

**МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ
И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ**

**МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ И ПОДГОТОВКА К
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ**

Издание официальное

22 руб. БЗ 6—92, 662

ГОССТАНДАРТ РОССИИ
Москва

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**МЯСО ПТИЦЫ, СУБПРОДУКТЫ
И ПОЛУФАБРИКАТЫ ПТИЧЬИ****Методы отбора проб и подготовка
к микробиологическим исследованиям**Poultry meat, edible, offal ready-to-cook
products Methods for sampling and preparing
of microbiological examinations**ГОСТ Р
50396.0—92**

ОКСТУ 9209

Дата введения 01.01.94

Настоящий стандарт распространяется на предназначенные для реализации и промышленной переработки:

мясо птицы в виде потрошенных, полупотрошенных и потрошенных с комплектом потрохов и шейей тушек, частей, полученных при их разделке, а также обваленное и измельченное; субпродукты и полуфабрикаты птичьи.

Стандарт устанавливает методы отбора проб и подготовку к микробиологическим исследованиям.

1. МЕТОДЫ ОТБОРА ПРОБ

1.1. Методы отбора проб и подготовка их к исследованиям — по ГОСТ 26668, ГОСТ 26669 со следующими дополнениями.

1.1.1. Для контроля качества тушек или полутушек птицы из области грудной части, голени и бедра вырезают на всю глубину мышцы в равных количествах общей массой не менее 150 г, измельчают их с соблюдением правил асептики с помощью ножниц, гомогенизатора в течение 2—2,5 мин или фарфоровой ступки с пестиком, перемешивают и получают объединенную пробу одной тушки или полутушки.

1.1.2. Объединенную пробу обваленного, измельченного мяса, птичьих субпродуктов и полуфабрикатов отбирают по нормативно-технической документации на эти виды продуктов.

1.1.3. Для приготовления исходного разведения из объединенной измельченной пробы отбирают навеску не менее 10 г.

Издание официальное

© Издательство стандартов, 1993

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен без разрешения Госстандарта России

роселенита (см. п. 2.3.12) на 1000 см³ основы среды. Готовую смесь не стерилизуют. Хранению она не подлежит, рН (7,0±0,1).

2.4.15. Селенитово-цистиновая среда. В 1000 см³ селенитовой среды (см. п. 2.4.14) асептически добавляют 10 см³ раствора L-цистина (см. п. 2.3.13). Устанавливают рН таким образом, чтобы он составлял (7,0±0,1) при температуре (25±1)°С. Среда хранению не подлежит.

2.4.16. Магниевая или хлористомагниевая среда. 4,2 г пептона, 7,15 г хлорида натрия, 1,48 г дигидрофосфата калия безводного, 9 см³ дрожжевого экстракта по ГОСТ 10444.1 растворяют в 900 см³ дистиллированной воды, добавляют раствор хлористого магния и 0,9 см³ раствора бриллиантового зеленого массовой концентрации 5 г/дм³. Стерилизуют (30±1) мин при температуре (112±0,5)°С. Хранят не более 14 сут при температуре (4±1)°С.

2.4.17. Среда Плоскирева, висмут-сульфитный агар, сухие. Готовят по прописи, указанной на этикетке.

2.4.18. Агар с феноловым красным и бриллиантовым зеленым. 5 г мясного экстракта, 10 г пептона, 3 г дрожжевого экстракта, 1 г дигидрофосфата натрия безводного, 0,6 г гидрофосфата натрия безводного, 15—18 г агара растворяют в 900 см³ кипящей дистиллированной воды. Охлаждают до температуры (45—50)°С, доводят рН до такого уровня, чтобы он составлял (7,0±0,1) при температуре (25±1)°С. Стерилизуют (15±1) мин при температуре (121±1)°С. Хранят не более 1 мес при температуре (4±1)°С.

2.4.19. Среда Гисса с углеводами (глюкозой, лактозой, сахарозой, маннитом), сухие. Готовят по прописи, указанной на этикетке.

2.4.20. Агар Клиглера сухой, среда Ресселя сухая. Готовят по прописи, указанной на этикетке. При скашивании сред в пробирках оставляют столбик высотой 2—2,5 см.

2.4.21. Агар тройной сахарный с цитратом железа — по ГОСТ 28560.

