

## КОНСЕРВЫ

ГОСТ  
10444.1—84**Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов  
и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе**Взамен  
ГОСТ 10444.1—75Canned food. Preparation of reagent solutions, dyes, indicators  
and culture media for microbiological analysis

ОКСТУ 9109

Постановлением Государственного комитета СССР по стандартам от 17.01.84 дата введения установлена

с 01.07.85

Ограничение срока действия снято по протоколу № 4—93 Межгосударственного Совета по стандартизации, метрологии и сертификации (ИУС 4—94)

Настоящий стандарт распространяется на методы приготовления растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

## 1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1. Для приготовления растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред (если нет специальных указаний) применяют:

- воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;
- реактивы квалификации х. ч. и ч. д. а. по ГОСТ 13867—68;
- вспомогательные реактивы и растворы по ГОСТ 4517—87;
- растворы индикаторов по ГОСТ 4919.1—77.

1.2. Растворы реактивов, красок, индикаторов готовят, используя стеклянную, лабораторную, мерную посуду, вымеренную для слива, класса А; для приготовления питательных сред (если нет специальных указаний) используют стеклянную лабораторную мерную посуду, вымеренную для слива, класса Б.

1.3. Питательные среды готовят в эмалированной или стеклянной посуде. Новую стеклянную посуду, в том числе колбы, пробирки, пипетки, бактериологические чашки Петри, перед употреблением выдерживают в течение 12—24 ч в растворе соляной кислоты  $c(\text{HCl}) = 0,25—0,50$  моль/дм<sup>3</sup>, промывают водопроводной, а затем дистиллированной водой и автоклавируют при температуре  $(121 \pm 1)$  °С в течение 1 ч.

1.4. Если в технологии приготовления питательных сред не указаны условия растворения питательных сред или компонентов, то их растворяют при перемешивании в воде комнатной температуры до полного растворения не менее 15 мин и затем, при необходимости, нагревают до растворения среды или ее компонентов.

1.5. Необходимое значение рН питательных сред устанавливают с помощью раствора гидроксида натрия концентрации 100 г/дм<sup>3</sup> или раствора лимонной кислоты концентрации 200 г/дм<sup>3</sup>, или раствора соляной кислоты концентрации 36,5 г/дм<sup>3</sup>, по каплям прибавляя при перемешивании раствор к питательной среде и определяя значение рН в периодически отбираемой пробе потенциометрически или с помощью индикатора. Значение рН питательных сред при стерилизации может изменяться. При подщелачивании среды щелочью рН после кипячения и стерилизации снижается примерно на 0,2, а при приготовлении сред с настоем печени — на 0,3—0,4. Поэтому при приготовлении сред устанавливают рН на 0,2—0,4 выше заданного, кипятят, пока рН не понизится на

★

Издание с Изменением № 1, утвержденным  
в июле 1990 г. (ИУС 11—90)

## ГОСТ 10444.1—84

0,2—0,3, снова проверяют рН, исправляют, при необходимости, и стерилизуют в автоклаве. Обязательно проверяют рН после стерилизации.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

1.6. Питательные среды, если нет специальных указаний, стерилизуют по ГОСТ 26668—85.

1.7. Готовые питательные среды, хранят, если нет специальных указаний, при комнатной температуре не более 3 сут и при температуре около 4 °С не более одного месяца.

## 2. АППАРАТУРА

Для приготовления растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред применяются:

- автоклав для стерилизации питательных сред;
- стерилизатор паровой медицинский по ГОСТ 19569—89;
- пластины асбестовые фильтрующие и стерилизующие по ГОСТ 480—78;
- бана водяная с терморегулятором, позволяющая поддерживать температуру от 20 до 100 °С с отклонением до 1 °С от заданной;
- весы лабораторные по ГОСТ 24104—88\*;
- воронки для горячего фильтрования;
- воронки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
- гомогенизатор или смеситель лабораторный;
- горелка газовая или спиртовка по ГОСТ 25336—82;
- дистиллятор электрический марки Д № 9;
- капельницы;
- кастрюли разные;
- колбы плоскодонные конические или круглые разной вместимости по ГОСТ 25336—82;
- куветы разные для окрашивания препаратов;
- марля медицинская по ГОСТ 9412—93;
- мясорубка по ГОСТ 4025—95;
- ножи;
- ножницы;
- палочки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
- пинцеты по ГОСТ 21241—89;
- пипетки Мора;
- пипетки разной вместимости;
- плитка электрическая по ГОСТ 14919—83;
- рН-метр;
- пробирки разной вместимости по ГОСТ 25336—82;
- промывалка;
- рефрактометр;
- ареометр по ГОСТ 18481—81;
- сетки асбестовые;
- стекла часовые;
- ступки фарфоровые по ГОСТ 9147—80;
- термометры химические от 0 до 50 °С и от 50 до 100 °С по ГОСТ 28498—90;
- термостаты, позволяющие поддерживать температуру в пределах от 28 до 55 °С с отклонением до 0,5 °С от заданной;
- фильтры Зейтца;
- фильтры мембранные № 2;
- флаконы вместимостью 100—200 см<sup>3</sup>;
- холодильник по ГОСТ 16317—87;
- центрифуга, обеспечивающая частоту вращения 50 с<sup>-1</sup> (3000 об/мин);
- цилиндры разной вместимости по ГОСТ 1770—74;
- часы песочные ОСТ 25—11—38—84;
- чашки Петри бактериологические по ГОСТ 25336—82;
- шкаф сушильный;

\* С 01.07.2002 г. вводится в действие ГОСТ 24104—2001.

шпатели металлические;  
шпатели стеклянные;  
шприцы по ГОСТ 22967—90.

### 3. РЕАКТИВЫ, РАСТВОРЫ И МАТЕРИАЛЫ

Для приготовления растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред применяются:

агар микробиологический по ГОСТ 17206—96;  
агар сухой питательный;  
аммоний лимоннокислый;  
аммоний щавелевокислый 1-водный по ГОСТ 5712—78;  
ацетон по ГОСТ 2603—79;  
бром по ГОСТ 4109—79;  
бромкрезолпурпур;  
бромтимоловый синий;  
водорода пероксид по ГОСТ 10929—76;  
бумага фильтровальная по ГОСТ 12026—76;  
вата гигроскопическая медицинская по ГОСТ 5556—81;  
вода дистиллированная по ГОСТ 6709—72;  
глицин;  
глицерин по ГОСТ 6824—96;  
глюкоза по ГОСТ 6038—79;  
дрожжи хлебопекарные прессованные по ГОСТ 171—81;  
желатин пищевой по ГОСТ 11293—89;  
железоаммонийные квасцы;  
железо (II) сернокислое 7-водное по ГОСТ 4148—78;  
железо треххлористое 6-водное по ГОСТ 4147—74;  
инфузорная земля;  
йод по ГОСТ 4159—79;  
калий азотнокислый по ГОСТ 4217—77;  
калий двухромово-кислый по ГОСТ 4220—75;  
калий сернокислый по ГОСТ 4145—74;  
калий йодистый по ГОСТ 4232—74;  
калий углекислый по ГОСТ 10690—73;  
калия теллурит;  
калий фосфорнокислый однозамещенный по ГОСТ 4198—75 или двузамещенный 3-водный по ГОСТ 2493—75;  
кальций углекислый по ГОСТ 4530—76;  
капуста по ГОСТ 1724—85;  
картофель по ГОСТ 7176—85;  
кислота аскорбиновая;  
кислота лимонная пищевая по ГОСТ 908—79;  
кислота молочная пищевая по ГОСТ 490—79;  
кислота серная по ГОСТ 4204—77;  
кислота соляная по ГОСТ 3118—77;  
кислота уксусная по ГОСТ 61—75;  
крахмал растворимый по ГОСТ 10163—76;  
кристаллический фиолетовый;  
кровь кролика;  
кровь крупного рогатого скота, лошади или барана;  
лакмус или лакмоид;  
лактоза;  
литий хлористый 6-водный;  
маннит;

