

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).

СССР — Всесоюзный комитет стандартов при Совете Министров Союза ССР	ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ	ГОСТ 3630—47
	Молоко и молочные продукты МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ	Взамен ОСТ ВКС 7761 в части биоба- териологических методов испытания Группа Н19
<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>1. ОТБОР ПРОБ И ПОДГОТОВКА ИХ К ИССЛЕДОВАНИЮ</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°С 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) 5000000 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 см².

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 см², 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: в 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 приготавливают 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 бутылку, смешивают, плотно укупоривают, 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° 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 сернистоокислого натрия в зависимости от его качества и качества фуксина.

2. Правильность соотношения фуксина и сернистоокислого 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° 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.

