УДК 619 : 619-013.11 : 576.8.093.4[083.74] Группа Р39

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ СОЮЗА ССР

СПЕРМА БЫКОВ НЕРАЗБАВЛЕННАЯ
Методы микробиологических исследований

Non-diluted sperm of bulls
Methods of microbiological tests

ГОСТ 20909.2-75*

Постановлением Государственного комитета стандартов Совета Министров СССР от 13 июня 1975 г. № 1557 срок введения установлен

с 01.07.76

Проверен в 1985 г. Постановлением Госстандарта от 10.10.85 № 3300 срок действия продлен

до 01.07.91

Несоблюдение стандарта преследуется по закону

Настоящий стандарт распространяется на неразбавленную свежеполученную сперму быков и устанавливает методы микробиологических исследований с целью определения общего количества бактерий в сперме и ее коли-титра (коли-индекса).

1. МЕТОД ОТБОРА ПРОБ

1.1. Отбор проб — по ГОСТ 20909.1—75.

2. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И РЕАКТИВЫ

2.1. Для проведения испытаний применяют:

потенциометр рН-340 или другой марки того же класса точности;

автоклав вертикальный;

шкаф сушильный;

термостаты;

микроскопы биологические марки МБИ или МРБ по ГОСТ 8284—78;

часы песочные;

лупу с увеличением 8—10× или камеру Вольфгюгеля для подсчета колоний;

прибор для подсчета колоний;

груши резиновые;

Издание официальное *Перепечатка воспрещена*

** Переиздание (август 1988 г) с Изменением № 1, утвержденным в июне 1988 г. (ИУС 8—81).*

gost.e-ecolog.ru

чашки биологические (Петри);
стекла предметные для микропрепаратов по ГОСТ 9284—75;
стаканчики (бюксы) по ГОСТ 25336—82;
пипетки по ГОСТ 20292—74, колбы по ГОСТ 1770—74;
пробирки стеклянные по ГОСТ 25336—82;
поплавки стеклянные;
агар по ГОСТ 17206—84;
пептон по ГОСТ 13805—76;
лактозу;
глюкозу медицинскую по ГОСТ 6038—79;
бульон мясопептонный (МПБ);
маннит;
насыщенный водный раствор нейтральрота;
фуксин основной, 5 и 10%-ный спиртовые растворы;
нейтральный красный (нейтральрот), насыщенный водный раствор;
аммиак водный по ГОСТ 3760—79;
натрий хлористый по ГОСТ 4233—77;
натрий сернистокислый (сульфит натрия) кристаллический, 10%-ный водный раствор;
метиленовый голубой;
натрий углекислый безводный (кальцинированная сода) по ГОСТ 83—79;
двухромовокислый калий по ГОСТ 4220—75;
спирт этиловый ректификованный по ГОСТ 5962—67, 96%-ный или спирт этиловый гидролизный высшей очистки, 96%-ный;
кислоту серную по ГОСТ 4204—77;
калия гидроокись по ГОСТ 24363—80;
калий йодистый по ГОСТ 4232—74, 0,5%-ный спиртовый раствор;
йод по ГОСТ 4159—79;
кислоту соляную по ГОСТ 3118—77;
генцианвиолет, 1%-ный водный раствор;
кристаллический фиолетовый;
масло иммерсионное по ГОСТ 13739—78;
воду дистиллированную по ГОСТ 6709—72;
порошок стиральный для хлопчатобумажной и льняной ткани;
мыло хозяйственное 72%-ное;
эфир петролейный.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3. ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЯМ

3.1. Подготовка лабораторной посуды и материалов

3.1.1. Новую лабораторную посуду кипятят в течение 15 мин

в дистиллированной воде, подкисленной соляной кислотой до 1—2%, или выдерживают 3—4 ч в 10%-ном растворе соляной кислоты, а затем промывают водопроводной водой и моют с помощью ерша в растворе, содержащем на 1000 мл дистиллированной воды: стирального порошка — 30 г и нашатырного спирта 50 мл, или в растворе, содержащем на 1000 мл дистиллированной воды: хозяйственного мыла — 80 г (нарезанного на мелкие кусочки), кальцинированной соды — 40 г.

Раствор с хозяйственным мылом кипятят до полного растворения мыла. Затем лабораторную посуду тщательно промывают водопроводной, а затем дистиллированной водой, высушивают на доске с колышками и стерилизуют.