## ГОСТ 10444.1—84

масло вазелиновое медицинское по ГОСТ 3164—78;  
медь (II) серноокислая 5-водная по ГОСТ 4165—78;  
молоко коровье пастеризованное по ГОСТ 13277—79;  
мясо говядина по ГОСТ 779—55, мясо баранина по ГОСТ 1935—55;  
мясо-телятина по ГОСТ 779—55;  
мясо-конина по ГОСТ 27095—86;  
мука кукурузная по ГОСТ 14176—69;  
натрия гидроокись по ГОСТ 4328—77;  
натрий лимоннокислый трехзамещенный по ГОСТ 22280—76;  
натрия пируват;  
натрий сернистоокислый;  
натрий углекислый по ГОСТ 83—79;  
натрий фосфорнокислый двузамещенный по ГОСТ 11773—76 и однозамещенный 2-водный по ГОСТ 245—76;  
натрий уксуснокислый 3-х водный по ГОСТ 199—78;  
натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;  
натрия азид;  
1-нафтол;  
парадиметиламинобензальдегид;  
парафин по ГОСТ 23683—89;  
панкреатин (порошок, в 1 г — 25 ед.);  
поджелудочная железа убойного скота;  
пирогаллол;  
плазма крови кроличья или человеческая;  
пепсин;  
пептон сухой ферментативный для бактериологических целей по ГОСТ 13805—76;  
печень говяжья, телячья, кроличья, не содержащая ингибиторов, роста микроорганизмов;  
рыба треска или пикша, судак, щука по ГОСТ 814—96;  
сахароза по ГОСТ 5833—75;  
сафранин: О или Т;  
солод ячменный;  
соль закиси железа и аммония двойная серноокислая — соль Мора по ГОСТ 4208—72;  
спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962—67\*;  
спирт этиловый сырец по ГОСТ 131—67;  
сок томатный по ГОСТ 937—91;  
трипсин;  
триптон;  
триптический гидролизат казеина;  
триптофан;  
2, 3, 5-трифенилтетразолиум хлорид;  
уголь активный по ГОСТ 4453—74;  
фенолфталеин (индикатор);  
фуксин (основной и кислый);  
хлороформ по ГОСТ 20015—88;  
цистеина гидрохлорид;  
экстракт дрожжевой сухой;  
экстракт мясной;  
яйца куриные по ГОСТ 27583—88.

### **4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ РЕАКТИВОВ, КРАСОК, ИНДИКАТОРОВ И КОМПОНЕНТОВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

#### **4.1. Агар голодный**

2,0 г агара растворяют в 98 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

---

\* На территории Российской Федерации действует ГОСТ Р 51652—2000.

Применяют для наслаивания на посевы с целью предотвращения соприкосновения посевов с кислородом воздуха.

4.2. Взвесь (эмульсия) яично-желточная в физиологическом растворе.

Из яйца, протертого с поверхности спиртом с объемной долей 70 %, извлекают пипеткой желток и смешивают его со 100 см<sup>3</sup> физиологического раствора. Желточную эмульсию готовят аналогично, но берут два желтка и смешивают их с 10 см<sup>3</sup> физиологического раствора.

Добавляют к питательным средам для определения лецитиназной активности микроорганизмов.

Допускается яично-желточную эмульсию готовить следующим образом: свежие куриные яйца моют, ополаскивают холодной водой, опускают в раствор этилового спирта с объемной долей 70 % и высушивают. Соблюдая правила асептики, разбивают каждое яйцо в стерильную чашку Петри и отделяют желток от белка. Помещают желток в стерильную колбу или флакон с четырьмя объемами стерильной воды и энергично перемешивают. Нагревают смесь на водяной бане при температуре (45±1) °С в течение 2 ч, оставляют на 18—24 ч при температуре от 0 до плюс 5 °С для формирования осадка.

Соблюдая правила асептики, собирают эмульсию над осадком. Эмульсию хранят при температуре от 0 до плюс 5 °С не более 72 ч.

#### 4.3. Вода бромная

3—3,5 см<sup>3</sup> брома растворяют в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Приготавливают бромную воду в вытяжном шкафу. Хранят в темной склянке с притертой пробкой в защищенном от света месте.

Применяют в качестве индикатора при определении содержания триптофана в питательных средах. При наличии триптофана в присутствии 3—4 капель бромной воды жидкость принимает розово-фиолетовую окраску.

4.2, 4.3. (Измененная редакция, Изм. № 1).

#### 4.4. Вода пептонная

1 г пептона растворяют в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды, разливают по 10 см<sup>3</sup> в пробирки и по 100 см<sup>3</sup> в колбы. Затем стерилизуют 20 мин при температуре (121±1) °С.

#### 4.5. Глюкоза концентрации 5, 10, 100 и 200 г/дм<sup>3</sup>, водные растворы

0,5; 1; 10; 20 г глюкозы переносят, смывая стерильной дистиллированной водой, в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки. Разливают приготовленный раствор глюкозы в стерильные пробирки и стерилизуют при температуре (112±1) °С в течение 15 мин или при температуре (100±1) °С в течение 3 сут по 30 мин, или фильтрованием через мембранный фильтр.

Применяют в качестве источника углеводов в питательных средах и восстанавливающего вещества в питательных средах для анаэробных микроорганизмов.

#### 4.6. Индикатор Андреде

0,5 г кислого фуксина растворяют в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, прибавляют 16,4 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия с (NaOH) = 1 моль/дм<sup>3</sup> и стерилизуют при температуре (100±1) °С в течение 5 мин. Индикатор должен иметь соломенно-желтый цвет. Хранят во флаконе из темного стекла (с притертой пробкой).

Применяют для приготовления среды Гисса.

#### 4.7. Индикатор бромкрезолпурпур — щелочной раствор, готовят по ГОСТ 4919.1—77.

Применяют для определения кислотообразующей способности микроорганизмов.

#### 4.8. Индикатор бромтимоловый синий — щелочной раствор, готовят по ГОСТ 4919.1—77.

Применяют для контроля pH питательных сред.

#### 4.9. Кальций углекислый стерильный

Фасуют от 2 до 100 г углекислого кальция в пробирки колбы или флаконы и стерилизуют воздухом по ГОСТ 26668—85.

Добавляют к питательным средам, предназначенным для посева в них кислотных продуктов.

4.10. Раствор аскорбиновой кислоты концентрации 50 г/дм<sup>3</sup> готовят по ГОСТ 4517—87 и стерилизуют фильтрованием через мембранный фильтр № 2.

Применяют в качестве восстановителя, связывающего кислород в питательных средах для анаэробных микроорганизмов.

4.11. Раствор лимонной кислоты концентрации 200 г/дм<sup>3</sup>.

20 г лимонной кислоты переносят в мерную колбу, доводят водой объем до 100 см<sup>3</sup>, растворяют и разливают в пробирки или колбы, стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для подкисления питательных сред.

4.10, 4.11. **(Измененная редакция, Изм. № 1).**

#### **4.12. Кусочки мяса, фарша, мясная вода, мясной отвар**

Освобожденное от костей, жира, сухожилий мясо говядины или конины для приготовления мясного отвара режут на мелкие кусочки или для приготовления мясной воды пропускают через мясорубку, заливают водой из расчета 1 дм<sup>3</sup> воды на 500 г мяса и оставляют на ночь в холодильнике. На следующий день смесь мяса с водой медленно нагревают до кипения и кипятят до готовности, периодически помешивая и доливая воду до первоначального объема. Небольшое количество смеси (до 5 дм<sup>3</sup>) можно кипятить на открытом огне, часто помешивая, чтобы не произошло пригорания частичек мяса.

Большое количество лучше кипятить в котлах с паровой рубашкой. Для определения готовности смеси фильтруют сначала небольшое количество ее в пробирку через бумажный фильтр; если жидкость прозрачна, кипячение прекращают. Смесь вновь оставляют до следующего дня в холодильнике. рН охлажденной смеси доводят до 7,0—7,2, фильтруют через ткань, отжимая из кусочков мяса или фарша всю жидкость. Мясную воду или мясной отвар и кусочки мяса или фарша стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют в качестве компонентов питательных сред.