2.4.22. Трехсахарный агар по Олькеницкому. 25 г сухого питательного агара, 10 г лактозы, 10 г сахарозы, 1 г глюкозы, 0,2 г железа (II) сульфата аммония, 10 г мочевины, 4 см³ 0,4%-ного раствора фенолового красного растворяют в 1000 см³ дистиллированной воды. Предварительно растворяют соли в небольшом объеме дистиллированной воды. Углеводы и мочевину также растворяют в небольших объемах воды при подогревании в водяной бане. Сухой питательный агар расплавляют при нагревании в оставшемся объеме воды. Затем все ингредиенты соединяют, перемешивают с расплавленным агаром, фильтруют через марлевый фильтр, устанавливают рН 7,2—7,4, добавляют индикатор и разливают в пробирки по 6—7 см³. Среду стерилизуют текучим паром 3 дня подряд по 2 мин и скашивают, оставляя столбик

2—2,5 см. Готовая среда бледно-розового цвета. Хранят при комнатной температуре не более 7 сут.

2.4.23. Агар с цитратом (Симмонса) сухой. Готовят по прописи, указанной на этикетке. Среду разливают по 5—7 см³, оставляя столбик высотой 2—2,5 см при скашивании после стерилизации.

2.4.24. Агар с мочевиной (Кристенсена). 1 г пептона, 1 г глюкозы, 5 г хлорида натрия, 2 г калия дигидрофосфата безводного, 0,012 г фенолового красного, 15 г агара растворяют в 1000 см³ кипящей дистиллированной воды, рН устанавливают таким образом, чтобы после стерилизации он составлял $(6,8 \pm 0,1)$ при температуре $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$. Это составляет основу среды. Стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$. Хранят не более 7 сут при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Перед употреблением асептически к 1000 см³ основы среды добавляют 50 см³ раствора мочевины.

2.4.25. Среда Кларка для реакции Фогес-Проскауэра. 7 г пептона, 5 г калия гидрофосфата безводного, 5 г глюкозы растворяют в 1000 см³ дистиллированной воды, кипятят 2—3 мин, фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр, устанавливают рН 6,9—7,0, разливают в пробирки, стерилизуют 20 мин при температуре $(115 \pm 1)^\circ\text{C}$. Хранят не более 28 сут при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$.

2.4.26. Триптон-триптофановая среда Лютова — по ГОСТ 28560.

2.4.27. Среда для расщепления фенилаланина. В 1 дм³ дистиллированной воды при нагревании растворяют 15 см³ дрожжевого экстракта, 2 г *DL*-фенилаланина или 1 г *L*-фенилаланина, 1 г натрия дигидрофосфата безводного, 5 г хлорида натрия, 12 г агара. По 5 см³ среды разливают в пробирки, стерилизуют (10 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$, дают застыть в наклонном положении. Среду хранят при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ не более 7 сут.

2.4.28. Среды с аминокислотами (лизинном, орнитинном, аргинином). 5 г одной из *L*-аминокислот или 10 г одной из *DL*-аминокислот, 3 г дрожжевого экстракта, 1 г глюкозы, 0,012 г бромкрезолового пурпурного растворяют в 1000 см³ кипящей дистиллированной воды, устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации он составлял $(6,8 \pm 0,1)$ при температуре $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$. Среды разливают в агглютинационные пробирки. Стерилизуют (10 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ или (30 ± 1) мин при температуре $(110 \pm 1)^\circ\text{C}$. Цвет среды светло-фиолетовый. Хранению среды не подлежат.

2.4.29. Полужидкий агар. 3 г мясного экстракта, 5 г пептона, 4—9 г агара растворяют при нагревании до кипения в 1000 см³ дистиллированной воды. Устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации он составлял $(7,0 \pm 0,1)$ при температуре

(25 ± 1)°С. Стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С. Хранение не более 28 сут при температуре (4 ± 1)°С.

2.4.30. Мясо-пептонный бульон с глюкозой — по ГОСТ 10444.1.

2.4.31. Солевой бульон. К 100 см³ мясо-пептонного бульона по ГОСТ 10444.1 добавляют 6,5 г хлорида натрия. Стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С. Хранят не более 28 сут при температуре (4 ± 1)°С.

2.4.32. Агар Байрд-Паркер. В 1 дм³ дистиллированной воды вносят 10 г триптона, 5 г хлорида лития 6-водного, 20 г агара, 5 г мясного экстракта и 1 см³ дрожжевого экстракта. При отсутствии мясного экстракта вместо дистиллированной воды применяют 1 дм³ мясо-пептонного бульона или 1 дм³ бульона Хоттинера. Все компоненты, внесенные в 1 дм³ воды или бульона, нагревают, помешивая до полного растворения, охлаждают до температуры 50—60°С. Устанавливают рН 6,8—7,0, стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С. К 90 см³ основной среды добавляют асептически стерилизованные фильтрованием через мембранный фильтр растворы: 6,3 см³ раствора глицерина массовой концентрации 200 г/дм³, 5 см³ раствора пирувата натрия массовой концентрации 200 г/дм³, 1 см³ раствора теллурита калия массовой концентрации 10 г/дм³, 5 см³ желточной эмульсии. После тщательного перемешивания приготовленную среду разливают в чашки Петри. Хранят при температуре (4 ± 1)°С не более 48 ч.

