное молоко разливают высоким слоем в пробирки и стерилизуют при 1 атм в течение 15 мин.

#### 44. Г е н ц и а н - в и о л е т

1 г генциан-виолета растворяют в 10 мл 96%-ного этилового спирта, полученный раствор выливают в 100 мл 5%-ного раствора очищенной карболовой кислоты.

#### 45. Р а с т в о р Л ю г о л я

2 г йодистого калия растворяют в 5 мл воды, добавляют 1 г йода, после растворения йода добавляют 300 мл воды (раствор сохраняют в темном месте).

#### 46. Ф у к с и н (кислый)

*Основной раствор.* 1 г фуксина растирают в ступке с 10 мл 96%-ного этилового спирта, к полученной массе добавляют 5 г кристаллической карболовой кислоты, непрерывно растирая, постепенно прибавляют 100 мл воды.

*Рабочий раствор.* Перед употреблением часть основного раствора разбавляют в 5—10 раз дистиллированной водой.

#### 47. К р а с к а д л я п р е п а р а т о в

Спирт этиловый 96% . . . . . 300 мл

Метиленовая синь сухая . . . . . 30 г

Смесь метиленовой сини со спиртом ставят в термостат с температурой 30°C на 24 часа. К 100 мл водного раствора калиевой щелочи (0,01%) добавляют 30 мл приготовленной смеси.

Для получения водного раствора метиленовой сини к 5 мл спиртового раствора прибавляют 195 мл дистиллированной воды.

#### Замена

ГОСТ 317—52 введен взамен ГОСТ 317—41.