#### **4.13. Кусочки печени, печеночная вода, печеночные отвар и бульон**

Свежую печень освобождают от пленок и жира. Для приготовления печеночного отвара режут на кусочки массой 30—40 г, для приготовления печеночной воды пропускают через мясорубку. Печень заливают водой из расчета 1 дм<sup>3</sup> воды на 500 г печени, выдерживают при температуре от 4 до 8 °С в течение 2 ч и кипятят в течение 20 мин. После кипячения устанавливают рН 7,0—7,2 и вновь кипятят в течение 10 мин. Смесь процеживают через ткань, жидкость используют для приготовления воды, отвара или бульона. Устанавливают рН жидкости 7,0—7,2 и доводят объем жидкости до первоначального. Печеночные воду или отвар стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Для приготовления печеночного бульона к печеночной жидкости перед стерилизацией добавляют пептон из расчета 1 г на 100 см<sup>3</sup> жидкости и поваренную соль из расчета 0,5 г на 100 см<sup>3</sup> печеночной жидкости (контролируя рН 7,0—7,2), разливают во флаконы, колбы или пробирки и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Кусочки печени нарезают на более мелкие по 1,5—3 г, заливают раствором двууглекислого натрия и кипятят в течение 10—15 мин (не допуская бурного кипения). После этого кусочки печени промывают в дуршлаге под струей водопроводной воды в течение 1 ч и несколько раз дистиллированной водой. Кусочки печени: должны иметь рН 7,0—7,2; значение рН печени контролируют погружением кусочков в индикатор; бромтимоловый синий индикатор должен иметь сине-зеленую окраску. Кусочки печени фасуют в пробирки, колбы или флаконы и стерилизуют при (121±1) °С в течение 20 мин. Применяют в качестве компонентов питательных сред для анаэробных микроорганизмов.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

**4.14. Лакмус водно-спиртовой раствор (лакмусовая настойка),** готовят по ГОСТ 4919.1—77.

Добавляют в питательные среды для определения способности микроорганизмов к редукции лакмуса.

#### **4.15. Масло вазелиновое**

Масло разливают по 20—50 см<sup>3</sup> в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для наслаивания на жидкие питательные среды для анаэробных микроорганизмов.

#### **4.16. Молоко обезжиренное**

Молоко доводят до кипения, оставляют на сутки в холодильнике, освобождают от сливок, вторично доводят до кипения, вновь оставляют на 1 сут в холодильнике и вторично снимают верхний слой. Обезжиренное молоко может быть приготовлено путем сепарирования. Обезжиренное

молоко разливают в стерильную посуду и стерилизуют при температуре 100 °С в течение 3 сут по 30 мин или однократно при температуре (116±1) °С в течение 20 мин. После стерилизации молоко не должно принимать коричневый оттенок.

Обезжиренное молоко применяют в качестве компонента питательных сред.

**4.17. Раствор гидроокиси натрия концентрации 100 г/дм<sup>3</sup>** готовят по ГОСТ 4517—87.

Применяют для подщелачивания питательных сред.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

**4.18. Пептонно-солевой раствор,** готовят по ГОСТ 26669—85.

Применяют для приготовления разведений.

**4.19. Пирогаллол, щелочной раствор,** готовят по ГОСТ 4517—87.

Применяют для поглощения кислорода в емкостях, предназначенных для анаэробных микроорганизмов.

**4.20. Цитратная плазма крови**

5 см<sup>3</sup> свежеполученной крови, взятой из сердца кролика, помещают в центрифужную пробирку с 1 см<sup>3</sup> раствора лимоннокислого натрия концентрации 50 г/дм<sup>3</sup> (5 г лимоннокислого натрия переносят, смывая дистиллированной водой, в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доводят объем до метки). Центрифугируют при 3000 об/мин в течение 15 мин или оставляют на холоде. Плазму отделяют, разводят физиологическим раствором 1:4 и разливают в стерильные пробирки по 0,5 см<sup>3</sup>.

Плазма кролика может быть заменена человеческой. Не допускается использовать плазму крови человека, которому незадолго до взятия крови вводилась глюкоза.

Человеческая плазма не может быть использована, если исследуемая культура выращивалась в атмосфере углекислоты. В обоих случаях происходит угнетение реакции плазмокоагуляции. Допускается использовать сухую цитратную плазму кролика.

Применяют для определения коагуляционной способности микроорганизмов.

**4.21. Растворы для определения сульфитредуцирующей способности клостридий:** сернистокислый натрий — раствор концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>, сернокислое железо — раствор концентрации 4 г/дм<sup>3</sup>.

Оба раствора стерилизуют отдельно при температуре (115±1) °С в течение 30 мин.

Добавляют по 5 см<sup>3</sup> каждого раствора в 100 см<sup>3</sup> охлажденной, регенерированной питательной среды для клостридий непосредственно перед посевом.

**4.22. Раствор Люголя**

2 г йодистого калия растворяют в 5—10 см<sup>3</sup> воды в мерной колбе вместимостью 300 см<sup>3</sup>, добавляя 1 г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного растворения йода и после этого доводят водой объем раствора до метки.

Применяют для контроля степени осахаривания суслу.

**4.23. Раствор I-нафтола**

5 г I-нафтола, имеющего точку плавления 92,5 °С, вносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и доливают этиловым спиртом с объемной долей 96 % до метки.

Раствор применяют свежеприготовленным для контроля ацетилметилкарбинола.

**4.24. Раствор панкреатина**

4 г панкреатина растворяют в 100 см<sup>3</sup> физиологического раствора и оставляют при температуре (4±1) °С на 16—17 ч. Перед применением полученную жидкость фильтруют через плотный бумажный фильтр, а затем через стерилизующую пластинку фильтра Зейтца до получения прозрачной опалесцирующей жидкости. Готовый раствор панкреатина может сохраняться при температуре (4±1) °С в течение двух недель.

Полученный раствор в объеме 0,5 см<sup>3</sup> не должен убивать белую мышь массой 16—18 г при внутривенном введении. При подкожном введении морским свинкам 0,2 см<sup>3</sup> раствора обычно появляется некроз участка кожи размером 0,5-0,5 см.

Раствор применяют для активации протоксина возбудителей ботулизма.

**4.25. Растворы и реактивы для окраски по Граму**

**4.25.1. Основной красящий раствор по Хукеру**

2 г кристалл-виолета с массовой долей сухих веществ 85—90 % растворяют в 20 см<sup>3</sup> спирта;

0,8 г щавелевокислого аммония растворяют в 80 см<sup>3</sup> воды; растворы смешивают и выдерживают в течение 24 ч при комнатной температуре перед употреблением.

#### 4.25.2. Йодный раствор по Бурке

2 г йодистого калия растворяют в 5—10 см<sup>3</sup> воды в мерной колбе вместимостью 100 см<sup>3</sup>, добавляют 1 г кристаллического йода, оставляют на несколько часов до полного растворения йода и после этого доводят водой объем раствора до метки.

#### 4.25.3. Контрастный красящий раствор

0,25 г сафранина растворяют в 10 см<sup>3</sup> спирта и полученный раствор смешивают со 100 см<sup>3</sup> воды.

4.25.4. Допускается использовать: в качестве основного красящего раствора — водный раствор кристаллического фиолетового концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>; в качестве контрастного красящего раствора — водный раствор сафранина Т концентрации 5 г/дм<sup>3</sup> или спиртовой раствор основного фуксина концентрации 5 г/дм<sup>3</sup>.

Спиртовой раствор основного фуксина концентрации 5 г/дм<sup>3</sup> используют для выявления глобул в бациллярных клетках.

#### (Измененная редакция, Изм. № 1).

4.25.5. Для удаления закрепленного основного красящего раствора используют этиловый спирт (при окраске по Хукеру) и ацетон (при окраске водным раствором кристаллического фиолетового).

#### 4.26. Растворы и реактивы для окраски бактериальных спор

5 г малахитовой зелени растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды.

Отдельно 0,5 г сафранина растворяют в 100 см<sup>3</sup> воды.

#### 4.27. Раствор соляной кислоты концентрации 36,5 г/дм<sup>3</sup>

Концентрированная соляная кислота имеет плотность 1,18—1,19 г/см<sup>3</sup>.

При плотности концентрированной соляной кислоты 1,18 г/см<sup>3</sup> ее концентрация составляет 427,7 г/дм<sup>3</sup>, поэтому для приготовления 100 см<sup>3</sup> раствора концентрации 36,5 г/дм<sup>3</sup> отбирают 8,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и содержащую 50—70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, а затем раствор доливают до метки дистиллированной водой.

При плотности концентрированной соляной кислоты 1,19 г/см<sup>3</sup> ее концентрация составляет 455,8 г/дм<sup>3</sup>, поэтому для приготовления 100 см<sup>3</sup> раствора концентрации 36,5 г/дм<sup>3</sup> отбирают 8 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и содержащую 50—70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, а затем раствор доливают до метки дистиллированной водой.