2.4.33. Яично-желточно-солевой агар. Перед анализом 1 дм³ мясо-пептонного агара расплавляют и растворяют в нем 95 г хлорида натрия, охлаждают до температуры (45 ± 1)°С и добавляют 100 см³ яично-желточной эмульсии по ГОСТ 10444.1. Смесь тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри, хранят при температуре (4 ± 1)°С не более 5 сут.

2.4.34. Яично-желточный азидный агар. В 1 дм³ дистиллированной воды растворяют при нагревании 10 г пептона, 3 г хлорида натрия, 0,2 г дигидрофосфата натрия безводного, 15 г агара, 5,5 г мясного экстракта. При отсутствии мясного экстракта используют мясную воду по ГОСТ 10444.1, при этом все компоненты растворяют в 1 дм³ мясной воды. Устанавливают рН ($7,6 \pm 0,1$), стерилизуют (30 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С, охлаждают до температуры 50—60°С, добавляют 0,15 г азиды натрия, смешивают, вновь стерилизуют (30 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С, охлаждают до температуры (50 ± 1)°С, добавляют 150 см³ желточной эмульсии, смешивают и разливают в чашки Петри.

2.4.35. Желатин. 10—15 г измельченного пищевого желатина добавляют в 100 см³ мясо-пептонного бульона, растворяют при помешивании и медленном нагревании в водяной бане при температуре 40—50°С. После полного растворения устанавливают

pH 7,1—7,3. Фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр, разливают в пробирки по 5—7 см³, стерилизуют текучим паром по 20 мин 2 дня подряд. После стерилизации среду охлаждают при строго вертикальном положении пробирок.

2.4.36. Среда Вильсон-Блера (агаризованная), измененная для анаэробов. 1 дм³ стерильного расплавленного и охлажденного до температуры $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$ питательного агара добавляют 10 см³ раствора сульфита натрия массовой концентрации 100 г/дм³ и 1 см³ раствора железа (III) аммония сульфата массовой концентрацией 50 г/дм³. Среду хранят в защищенном от света месте при температуре $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ не более 7 сут.

Допускается приготовление среды Вильсон-Блера следующим образом: к 100 см³ расплавленного питательного агара добавляют 4 см³ раствора сульфита натрия массовой концентрации 100 г/дм³ и 1 см³ раствора треххлористого железа массовой концентрации 80 г/дм³. Готовая среда хранению не подлежит.

2.4.37. Железосульфитная среда. К 1 дм³ дистиллированной воды добавляют 10,0 г триптона, 0,5 г сульфита натрия, 0,5 г железа (III) цитрата, 15,0 г агара (при приготовлении агаризованной среды) или 1,5 г агара (при приготовлении вязкой среды). Компоненты растворяют при нагревании, после чего охлаждают до температуры $(50 \pm 5)^\circ\text{C}$. Устанавливают pH $(7,1 \pm 0,1)$. Среду разливают в пробирки по 10—12 см³ и стерилизуют (15 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Триптон может быть заменен на равноценную навеску сухого панкреатического гидролизата казеина или на десятикратный объем жидкого панкреатического гидролизата казеина. Триптон и 1 дм³ воды могут быть заменены на 1 дм³ мясной воды по ГОСТ 10444.1.

2.4.38 Среда Китт-Тароцци — по ГОСТ 10444.1 со следующим дополнением. Перед употреблением среду регенерируют. Для этого пробирки со средой помещают в водяную баню и прогревают (20 ± 1) мин при температуре $(100 \pm 1)^\circ\text{C}$. Затем их охлаждают водопроводной водой.

2.5. Окраска препаратов по Граму, бактериальных спор и микроскопирование — по ГОСТ 10444.3.

ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Научно-производственным объединением птицеперерабатывающей промышленности «Комплекс», Техническим комитетом по стандартизации ТК 116 «Продукты переработки птицы, яиц и сублимационной сушки»

РАЗРАБОТЧИКИ:

А. А. Гусев, д-р вет. наук (руководитель темы); Г. Г. Чернога, канд. биол. наук; М. М. Павликова, Г. А. Степанова

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Госстандарта России от 18.11.92 № 1496
3. СРОК ПРОВЕРКИ — 1997 г.; ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ — 5 лет
4. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ
5. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 245—76	2.1	ГОСТ 10441.1—84	2.3.8, 2.3.9;
ГОСТ 1770—74	2.1		2.3.14; 2.4.12;
ГОСТ 2493—75	2.1		2.4.16; 2.4.30;
ГОСТ 3145—84	2.1		2.4.34; 2.4.38
ГОСТ 3164—78	2.1	ГОСТ 10441.2—75	2.3.24
ГОСТ 4025—83	2.1	ГОСТ 10441.3—85	2.5
ГОСТ 4166—76	2.1	ГОСТ 10929—76	2.1
ГОСТ 4172—76	2.1	ГОСТ 11078—78	2.1
ГОСТ 4198—75	2.1	ГОСТ 11109—90	2.1
ГОСТ 4233—77	2.1	ГОСТ 11293—89	2.1
ГОСТ 4530—76	2.1	ГОСТ 12026—76	2.1
ГОСТ 4209—77	2.1	ГОСТ 13805—78	2.1
ГОСТ 5833—75	2.1	ГОСТ 14919—83	2.1
ГОСТ 5962—67	2.1	ГОСТ 18300—87	2.1
ГОСТ 6038—79	2.1	ГОСТ 19569—89	2.1
ГОСТ 6672—75	2.1	ГОСТ 20292—74	2.1
ГОСТ 6691—77	2.1	ГОСТ 21239—89	2.1
ГОСТ 6709—72	2.1	ГОСТ 21240—89	2.1
ГОСТ 6824—76	2.1	ГОСТ 21241—89	2.1
ГОСТ 9147—80	2.1	ГОСТ 22967—82	2.1
ГОСТ 9284—75	2.1	ГОСТ 24104—88	2.1
ГОСТ 9285—78	2.1		

Продолжение

Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта	Обозначение НТД, на который дана ссылка	Номер пункта
ГОСТ 25336—82	2.1	TU 6—09—4278—	2.1
ГОСТ 26668—85	1.1; 2.2.2	76	
ГОСТ 26669—85	1.1; 1.1.4	TU 6—09—1386—	2.1
ГОСТ 26678—85	2.1	76	
ГОСТ 27583—88	2.1	TU 10.0—01.75—	2.1
ГОСТ 28560—90	2.3.20; 2.4.26	88	
ГОСТ 28498—90	2.1	TU 10.02.875—90	2.4.7
ОСТ 25—1138—84	2.1	TU 63—102—115—	2.1
TU 6—09—10—	2.1	90	
364—75		TU 81—05—79—69	2.1

Редактор *Т. И. Василенко*
 Технический редактор *В. Н. Малькова*
 Корректор *Е. И. Морозова*

Сдано в наб. 08.12.92 Подп. к печ. 04.02.93 Усл. ш. л. 1,0. Усл. кр.-отт. 1,0. Уч.-изд. л. 1,05.
 Тираж 1170 экз.

Орден «Знак Почета» Издательство стандартов, 107076, Москва, Колодезный пер., 14.
 Тип. «Московский печатник», Москва, Лялин пер., 6. Зак. 1738

1.1.4. Для исследования микробного загрязнения поверхности тушек, их частей обваленного мяса, субпродуктов, полуфабрикатов (кроме панированных и измельченных) пробы отбирают в виде смывов, полученных с помощью ватных тампонов по ГОСТ 26669, или стерильной жидкостью для смыва (пептонной водой, физиологическим раствором, водопроводной водой).

1.1.5. При отборе проб в виде смывов жидкостью в новый стерильный пакет одноразового пользования из полимерного материала помещают тушку птицы или ее части массой не более 1,5 кг, объединенную пробу обваленного мяса или субпродуктов массой не менее 150 г, добавляют жидкость для смыва в количестве, равном массе исследуемого продукта. Встряхивают содержимое пакета в течение 2 мин. Полученная смывная жидкость служит исходным материалом для последующих 10-кратных разведений.

1.1.6. При выявлении микроорганизмов из мяса птицы, субпродуктов и полуфабрикатов для посевов на питательные среды используют верхний слой издосадочной жидкости, а при определении их количества используют взвесь исходного разведения.

2. ПОДГОТОВКА К МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ

2.1. Аппаратура, материалы и реактивы

Автоклав.

Анаэроостат

Баня водяная с терморегулятором, позволяющая поддерживать температуру 20°C—100°C с отклонением до 1°C от заданной.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 200 г и пределом допускаемой погрешности ± 2 мг для взвешивания реактивов.