Раствор применяют для подкисления питательных сред.

#### (Измененная редакция, Изм. № 1).

#### 4.28. Смесь реактивов для создания анаэробных условий

Смешивают 1 г пирогаллола, 1 г углекислого безводного калия и 5 г инфузورной земли и фасуют в бумажные пакеты.

Применяют для создания анаэробных условий.

#### 4.29. Физиологический раствор

0,85 г хлористого натрия растворяют в 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для приготовления растворов реактивов.

#### 4.30. Реактив йодокрахмальный, готовят по ГОСТ 4517—87. Бумагу не пропитывают.

Используют в виде раствора для контроля отсутствия нитритов в питательных средах.

#### 4.31. Парафиновая смесь

Растапливают равные количества парафина и вазелинового масла, смешивают и стерилизуют горячим воздухом при температуре (140±1) °С в течение 60 мин.

Применяют для наслаивания на жидкие питательные среды для анаэробных микроорганизмов.

#### 4.32. Дрожжевой экстракт

100 г пекарских прессованных дрожжей нарезают небольшими кусочками и заливают 500 см<sup>3</sup> воды, подобрав посуду для приготовления экстракта с учетом того, чтобы смесь занимала  $\frac{1}{5}$  вместимости. Смесь ставят в термостат (сушильный шкаф) при температуре от 58 до 60 °С на 2 сут и встряхивают 1—2 раза в сутки. Конец автолиза устанавливают по полному разжижению дрожжей. Экстракт должен иметь коричневый оттенок и приятный запах.



Добавляют в питательные среды как источник веществ, способствующих регенерации поврежденных микроорганизмов.

#### **4.33. Раствор с объемной долей перекиси водорода 3 %**

10 см<sup>3</sup> пироксида водорода с содержанием основного вещества 30 % (в случае, если пироксид водорода имеет другое содержание основного вещества, то делается пересчет) переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят объем дистиллированной водой до метки.

Раствор применяют для определения каталазной активности.

**(Введен дополнительно, Изм. № 1).**

## **5. ПРИГОТОВЛЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД**

### **5.1. Агар Байрд-Паркер**

Основа среды: в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды вносят 10 г триптона или пептона, 17,9 г хлористого лития 6-водного, 5 г мясного экстракта и 5 см<sup>3</sup> дрожжевого экстракта.

При отсутствии мясного экстракта вместо дистиллированной воды и мясного экстракта используют 1 дм<sup>3</sup> мясной воды или бульона Хоттингера или 1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона.

При использовании мясо-пептонного бульона триптон или пептон в среду не вносят.

Все компоненты, внесенные в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды (мясо-пептонного бульона или бульона Хоттингера), нагревают, помешивая до полного их растворения, охлаждают до 50—60 °С. Устанавливают рН 6,8—7,0, разливают в колбы по 90 см<sup>3</sup> и стерилизуют при (121±1) °С в течение 20 мин. К 90 см<sup>3</sup> основы среды добавляют асептически 5 см<sup>3</sup> желточной эмульсии и стерилизованные фильтрованием через мембранный фильтр растворы: 6,3 см<sup>3</sup> раствора глицина концентрации 200 г/дм<sup>3</sup>, 5 см<sup>3</sup> раствора пирувата натрия концентрации 200 г/дм<sup>3</sup> и 1 см<sup>3</sup> раствора теллуриата калия концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>.

После тщательного перемешивания приготовленную среду разливают в чашки Петри. Чашки со средой можно хранить не более 48 ч.

Применяют для культивирования стафилококков.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

### **5.2. Желточный агар с ТТХ**

К 500 см<sup>3</sup> стерильного мясо-пептонного агара, расплавленного и затем охлажденного до температуры 45°, прибавляют 20 см<sup>3</sup> желточной эмульсии и 25 мг 2, 3, 5-трифенилтетразолиум хлорида. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри, хранят в холодильнике не более 10 сут.

Применяют для культивирования *Vac. cereus*.

### **5.3. Капустный агар**

200 г размельченной свежей капусты добавляют в 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды, смесь доводят до кипения, кипятят в течение 10—14 мин. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр. Полученный фильтрат разводят водой в два раза, добавляют к нему 20 г глюкозы, 10 г пептона, 10 г углекислого кальция расплавляют в нем при нагревании 15—20 г агара. Устанавливают рН среды 7,0—7,4, разливают в стерильные колбы. Стерилизуют 20 мин при температуре (121±1) °С.

### **5.4. Молочно-солевой агар**

Непосредственно перед посевом к 1 дм<sup>3</sup> расплавленного и охлажденного до температуры 60—70 °С мясо-пептонного агара, содержащего 65 г хлористого натрия, добавляют 100 см<sup>3</sup> стерильного обезжиренного молока. Устанавливают рН (7,4±0,1), тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри.

Применяют для культивирования стафилококков.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

### **5.5. Печеночный агар**

К 500 см<sup>3</sup> печеночной воды доливают 500 см<sup>3</sup> водопроводной воды, добавляют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия и 20—30 г агара. Среду кипятят на слабом огне до растворения агара, устанавливают рН 6,8—7,0, разливают в пробирки или флаконы и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов.

### **5.6. Сахарный кровяной агар по Цейсслеру**

К 100 см<sup>3</sup> расплавленного и охлажденного до температуры 50 °С мясо-пептонного агара добав-

ляют 10 см<sup>3</sup> раствора глюкозы концентрации 200 г/дм<sup>3</sup> и 15—20 см<sup>3</sup> свежевзятой стерильной дефибрированной крови крупного рогатого скота, лошадей, овец. Смесь осторожно взбалтывают, избегая образования пены и пузырей и разливают по чашкам Петри, среду подсушивают по ГОСТ 26670—91 и хранят не более 2 сут при температуре (4±1) °С. Среда должна иметь рН 7,2—7,4.

Применяют для определения гемолитической активности микроорганизмов.

#### **5.7. Яично-желточно-азидный агар**

10 г пептона, 3 г хлористого натрия, 0,2 г двузамещенного фосфорнокислого натрия, 15 г агара, 5,5 г мясного экстракта растворяют при подогревании в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды. При отсутствии мясного экстракта используют мясную воду. В этом случае все компоненты растворяют в 1 дм<sup>3</sup> мясной воды. Устанавливают рН среды (7,6±0,1), стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 30 мин, охлаждают до температуры 50—60 °С, добавляют 0,15 г азиды натрия, смешивают, вновь стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 30 мин, охлаждают до температуры 50 °С, добавляют 150 см<sup>3</sup> яично-желточной взвеси, смешивают и разливают по 15 см<sup>3</sup> в чашки Петри.

Применяют для культивирования стафилококков.

#### **5.8. Яично-желточно-солевой агар**

1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного агара перед анализом расплавляют и растворяют в нем 95 г хлористого натрия, охлаждают до температуры (45±1) °С и добавляют 100 см<sup>3</sup> яично-желточной взвеси. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри. Чашки хранят в холодильнике не более 5 сут.

Применяют для культивирования стафилококков.

5.7; 5.8. (Измененная редакция, Изм. № 1).

#### **5.9. Глюкозо-триптонный (агар) бульон**

К 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды добавляют 5 г триптона, 2,5 г дрожжевого экстракта или 12,5 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта и при приготовлении плотных сред 12—15 г агара кипятят до полного растворения, фильтруют, охлаждают до температуры 50—60 °С, доводят рН до (7,0±0,1), добавляют 1 г глюкозы и в среду для термофилов 0,04 г бромкрезолпурпура, фасуют в колбы (плотную среду) или в пробирки (жидкую среду) и стерилизуют в автоклаве при температуре (121±1) °С в течение 15 мин.

Применяют для культивирования мезофильных и кислотообразующих термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.10. Картофельно-пептонный (агар) бульон**

200 г очищенного и нарезанного кусочками картофеля заливают 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды, кипятят 15—20 мин, не допуская разваривания клубней, фильтруют через ватно-марлевый фильтр и доводят объем фильтрата до первоначального. В фильтрате растворяют 5 г пептона, 5 г хлористого натрия и расплавляют при нагревании 15—20 г агара. Устанавливают рН 7,0—7,2. Разливают в колбы и пробирки и стерилизуют при температуре (125±1) °С в течение 30 мин. Рекомендуется контролировать стерильность среды, термостатируя ее при (55±1) °С в течение 48 ч.