Весы лабораторные общего назначения по ГОСТ 24104 с наибольшим пределом взвешивания 1 кг и пределом допускаемой погрешности ± 10 мг для взвешивания продукта.

Шкаф сушильный.

Термостаты электрические для выращивания бактерий с автоматическим терморегулятором до температуры 55°C и с ценой деления 0,2°C

Стерилизатор паровой медицинский по ГОСТ 19569.

Холодильник бытовой электрический по ГОСТ 26678.

Холодильник походный (сумка).

Центрифуга.

Электроплита по ГОСТ 14919.

Гомогенизатор бактериологический или аппарат для измельчения тканей с числом оборотов 8000—45000 об/мин.

Мешалки из нержавеющей металла.

Микроскоп световой биологический с увеличением в 900×1000 раз.

Микроскоп люминесцентный.

Пробоотборник (буравчик или зонд) из нержавеющей стали.
рН-метр с пределом допускаемой погрешности не более 0,05 ед.рН.

Дистиллятор.

Мясорубка по ГОСТ 4025.

Часы песочные по ОСТ 25-11-38 или часы механические с сигнальным устройством по ГОСТ 3145.

Термометры жидкостные стеклянные с диапазоном температуры 0°C — 50°C и 50°C — 100°C по ГОСТ 28498 с пределом допускаемой погрешности $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ с ценой деления шкалы $0,5^{\circ}\text{C}$.

Шпатель 1—3 по ГОСТ 9147.

Шпатели, ложки, половник из нержавеющей стали.

Шприцы медицинские по ГОСТ 22967.

Штативы для пробирок.

Скальпели и ножи медицинские по ГОСТ 21240.

Ножи и проволока из нержавеющей стали.

Пинцеты по ГОСТ 21241.

Ножницы медицинские по ГОСТ 21239.

Пакеты из полимерных пленочных материалов по ТУ 63—102—115.

Кружка по ГОСТ 9147.

Кюветы разные для окрашивания препаратов.

Кастрюли.

Трафареты (шаблоны) из нержавеющей стали.

Фильтр бумажный.

Фильтры Зейтца.

Пластинки асбестовые.

Бумага фильтровальная по ГОСТ 12026.

Вазелин.

Вата.

Марля по ГОСТ 11109.

Пробки ватные.

Капельница 2—50 ХС по ГОСТ 25336.

Колба Кп 1(2) или П(2) по ГОСТ 25336.

Воронка Бюхнера 3(5) по ГОСТ 9147.

Воронка ВФ 1(3) — 75(100) ХС по ГОСТ 25336.

Цилиндр по ГОСТ 1770.

Чашки ЧБН-2 по ГОСТ 25336.

Стакан В-1(2)—100(150—1000) по ГОСТ 25336.

Стакан Н-2(100—1000) по ГОСТ 25336.

Стеклянные предметные по ГОСТ 9284.

Стеклянные покровные по ГОСТ 6672.

- Ступка 1,2 по ГОСТ 9147.
 Спиртовка СЛ-1(2) по ГОСТ 25336.
 Палочки стеклянные.
 Пестик 1--2 по ГОСТ 9147.
 Петледержатель.
 Петля бактериологическая.
 Пипетки по ГОСТ 20292.
 Поплавки (трубки Дархема).
 Посуда с притертой пробкой.
 Пробирки П1—16—150ХС или П2 -10--90ХС или П2Т-10ТС по ГОСТ 25336.
 Агар висмут-сульфитный.
 Агар микробиологический.
 Агар сухой питательный.
 Желчь крупного рогатого скота, сухая или натуральная, медицинская по ТУ 6—09—102364.
 Масло вазелиновое по ГОСТ 3164
 Масло иммерсионное по ТУ 81—05—79.
 Пелтон по ГОСТ 13805.
 Плазма цитратная кроличья.
 Растворы буферные для рН-метра.
 Сыворотки антилистерозные люминесцирующие.
 Сыворотки антисальмонеллезные поливалентные и моновалентные.
 Экстракт дрожжевой сухой.
 Экстракт мясной.
 Яйца куриные по ГОСТ 27583.
 Аминопептид.
 Аргинин.
 Бриллиантовый зеленый по ТУ 6—09—4278.
 Бромкрезоловый пурпурный по ТУ 6—09—1386.
 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
 Генциан фиолетовый.
 Глицерин х.ч. по ГОСТ 6824.
 Глюкоза х.ч., ч.д.а. по ГОСТ 6038.
 Желатин пищевой по ГОСТ 11293.
 Железа (III) аммония сульфат.
 Железо треххлористое, 6 водное.
 Железа (III) цитрат.
 Калий гидрат окиси (гидроокись) технический по ГОСТ 9285.
 Калий фосфорно-кислый двузамещенный (дигидрофосфат) по ГОСТ 2493.
 Калий фосфорно-кислый однозамещенный (гидрофосфат) по ГОСТ 4198.
 Калия теллурид.

Кальций углекислый (карбонат) по ГОСТ 4530.

Лактоза.

Лизин.

Литий хлористый (хлорид).

Магний хлористый (хлорид) по ГОСТ 4209.

Метиленовый голубой.

Метиловый красный.

Мочевина по ГОСТ 6691.

Натрия азид.

Натрия гидрат окиси едкий (гидроокись) по ГОСТ 11078.

Натрия пируват.

Натрий сelenисто-кислый (гидроселенит).

Натрий серноватисто-кислый (тиосульфат).

Натрий сернисто-кислый (сульфит).

Натрий углекислый (карбонат).

Натрий фосфорно-кислый двузамещенный (дигидрофосфат) по ГОСТ 4172.

Натрий фосфорно-кислый однозамещенный (гидрофосфат) по ГОСТ 245.

Натрий хлористый (хлорид) по ГОСТ 4233.

α -нафтол

Орнитин.

Пероксид (перекись) водорода по ГОСТ 10929.

Розоловая кислота.

Сахароза ч.д.а по ГОСТ 5833.

Свинец уксуснокислый (ацетат).

Спирт этиловый по ГОСТ 18300 и ГОСТ 5962, раствор с массовой долей 70%, 96%.

Триптон.

Трифенилтетразолий хлорид.

Фенилаланин.

Феноловый красный.

Цистин.

Допускается применение других средств измерений с метрологическими характеристиками и оборудования с техническими характеристиками не хуже, а реактивов по качеству не ниже указанных в стандарте.

2.2. Подготовка посуды и материалов

2.2.1. Вся посуда должна быть вымыта, высушена. Перед стерилизацией пробирки, колбы закрывают пробками из ваты в марлевой обертке, в концы пипеток вкладывают по кусочку ваты. Подготовленные пробирки, пипетки, чашки заворачивают в бумагу или помещают в металлические пеналы. Горлышко колб с пробками, стаканов закрывают сверху бумажным коллачком, который обвязывают ниткой.

2.2.2. Стерилизация посуды, инструментов, материалов — по ГОСТ 26668.

2.3. Приготовление компонентов питательных сред и растворов

2.3.1. Пептонно-солевой раствор. В 1 дм³ дистиллированной воды растворяют при медленном нагревании 8,5 г хлористого натрия и 1,0 г пептона. Полученный раствор при необходимости фильтруют через бумажный фильтр, устанавливают рН ($7,0 \pm 0,1$), стерилизуют (30 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С. Раствор хранят в темном месте при температуре (4 ± 2)°С не более 1 мес.

2.3.2. Пептонная вода. Приготовление аналогично пептонно-солевому раствору (см. п. 2.3.1) без добавления хлористого натрия.

2.3.3. Физиологический раствор. В 1 дм³ дистиллированной воды растворяют 8,5 г хлористого натрия. Стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С.

2.3.4. Агар голодный. 2,0 г агара растворяют в 98 см³ дистиллированной воды, стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С.

2.3.5. Спиртовой раствор розоловой кислоты массовой концентрации 50 г/дм³. 0,5 г розоловой кислоты заливают 10 см³ этилового ректифицированного спирта с массовой долей 96%. Через 24 ч раствор готов к употреблению. Хранят в закрытом сосуде из темного стекла при комнатной температуре не более 1 мес.

2.3.6. Раствор метиленового голубого массовой концентрации 4 г/дм³. 0,1 г метиленового голубого помещают в колбу вместимостью 100 см³, доливают до метки дистиллированную воду. Через 24 ч раствор готов к употреблению. Хранят в закрытом сосуде из темного стекла при комнатной температуре. Срок хранения не ограничен.

2.3.7. Раствор бриллиантового зеленого массовой концентрацией 5 г/дм³ (или 1 г/дм³). 0,5 г (или 0,1 г) бриллиантового зеленого помещают в колбу вместимостью 100 см³, доливают дистиллированную воду до метки. Хранят в закрытом сосуде из темного стекла при комнатной температуре не более 3 мес.

2.3.8. Раствор Люголя — по ГОСТ 10444.1.

2.3.9. Бульон Хоттингера — по ГОСТ 10444.1.