Применяют для культивирования термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.11. Кислый протеозо-пептонный (агар) бульон**

5 г пептона, 500 мкг триптофана, 5 г глюкозы, 4 г двузамещенного фосфорнокислого калия растворяют при подогревании в 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и добавляют 135 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта. Устанавливают рН среды (5,0±0,1). Смесь разливают в колбы по 50 см<sup>3</sup>. В отдельную колбу к 500 см<sup>3</sup> дистиллированной воды добавляют 20 г агара и нагревают при (100±1) °С до его растворения. Оба раствора стерилизуют 20 мин при температуре (121±1) °С. Перед посевом агар расплавляют, охлаждают до (50±1) °С, смешивают с таким же объемом среды и заливают посевами на чашках.

Применяют для культивирования термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.12. Мясо-пептонный (агар) бульон**

10 г пептона и 5 г хлористого натрия добавляют к 1 дм<sup>3</sup> мясной воды. Устанавливают рН 7,0—7,2, кипятят, фильтруют через бумажный фильтр. Стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. При выпадении осадка в мясо-пептонном бульоне его вторично фильтруют с последующей стерилизацией.

Для приготовления мясо-пептонного агара в 1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона перед стерилизацией добавляют 15—20 г агара и кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного

растворения агара. Устанавливают рН 7,0—7,2, разливают в пробирки или флаконы и стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20 мин.

Применяют для культивирования мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.13. Мясо-пептонный (агар) бульон с глюкозой**

К 1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона (агара) перед стерилизацией добавляют 1 г или 10 г глюкозы, устанавливают рН 7,0—7,2 и стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20 мин.

Применяют для культивирования мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и для определения общего количества микроорганизмов подсчетом на чашках Петри.

#### **5.14. Мясо-пептонный (агар) бульон с глюкозой и дрожжевым экстрактом**

К 1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного (агара) бульона с глюкозой добавляют асептически 2 г дрожжевого экстракта или 10 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта.

Применяют для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.15. Мясо-пептонный бульон с растворимым крахмалом**

10 г крахмала добавляют в небольшую порцию воды и при помешивании вносят в кипящую дистиллированную воду, получая 100 см<sup>3</sup> крахмального раствора. Полученный раствор смешивают с 900 см<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона, содержащего триптофан (положительная качественная реакция на триптофан) и стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20 мин. Среда должна иметь рН  $(7,1 \pm 0,1)$ .

Применяют для культивирования кислотообразующих термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### **5.16. Мясо-пептонный бульон с углекислым кальцием**

В пробирки разливают по 5—6 см<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона с раствором глюкозы концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>, добавляют 0,1 г стерильного углекислого кальция. Во флаконы со 100 см<sup>3</sup> среды добавляют 2 г углекислого кальция и стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20 мин.

Применяют для культивирования мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов при анализе кислотных консервированных продуктов.

#### **5.17. Мясо-пептонный бульон с нитратами**

К 100 см<sup>3</sup> мясо-пептонного бульона, свободного от нитритов (проверяют йодкрахмальным реактивом по п. 4.30, при наличии нитритов появляется слабо-розовое окрашивание), добавляют 0,2 г свободной от нитритов калийной селитры. Разливают среду по 5 см<sup>3</sup> в пробирки, промытые дистиллированной водой не менее пяти раз.

При анализе на выявление анаэробных микроорганизмов в среду вводят 1,5 г агара, растворяют его при нагревании, среду разливают в пробирки по 10 см<sup>3</sup>. Стерилизацию проводят 15 мин при  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

Применяют для определения нитратредуцирующей способности микроорганизмов.

#### **5.18. Рыбо-пептонный бульон**

Рыбу, освобожденную от костей и жира, пропускают через мясорубку и заливают холодной водопроводной водой из расчета 1 дм<sup>3</sup> воды на 500 г рыбы. Смесь фарша с водой медленно нагревают до кипения и кипятят в течение 1,5 ч. Небольшое количество (до 5 дм<sup>3</sup>) можно кипятить на открытом огне, часто помешивая, чтобы не произошло пригорания частичек рыбы. Большое количество лучше кипятить в котлах с паровой рубашкой. Для определения готовности рыбной воды сначала фильтруют небольшое количество ее в пробирку через бумажный фильтр. Если жидкость прозрачная, рыбная вода готова. Затем жидкость отцеживают через полотно, сюда же отжимают весь сок из вареной рыбы, добавляют кипяченой воды до первоначального объема и разливают.

Для приготовления рыбо-пептонного бульона к 1 дм<sup>3</sup> полученной рыбной воды добавляют 10 г пептона, 5 г хлористого натрия. Устанавливают рН 7,0—7,2. Стерилизуют при  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  20 мин.

#### **5.19. Рыбо-пептонный бульон с глюкозой**

К 1 дм<sup>3</sup> рыбо-пептонного бульона перед стерилизацией добавляют 10 г глюкозы. Стерилизуют при температуре  $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20 мин.

#### **5.20. Бульон Хоттингера и среды, его содержащие**

5.20.1. Для приготовления основного раствора Хоттингера в 1 дм<sup>3</sup> кипящей воды на 20 мин опускают 1 кг мяса, нарезанного мелкими кусочками, затем мясо вынимают, измельчают на мясорубке и снова кладут в тот же отвар. Добавляют 30—40 г измельченной поджелудочной железы

(вместо поджелудочной железы можно брать 3—5 г панкреатина) и 20 см<sup>3</sup> хлороформа. Бутылки плотно закрывают пробкой и энергично встряхивают (пробку надо придерживать), ставят в термостат при температуре 37 °С на 3—4 ч. Мясо в виде мелкозернистой массы осаждается на дно бутылки. Жидкость над мясом должна быть прозрачной. Жидкость сливают, фильтруют и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Готовый раствор должен давать положительную реакцию на триптофан (розовое окрашивание при прибавлении двух капель бромной воды в пробирку с пробой).

5.20.2. Для приготовления бульона Хоттингера смешивают 200 см<sup>3</sup> основного раствора Хоттингера, 400 см<sup>3</sup> мясного отвара и 400 см<sup>3</sup> воды, добавляют 5 г хлористого натрия, 0,2 г фосфорнокислого двузамещенного натрия или фосфорнокислого двузамещенного калия, кипятят 10 мин и устанавливают рН (7,6±0,1). Бульон Хоттингера разливают высоким столбиком по пробиркам или флаконам, на дно которых кладут кусочки вареного мяса или фарша, наслаивают стерильное вазелиновое масло высотой около 2,0 см и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

5.20.3. Для приготовления плотной среды Хоттингера с триптоном, глюкозой и дрожжевым экстрактом в 1 дм<sup>3</sup> бульона Хоттингера вносят 0,5 г дрожжевого экстракта или 2,5 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 5 г глюкозы, 5 г триптона, 15—20 г агара, устанавливают рН среды (7,1±0,1) и стерилизуют ее при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Перед употреблением в расплавленную стерильную среду асептически вносят 0,6 г аскорбиновой кислоты.

5.20.4. Плотную среду Хоттингера с глюкозой и дрожжевым экстрактом готовят по п. 5.19.3, но без триптона и аскорбиновой кислоты.

5.20.5. Бульон Хоттингера и плотную среду Хоттингера с триптоном, глюкозой и дрожжевым экстрактом применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов; плотную среду Хоттингера с глюкозой и дрожжевым экстрактом — для культивирования мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.

#### 5.21. Бульон (агар) V<sub>1</sub> с печенью

2 кг говядины, очищенной от жира, сухожилий и пленок и пропущенной через мясорубку, смешивают с 500 г фарша из печени и 9 дм<sup>3</sup> воды в эмалированной посуде. Нагревают до температуры 50 °С и прибавляют 100 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты концентрации 42,7 г/дм<sup>3</sup> (для приготовления 100 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты концентрации 42,7 г/дм<sup>3</sup> в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают 50—70 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, затем прибавляют 10 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты с плотностью  $\rho = 1,18$  г/см<sup>3</sup>, раствор доливают до метки дистиллированной водой. При использовании концентрированной соляной кислоты с другой плотностью делают пересчет на требуемую концентрацию 42,7 г/дм<sup>3</sup>).