2.3.10. Раствор натрия тиосульфата ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) массовой концентрации 500 г/дм³. 50 г натрия тиосульфата помещают в колбу, добавляют до 100 см³ дистиллированную воду. Раствор стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С или (30 ± 1) мин при температуре (112 ± 1)°С.

2.3.11. Аминопептидный бульон. 250 см³ жидкого аминопептида, 5,5 г хлорида натрия, 750 см³ дистиллированной воды переме-

шивают, стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре (121 ± 1)°С. Срок хранения при температуре 4°С—10°С не ограничен.

2.3.12. Раствор натрия гидроселенита (NaHSeO_3) массовой концентрации 100 г/дм³. 10 г натрия гидроселенита помещают в стерильную колбу и добавляют асептически до метки 100 см³ стерильную дистиллированную воду. Готовят перед употреблением.

2.3.13. Раствор *L*-цистина. 0,1 г *L*-цистина, 15 см³ раствора гидроокиси натрия массовой концентрации 1 моль/дм³ в стерильной колбе доводят до 100 см³, добавляя стерильную дистиллированную воду. Раствор стерилизации не подлежит.

2.3.14. Экстракт дрожжевой сухой готовят по прописи, указанной на этикетке, или по ГОСТ 10444.1.

2.3.15. Хлористый магний. 36 г кристаллического хлористого магния растворяют в 90 см³ дистиллированной воды.

2.3.16. Раствор мочевины массовой концентрации 400 г/дм³. 40 г мочевины помещают в колбу и добавляют стерильную дистиллированную воду до метки 100 см³. Растворяют, стерилизуют через фильтр Зейтца. Допускается «самостерилизация» раствора мочевины путем выдерживания его при комнатной температуре в течение 2—3 сут. Проверяют стерильность раствора мочевины контрольным посевом.

2.3.17. Раствор метилового красного. 0,1 г метилового красного растворяют в 300 см³ этилового ректификованного спирта с массовой долей 96%, затем добавляют дистиллированную воду до метки 500 см³.

2.3.18. Спиртовой раствор α -нафтола массовой концентрации 60 г/дм³. 6 г α -нафтола растворяют в 100 см³ этилового ректификованного спирта с массовой долей 96%.

2.3.19. Раствор гидроокиси калия массовой концентрации 400 г/дм³. 40 г гидроокиси калия помещают в колбу и доливают дистиллированную воду до метки 100 см³.

2.3.20. Реактив Ковача, реактив Эрлиха по ГОСТ 28560.

2.3.21. Индикаторная бумага для определения сероводорода. 20 г ацетата свинца, 1 г карбоната натрия растворяют в 100 см³ дистиллированной воды. Раствором пропитывают фильтровальную бумагу, высушивают ее при температуре 18°С—25°С и нарезают на узкие полоски. После приготовления бумага остается белой, при наличии сероводорода чернеет.

2.3.22. Раствор железа треххлористого 6-водного массовой концентрации 80 г/дм³. 8,0 г железа треххлористого 6-водного переносят в колбу вместимостью 100 см³, добавляют до метки дистиллированную воду.

2.3.23. Физиологический фосфат-буферный раствор. 8,5 г хлорида натрия, 0,45 г дигидрофосфата калия безводного, 5,34 г натрия гидрофосфата безводного помещают в мерную посуду, до-

ливают до 1000 см³ дистиллированную воду, стерилизуют (30±1) мин при температуре (121±1)°С.

2.3.24. Плазма крови кроличья сухая: готовят по прописи, указанной на этикетке. Плазма свежеприготовленная — по ГОСТ 10444.2.

2.4. Приготовление питательных сред

2.4.1. Мясо-пептонный агар. В 1 дм³ мясо-пептонного бульона по ГОСТ 10444.1 добавляют 15—20 г агара и кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара, устанавливают рН 7,0—7,2 и стерилизуют (20±1) мин при температуре (121±1)°С.

2.4.2. Мясо-пептонный агар с глюкозой. К 1 дм³ мясо-пептонного агара перед стерилизацией добавляют 1 или 10 г глюкозы, устанавливают рН 7,0—7,2 и стерилизуют (20±1) мин при температуре (121±1)°С.

2.4.3. Мясо-пептонный агар с глюкозой и дрожжевым экстрактом. К 1 дм³ стерильного агара перед применением асептически добавляют 2 г дрожжевого экстракта.

2.4.4. Среда из сухого питательного агара: готовят по прописи, указанной на этикетке.

2.4.5. Среда из сухого питательного агара с глюкозой: в 975 см³ сухого питательного агара (см. п. 2.4.4) непосредственно перед применением асептически добавляют 25 см³ стерильного раствора глюкозы массовой концентрации 200 г/дм³.

2.4.6. Среда Кесслера (с лактозой): 10 г пептона, 5 г сухой желчи или 50 см³ натуральной стерильной желчи, 2,5 г лактозы, 0,01 г генциан фиолетового добавляют в 1 дм³ дистиллированной воды, тщательно перемешивают, кипятят в течение 20—30 мин, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации он составлял (7,3±0,2) при температуре (25±1)°С. Разливают в пробирки с поплавками (трубками Дархема) дном вверх и стерилизуют (20±1) мин при температуре (114±1)°С. Если в поплавках остался воздух, среду не используют. Цвет среды фиолетовый. Срок хранения не более 14 сут при температуре (4±1)°С.

2.4.7. Среда Кесслера сухая. Готовят по прописи, указанной на этикетке.

2.4.8. Среда Хейфеца с лактозой. 10 г пептона, 5 г хлорида натрия, 5 г лактозы растворяют в 1 дм³ дистиллированной воды, устанавливают рН (7,4—7,6), нагревают до кипения, фильтруют, добавляют 1 см³ раствора розоловой кислоты, приготовленной по п. 2.3.5 и 2,5 см³ раствора метиленового голубого, приготовленного по п. 2.3.6. Разливают по 10 см³ в пробирки с поплавками. Стерилизуют (20±1) мин при температуре (112±1)°С. Цвет среды красно-фиолетовый. Срок хранения не более 14 сут при температуре (4±2)°С.

2.4.9. Бульон лактозный с бриллиантовым зеленым и желчью: 10 г пептона, 10 г лактозы, 20 г сухой говяжьей желчи или 200 см³ натуральной желчи, 2,66 см³ бриллиантового зеленого, приготовленного по п. 2.3.7, добавляют к 1000 см³ дистиллированной воды, перемешивают, нагревают на слабом огне до кипения, фильтруют через ватно-марлевый фильтр, охлаждают до температуры $(50 \pm 5)^\circ\text{C}$, устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации он составил $(7,2 \pm 0,1)$ при температуре $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$. Разливают по 10 см³ в пробирки с поплавками, стерилизуют (15 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$. Хранят не более 14 сут при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$.

2.4.10. Среды Эндо, Левина, сухие: готовят по прописи, указанной на этикетке.

2.4.11. Пептонно-буферная среда: 10 г пептона, 0,45 г калия дигидрофосфата безводного, 5,34 г натрия гидрофосфата безводного растворяют в 1000 см³ кипящей дистиллированной воды. Разливают в колбы вместимостью 500 см³ по 225 см³ среды. Стерилизуют (20 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$, рН среды при температуре $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ составляет $(7,0 \pm 0,1)$. Хранение при комнатной температуре не более 14 сут.

2.4.12. Среда Мюллера. 2,5 г стерильного карбоната кальция, приготовленного по ГОСТ 10444.1, помещают в стерильный флакон, добавляют 90 см³ бульона Хоттингера, приготовленного по ГОСТ 10444.1, стерилизуют (30 ± 1) мин при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$, рН 7,2—7,4. Хранят не более 1 мес при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Перед использованием асептически добавляют 2 см³ раствора Люголя, приготовленного по ГОСТ 10444.1, и 10 см³ раствора тиосульфата натрия, приготовленного по п. 2.3.10. Готовая среда стерилизации не подлежит.

2.4.13. Среда Кауфмана. 100 см³ стерильной среды Мюллера (см. п. 2.4.12) с асептическим добавлением 10 см³ раствора бриллиантового зеленого массовой концентрации 1 г/дм³ (см. п. 2.3.7), 10 г сухой желчи или 50 см³ натуральной говяжьей желчи перемешивают. Среда стерилизации не подлежит. Хранят не более 7 сут при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$.

2.4.14. Селенитовая среда. 5 г пептона или триптона, 4 г лактозы, 10 г натрия дигидрофосфата безводного (допускается 7 г натрия гидрофосфата безводного и 3 г натрия дигидрофосфата безводного) растворяют в 100 см³ дистиллированной воды, разливают в колбы, стерилизуют (30 ± 1) мин при температуре $(112 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, рН 6,9—7,1. Хранят не более 2 мес при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Это служит основой среды. Для приготовления основы среды допускается вместо высококачественного пептона (триптона) и дистиллированной воды использовать 960 см³ аминокептонного бульона, приготовленного из жидкого аминокептида (см. п. 2.3.11). Перед использованием добавляют 40 см³ раствора гид-