Количество пепсина, прибавляемого к смеси мяса, печени и воды определяется его титром, но прибавляют его на 50 % больше, чем подсчитано. Например, при титре пепсина 1:10 для расщепления 2,5 кг белка требуется 0,25 г пепсина: в действительности же его прибавляют 0,375 г.

Пепсин оставляют действовать на смесь в течение 20 ч при температуре 50 °С в водяной бане. После 20 ч воздействия пепсина на смесь она должна давать положительную биуретовую реакцию и реакцию на триптофан.

Биуретовую реакцию проверяют с 5 см<sup>3</sup> надосадочного слоя расщепленной смеси, в которую вносят для небольшого подщелачивания 1—2 капли раствора гидроокиси натрия концентрации 2 г/дм<sup>3</sup> и прибавляют несколько капель раствора сернокислой (окисной) меди концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>.

При положительной реакции образуется фиолетовая окраска. Реакцию на триптофан устанавливают с бромной водой (п. 5.20.1).

Расщепление прекращают нагреванием до температуры 85 °С. Фарш отделяют от смеси процеживанием через ткань. Добавлением гидроокиси натрия устанавливают рН (5,6±0,1). Смесь кипятят 5 мин. После охлаждения фильтруют через фильтровальную бумагу. Добавлением гидроокиси натрия устанавливают рН (7,4±0,1). Измеряют объем отвара и прибавляют к нему пептон из расчета 1,5 г на 100 см<sup>3</sup> отвара и, если нужно, агар из расчета 1,5—2 г на 100 см<sup>3</sup> отвара.

После растворения пептона и агара (при подогревании) вновь устанавливают рН (7,4±0,1). Бульон или агар разливают в колбы и стерилизуют при температуре (127±1) °С в течение 20 мин.

Для приготовления бульона с печенью кусочки вареной печени массой около 1—1,5 г вносят в пробирки и заливают бульоном до высоты 10—15 см. Стерилизуют при температуре (127±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для мезофильных анаэробных микроорганизмов.

#### **5.22. Дифференциальная улучшенная клостридиальная среда (жидкая, вязкая или плотная)**

В 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды вносят 10 г мясного экстракта (допускается заменять дистиллированную воду и мясной экстракт 800 см<sup>3</sup> мясной воды), 10 г пептона, 1,5 г дрожжевого экстракта или 7,5 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 5 г уксуснокислого натрия. Отдельно 1 г растворимого крахмала вносят в небольшую порцию воды и при непрерывном помешивании переносят в кипящую воду, доводя объем до 200 см<sup>3</sup> и получая крахмальный клейстер. Полученный клейстер смешивают с 800 см<sup>3</sup> смеси, содержащей остальные компоненты, и кипятят на водяной бане в течение 30 мин. После кипячения к раствору добавляют 1 г глюкозы и 0,5 г цистеин гидрохлорида и доводят рН раствора до 7,1—7,2. Горячий раствор фильтруют через бумажный фильтр. Для приготовления вязкой среды в раствор добавляют 2 г агара на 1 дм<sup>3</sup> среды, для приготовления плотной среды — 15—20 г агара на 1 дм<sup>3</sup> среды. Среда стерилизуют в автоклаве при температуре (121±1) °С в течение 15 мин.

Растворы сульфита натрия Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> · 7H<sub>2</sub>O концентрации 40 г/дм<sup>3</sup> и цитрата железа FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub> · 5H<sub>2</sub>O с массовой концентрацией 70 г/дм<sup>3</sup> (при приготовлении последнего раствор нагревают в течение 5 мин) стерилизуют фильтрованием и хранят отдельно при температуре 3—5 °С в полностью заполненных флаконах в течение не более 14 сут. Перед использованием основную среду регенерируют и охлаждают. Растворы, сульфита натрия и цитрата железа смешивают в равных объемах и асептически добавляют в охлажденную среду из расчета 0,5 см<sup>3</sup> смеси на 25 см<sup>3</sup> основной среды.

Применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов.

5.21, 5.22. (Измененная редакция, Изм. № 1).

#### **5.23. Лакмусовое молоко**

К стерильному молоку добавляют лакмусовую настойку до получения сиреневатого окрашивания (на 100 см<sup>3</sup> молока примерно 1 см<sup>3</sup> лакмусовой настойки). Лакмусовое молоко разливают по стерильным пробиркам высоким столбиком, кипятят на водяной бане в течение 15—20 мин и охлаждают для посева до температуры 45 °С.

Применяют для мезофильных клостридий при анализе молочных консервов и при культивировании *C. perfringens*.

#### **5.24. Пептонная среда с глюкозой (глюкозо-пептонный бульон)**

5 г глюкозы, 5 г пептона, 5 г фосфорнокислого однозамещенного калия вносят в 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды, нагревают до растворения всех ингредиентов, устанавливают рН 7,0—7,2 и разливают в пробирки по 5 см<sup>3</sup>. Стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 15 мин.

Применяют для культивирования микроорганизмов и определения их способности образовывать ацетилметилкарбинол.

#### **5.25. Печеночно-глицериновая среда**

К 1 дм<sup>3</sup> печеночного бульона добавляют 5 г глицерина, 5 г глюкозы, разливают в пробирки или флаконы с кусочками печени (20—30 г печени на 100 см<sup>3</sup> среды), устанавливают рН (7,0±0,1) и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов.

#### **5.26. Плотная среда Бликфельдта**

В 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды растворяют 10 г лактозы, 10 г глюкозы, 5 г пептона, кипятят и фильтруют через бумажный фильтр. К фильтрату добавляют 40 г дрожжевого экстракта или 200 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 5 г углекислого кальция, растертого в ступке непосредственно перед употреблением, доводят рН до (7,3±0,1) и добавляют 15—20 г агара. Среда разливают в стерильные колбы, затем стерилизуют в автоклаве при температуре (117±1) °С не более 20 мин.

Применяют для культивирования молочнокислых бактерий.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

#### **5.27. Жидкая среда Бликфельдта**

В 800 см<sup>3</sup> дистиллированной воды растворяют 10 г лактозы, 10 г глюкозы, 5 г пептона, кипятят и фильтруют через бумажный фильтр. К фильтрату добавляют 4 г дрожжевого экстракта или 20 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 10 см<sup>3</sup> раствора бромкрезолпурпура, устанавливают рН (7,3±0,1), разливают в стерильную посуду и стерилизуют при температуре (117±1) °С не более 20 мин.

Применяют для культивирования молочнокислых бактерий.

**5.28. Среда Вильсона-Блера, измененная для анаэробов**

Раствор железоаммонийных квасцов концентрации  $50 \text{ г/дм}^3$  и раствор сернистокислового натрия с массовой концентрацией  $200 \text{ г/дм}^3$  готовят на стерильной дистиллированной воде *extempore*. Раствор сернистокислового натрия стерилизуют текучим паром в течение 1 ч. К  $100 \text{ см}^3$  расплавленного и охлажденного до температуры  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  мясо-пептонного агара концентрации глюкозы  $10 \text{ г/дм}^3$  добавляют  $10 \text{ см}^3$  раствора сернистокислового натрия и  $1 \text{ см}^3$  раствора железоаммонийных квасцов. Устанавливают рН  $7,5\text{—}7,8$ . Среду разливают по чашкам Петри и чашки подсушивают в термостате по ГОСТ 26670—91.

Применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов и определения их сульфитредуцирующей способности.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

**5.29. Среда Гисса**

$10 \text{ г}$  пептона и  $5 \text{ г}$  хлористого натрия растворяют в  $1 \text{ дм}^3$  дистиллированной воды при нагревании, фильтруют через бумажный фильтр так, чтобы раствор был прозрачным, прибавляют  $10 \text{ г}$  углевода (глюкозы, лактозы, мальтозы, маннита или сахарозы) в зависимости от выявляемой микрофлоры.

Устанавливают рН  $7,0\text{—}7,2$ , прибавляют  $10 \text{ см}^3$  раствора индикатора Андресе (п. 4.6). При анализе для выявления аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов среду разливают по  $5 \text{ см}^3$  в стерильные пробирки с поплавками. Стерилизуют 20 мин при температуре  $(112\pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ . Среда должна быть бесцветной или соломенно-желтого цвета без розового оттенка.

При выявлении анаэробных микроорганизмов в среду добавляют  $1,5 \text{ г}$  агара, расплавляют при нагревании и разливают в пробирки по  $12\text{—}13 \text{ см}^3$ .

Применяют для определения сахаролитической способности микроорганизмов.

**5.30. Среда из вареного мяса (Cooked-Meat Medium)**

$500 \text{ г}$  свежего, освобожденного от костей, жира и сухожилий мяса или сердца крупного рогатого скота помещают в  $500 \text{ см}^3$  кипящей дистиллированной воды, содержащей  $1,5 \text{ см}^3$  раствора  $c(\text{NaOH}) = 1 \text{ моль/дм}^3$  и кипятят в течение 20 мин; в конце кипячения в смесь добавляют молочную кислоту в количестве, необходимом для доведения рН смеси до  $(7,0\pm 0,1)$ . Горячую жидкость фильтруют через ватно-марлевый фильтр, к отфильтрованной жидкости добавляют пептон в количестве  $0,5 \text{ г}$  пептона на  $100 \text{ см}^3$  жидкости и хлористый натрий в количестве  $0,25 \text{ г}$  хлористого натрия на  $100 \text{ см}^3$  жидкости. Полученную жидкость вновь кипятят в течение 20 мин, добавляют в нее  $1 \text{ см}^3$  соляной кислоты и фильтруют. Доводят рН фильтрата до  $(8,2\pm 0,1)$  и кипятят его в течение 3 мин.

После кипячения устанавливают рН  $7,7\text{—}7,8$ . Кусочки мяса фасуют в пробирки до  $2,5 \text{ г}$  и заливают  $10 \text{ см}^3$  вышеприготовленной жидкости. Стерилизуют при температуре  $(121\pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 20 мин. После стерилизации среда должна иметь рН  $7,4\text{—}7,5$ . Для выделения *C. botulinum* и сахаролитических анаэробных микроорганизмов в среду добавляют раствор глюкозы из расчета содержания ее в среде  $0,5\text{—}1,0 \%$ . На поверхность среды наслаивают голодный агар, вазелиновое масло или парафиновую смесь.

Применяют для культивирования анаэробных микроорганизмов.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

**5.31. Среда из сухого питательного агара**

$50 \text{ г}$  порошка сухого питательного агара высыпают в  $1 \text{ дм}^3$  холодной водопроводной воды, тщательно перемешивают и кипятят на слабом огне  $1\text{—}2$  мин при помешивании до полного расплавления агара, не допуская пригорания в закрытом сосуде. Устанавливают рН среды  $7,0\text{—}7,2$ . Расплавленный раствор фильтруют через вату, разливают в пробирки, флаконы или колбы и стерилизуют 20 мин при температуре  $(121\pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ .

**5.32. Среда из сухого питательного агара с глюкозой**

В  $975 \text{ см}^3$  среды из сухого питательного агара непосредственно перед применением асептически добавляют  $25 \text{ см}^3$  стерильного раствора глюкозы концентрации  $200 \text{ г/дм}^3$ .

**5.33. Среда из томатного сока**

К  $700 \text{ см}^3$  воды добавляют  $300 \text{ см}^3$  томатного сока,  $2 \text{ г}$  дрожжевого экстракта или  $10 \text{ см}^3$  раствора дрожжевого экстракта,  $10 \text{ г}$  глюкозы, доводят рН  $5,5\text{—}5,6$ , фильтруют, разливают по  $100 \text{ см}^3$  в стерильные колбы и стерилизуют в автоклаве при температуре  $(117\pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 20 мин. Отдельно в  $500 \text{ см}^3$  дистиллированной воды растворяют при нагревании  $20 \text{ г}$  агара, разливают по  $100 \text{ см}^3$  в колбы и стерилизуют в автоклаве при температуре  $(121\pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 20 мин. Перед

посевом в асептических условиях смешивают 100 см<sup>3</sup> жидкой среды со 100 см<sup>3</sup> расплавленного агара. Агаризованную среду вносят в чашки, содержащие 0,25 г стерильного углекислого кальция.

Применяют для культивирования молочнокислых бактерий.

#### **5.34. Среда Китт-Тароцци**

Для приготовления среды Китт-Тароцци стерильные пробирки заполняют на 1,0—1,5 см кусочками печени, мяса или рыбы и заливают приготовленным мясо-пептонным бульоном с глюкозой и агаром. В 1 дм<sup>3</sup> мясо-пептонного, рыбо-пептонного или печеночного бульона вносят 10 г глюкозы и 1,5 г агара, который при нагревании постепенно расплавляют (высота слоя бульона в обычных пробирках 12—13 см, в высоких 15—18 см) и стерилизуют 20 мин при температуре  $(121 \pm 1)$  °С. Требуемую величину рН проверяют до и после стерилизации. рН среды после стерилизации должно быть  $(7,1 \pm 0,1)$ .

При приготовлении среды впрок вместо добавления к ней агара на поверхность среды перед стерилизацией в пробирки наслаивают 0,5—1,0 см вазелинового масла.

При применении среды Китт-Тароцци без добавления в нее агара или вазелинового масла на поверхность среды после окончания посева наслаивают голодный агар или парафиновую смесь высотой 1,0—1,5 см.

При посевах в свежеприготовленную среду Китт-Тароцци (не более 3 сут с момента приготовления) добавлять агар, вазелиновое масло или наслаивать на ее поверхность голодный агар не обязательно.

Применяют для культивирования мезофильных и термофильных анаэробных микроорганизмов.

#### **5.35. Среда Китт-Тароцци с углекислым кальцием**

В пробирки или флаконы, предназначенные для среды Тароцци, добавляют на дно щепотку углекислого кальция, стерилизуют горячим воздухом по ГОСТ 26668—85, закладывают в них кусочки мяса или печени и заливают мясо-пептонным бульоном с глюкозой, приготавливая среду Тароцци по вышеописанной технологии.

Применяют для анаэробных микроорганизмов, для посева кислотных консервированных продуктов.

#### **5.36. Среда Китт-Тароцци с углекислым кальцием, дрожжевым экстрактом и аскорбиновой кислотой**

Готовят среду Китт-Тароцци с углекислым кальцием, но в мясо-пептонный бульон перед фасовкой вносят 2 г дрожжевого экстракта или 10 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта. Перед анализом в регенерированную среду Китт-Тароцци с углекислым кальцием и дрожжевым экстрактом асептически вносят аскорбиновую кислоту из расчета 100 мкг на 1 дм<sup>3</sup> среды.

Применяют для мезофильных и термофильных анаэробных микроорганизмов.

Для внесения аскорбиновой кислоты в среду раствор, приготовленный по п. 4.10, разводят в стерильной дистиллированной воде в 100 раз и 0,2 см<sup>3</sup> приготовленного раствора вносят на 1 дм<sup>3</sup> среды.

**(Измененная редакция, Изм. № 1).**

#### **5.37. Среда Мак-Кланг и Мак-Кой (модифицированная)**

В 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды добавляют 20 г порошкообразной печени, при отсутствии сухой порошкообразной печени применяют печеночную воду — 1 дм<sup>3</sup>, но в этом случае водопроводная вода из среды исключается, 50 г кукурузной муки (белой или желтой), все хорошо размешивают, чтобы не было комков. Нагревают в течение 1 ч в текучем паре до полного растворения всех компонентов. Устанавливают рН 7,0—7,2, разливают и стерилизуют 1 ч при  $(121 \pm 1)$  °С.

Применяют для выявления мезофильных анаэробных и микроорганизмов при анализе консервов с рН 4,4 и ниже.

#### **5.38. Пептонная среда с триптофаном**

10 г пептона растворяют в небольшом количестве водопроводной воды, добавляют 5 г растворимого крахмала, предварительно растворенного в 50 см<sup>3</sup> воды, и доводят объем водопроводной водой до 1 дм<sup>3</sup>, устанавливают рН 6,7—6,8. Фильтруют через бумажный фильтр, добавляют 500 мкг триптофана, 5 г глюкозы, 20 г агара, нагревают до полного растворения агара и добавляют индикатор бромкрезол-пурпур и бромтимоловый синий (пп. 4.7, 4.8). Разливают в стерильную посуду и стерилизуют 20 мин при температуре  $(116 \pm 1)$  °С.

#### **5.39. Среда Роберта**

В 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды вносят 2 г азотнокислого калия, 2 г двузамещенного фосфорнокислого калия, 1 г агара, 30 г желатина, дают набухнуть желатину и нагревают на водяной бане до полного растворения желатина и агара, добавляют 25 см<sup>3</sup> стерильного мясо-пептонного бульона и 10 см<sup>3</sup> раствора 2, 3, 5-трифенилтетразолиум хлорида концентрации 10 г/дм<sup>3</sup>, устанавливают рН (7,1±0,1), стерилизуют 3 сут подряд при температуре (100±1) °С в течение 20 мин или однократно при температуре (110±1) °С в течение 15 мин. Среда должна быть бесцветной.

Применяют для культивирования *S. perfringens*.

#### 5.40. Среда Сабуро

В 1 дм<sup>3</sup> горячей дистиллированной воды растворяют 10 г пептона и 40 г глюкозы или мальтозы, разливают в стерильную посуду и стерилизуют 20 мин при температуре (112±1) °С.

Применяют для дрожжей и плесневых грибов.

#### 5.41. Среда Смис-Лоренца

5 г глюкозы, 10 г пептона или триптона, или триптозы (Дифко), 20 г агара растворяют при подогревании в 950 см<sup>3</sup> воды; отдельно 5 г растворимого крахмала растворяют в 50 см<sup>3</sup> воды и раствор вносят в среду, устанавливают рН (7,1±0,1) и стерилизуют при температуре (117±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных кислотообразующих термофильных микроорганизмов.

#### 5.42. Крахмало-пептонная среда, обогащенная триптофаном

10 г пептона растворяют в небольшом количестве воды, добавляют 5 г растворимого крахмала, предварительно растворенного в 50 см<sup>3</sup> воды, доводят объем водой до 1 дм<sup>3</sup>, устанавливают рН (6,2±0,1). Фильтруют через бумажный фильтр, добавляют 500 мкг триптофана, 5 г глюкозы, 20 г агара, нагревают до полного растворения агара и добавляют 10 см<sup>3</sup> раствора бромкрезолпурпура концентрации 0,4 г/дм<sup>3</sup>, разливают в стерильную посуду и стерилизуют при температуре (116±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для культивирования кислотообразующих аэробных и факультативно-анаэробных термофильных микроорганизмов.

#### 5.43. Сульфат-лактатная (плотная, вязкая) среда

5 г пептона растворяют в 1 дм<sup>3</sup> воды, добавляют 4 г дрожжевого экстракта или 20 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 1,5 г сульфата натрия, 1,5 г сульфата магния, 3,5 г лактата натрия, устанавливают рН 7,2—7,4 и добавляют для приготовления плотной среды 20 г агара, вязкой — 1,5 г агара; подогревают до полного растворения, фасуют и стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Перед употреблением в расплавленную или регенерированную среду вносят раствор соли Мора (двойная сернокислая соль закиси железа и аммония) из расчета 4 мг/см<sup>3</sup>. Для этого перед использованием раствор соли Мора концентрации 100 г/дм<sup>3</sup> стерилизуют фильтрованием и вносят асептически в каждую пробирку по 4—5 капель. Лактат натрия может быть заменен молочной кислотой, нейтрализованной гидроокисью натрия.

Применяют для культивирования термофильного анаэроба *D. nigrificans*.

#### 5.44. Солодовое сусло

Солодовое неохмеленное сусло готовят следующим образом.

К 1 дм<sup>3</sup> водопроводной воды, подогретой до (50±1) °С, прибавляют 200 г молотого ячменного солода. Смесь тщательно перемешивают в течение 30 мин, подогревают на водяной бане со скоростью 1 °С в минуту до (55±1) °С, выдерживают паузу 15 мин, затем вновь с той же скоростью поднимают температуру до 63—65 °С и удерживают ее на этом уровне в течение 1 ч. Температуру поднимают со скоростью 1 °С в минуту до (72±1) °С и выдерживают сусло при этой температуре до полного осахаривания. Степень осахаривания сусла проверяют раствором Люголя. Для этого каплю сусла переносят в фарфоровую чашку и осторожно прибавляют к нему каплю раствора Люголя. Окончательно осахаренное сусло не должно менять окраску в присутствии индикатора. Полученное сусло фильтруют через полотно или фильтровальную бумагу, доливают до 1 дм<sup>3</sup> и стерилизуют 30 мин в автоклаве при 107—110 °С. Затем сусло декантируют.

Прозрачное сусло разбавляют водой до массовой доли сухих веществ 7—8 %, разливают в стерильную посуду, стерилизуют 20 мин при (116±1) °С. Солодовое сусло можно заменить виноградным суслом, доводя массовую долю сухих веществ этого раствора до 7—8 %.

Применяют для культивирования дрожжей и плесневых грибов.

#### 5.45. Солодовое агаризованное сусло



К 1 дм<sup>3</sup> солодового неохмеленного сусла с массовой долей сухих веществ 7—8 % прибавляют 20 г агара. Среду расплавляют на водяной бане или текучим паром и фильтруют через гигроскопическую вату или фильтровальную бумагу. Фильтрат разливают по стерильным колбам или пробиркам и стерилизуют при температуре (116±1) °С в течение 15 мин или 3 сут по 30 мин текучим паром при температуре (100±1) °С. Для выявления дрожжей и плесневых грибов из продуктов, обильно обсемененных микроорганизмами, сусло перед использованием подкисляют 2—3 см<sup>3</sup> стерильного раствора лимонной кислоты с массовой концентрацией 200 г/дм<sup>3</sup> до рН 3,5.

Применяют для культивирования дрожжей и плесневых грибов.

#### **5.46. Солодовое агаризованное сусло с углекислым кальцием**

К 1 дм<sup>3</sup> солодового неохмеленного сусла с массовой долей сухих веществ 7—8 % добавляют 15—20 г агара (в зависимости от его желеобразующей способности), растворяют его на водяной бане при нагревании, и вносят 15—20 г стерильного углекислого кальция. Устанавливают рН среды 6,6—6,8. При постоянном помешивании разливают в стерильную посуду и стерилизуют при температуре (116±1) °С в течение 20 мин.

Применяют для культивирования дрожжей, плесеней и молочнокислых бактерий.

#### **5.47. Улучшенная клостридиальная среда (R. C. M.)**

В 1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды помещают 3 г дрожжевого экстракта или 15 см<sup>3</sup> раствора дрожжевого экстракта, 10 г мясного экстракта, 10 г пептона, 1 г растворимого крахмала, 5 г глюкозы, 0,5 г цистеина гидрохлорида, 5 г хлористого натрия, 3 г уксуснокислого натрия или 5 г водного уксуснокислого натрия (СН<sub>3</sub>СООNa · 3Н<sub>2</sub>О) 0,5 г агара для вязкой среды или 15 г агара для плотной среды, нагревают при непрерывном помешивании до кипения и кипятят до полного растворения всех компонентов; раствор охлаждают до температуры 50—60 °С, доводят его реакцию до рН (7,0±0,1). Стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Вязкую среду непосредственно перед использованием регенерируют, плотную — после розлива по чашкам Петри подсушивают. Допускается использовать 1 дм<sup>3</sup> мясной воды вместо мясного экстракта и воды.

Применяют для культивирования мезофильных анаэробных микроорганизмов.

5.48. Среда питательная для контроля стерильности, сухая.

В 33,0 г сухого порошка среды входят:

ферментативный гидролизат казеина неглубокой степени расщепления 15,0 г;

витаминный препарат экстракта кормовых дрожжей — 5,0 г;

натрий хлористый — 6,4 г;

глюкоза — 5,0 г;

тиогликолят натрия — 0,3 г;

цистеина гидрохлорид — 0,75 г;

агар — 0,6 г;

натрий углекислый — 0,5—0,95 г.

Приготовление:

33,0 г сухого порошка растворяют в 1000 см<sup>3</sup> воды, тщательно перемешивают, доводят до кипения, кипятят 2—3 мин при помешивании, фильтруют, разливают в пробирки по п. 5.34. Стерилизуют при температуре (121±1) °С в течение 20 мин. Готовая среда должна иметь рН 7,0±0,2 и храниться при комнатной температуре не более 7 сут.

Среду применяют для культивирования мезофильных и термофильных анаэробных микроорганизмов.

**(Введен дополнительно, Изм. № 1).**