3.1.2. Лабораторную посуду, бывшую в употреблении и сильно загрязненную, моют 2—3%-ным раствором двууглекислой или 1—1,5%-ным раствором кальцинированной соды, оставляют на 24 ч в хромовой смеси (смесь двухромовокислого калия и серной кислоты), тщательно промывают водопроводной, а затем дистиллированной водой и подвергают стерилизации.

Предметные и покровные стекла обезжиривают погружением их не менее чем на 24 ч в смесь, состоящую из равных частей спирта и эфира.

Чистоту стекла вымытой и высушенной посуды контролируют нанесением на его поверхность капли воды. При достаточном обезжиривании капля расплывается равномерно.

Перед стерилизацией лабораторную посуду (чашки, пипетки, пробирки и т. п.) завертывают в пергаментную бумагу или укладывают в металлические пеналы. В верхний конец пипетки вкладывают кусочек ваты.

Вымытую лабораторную посуду после высушивания стерилизуют в автоклаве при 0,1 МПа (1 кгс/см²) в течение 20 мин или в сушильном шкафу при 160—180°С в течение 2 ч.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.2. Приготовление сред и реактивов

3.2.1. *Приготовление мясо-пептонного бульона (МПБ)*

Парное говяжье (или конское) мясо, освобожденное от жира и сухожилий, пропускают через мясорубку, взвешивают и заливают двойным количеством водопроводной воды, отмечают первоначальный объем смеси и ставят при температуре 4—6°С на 12—24 ч или выдерживают в термостате при температуре 50°С в течение 1 ч. Затем кипятят 30—60 мин. Мясную воду охлаждают (жир застывает и легко удаляется), фильтруют через ватно-марлевый или двойной бумажный фильтр до полной прозрачности и доводят до первоначального объема, доливая водопроводную воду.

К мясной воде добавляют 1% сухого пептона и 0,5% хлористого натрия. Устанавливают pH 7,2—7,4, добавляя насыщенный

раствор двууглекислой соды или 10%-ный раствор едкого натра. Раствор кипятят в течение 30 мин, доливают водой до первоначального объема, фильтруют через двойной бумажный фильтр и окончательно устанавливают pH 7,2—7,4. Затем разливают в пробирки или бутылки и стерилизуют в автоклаве 20 мин при 120°С. Если после стерилизации в МПБ выпадает осадок, то его фильтруют вторично и снова стерилизуют.

3.2.2. *Приготовление мясо-пептонного агара (МПА)*

К мясо-пептонному бульону добавляют 2% агара, предварительно измельченного, замоченного и хорошо промытого водой, и кипятят на слабом огне при постоянном помешивании до полного растворения агара. При помутнении среды ее просветляют. Агар в горячем состоянии фильтруют через вату, разливают во флаконы или колбы и стерилизуют в автоклаве при 120°С в течение 10—20 мин. К расплавленному МПА добавляют стерильный концентрированный (40%-ный и более) раствор глюкозы из расчета ее содержания в МПА в количестве 1% и дробно стерилизуют текучим паром по 30 мин каждый раз три дня подряд или однократно в автоклаве в течение 30 мин при температуре 105—110°С.

Вместо указанного МПА применяют также готовый сухой питательный агар, из которого готовят питательную среду в соответствии с указаниями, придагаемыми к препарату, и добавляют 1% глюкозы. Каждую новую серию сухого питательного агара обязательно проверяют на качество (ростовые свойства) путем посева разных бактериальных культур. Рост культур контролируют, высевая те же культуры на МПА, который приготавливают в лабораторных условиях. Если рост на среде из сухого питательного агара неудовлетворительный (колоний в посеве вырастает меньше на 15% и более по сравнению с контролем), то к такой среде добавляют в количестве 1/4—1/3 части от первоначально взятого объема МПБ и снова контролируют качество среды.

3.2.3. *Приготовление изотонического раствора хлористого натрия*

В 1 л водопроводной воды растворяют 9,0 г хлористого натрия. Раствор разливают в пробирки по 5 или 10 мл, учитывая, что после стерилизации объем в пробирках должен составлять соответственно 4,5 или 9 мл. Стерилизуют раствор при температуре 120°С в течение 20 мин.

3.2.4. *Приготовление среды Эндо*

К 100 мл 2%-ного МПА (pH 7,4—7,6), расплавленного и охлажденного до 70°С, добавляют 1 г лактозы, растворенной в 5 мл стерильной воды, прогретой в водяной бане при температуре 100°С в течение 5 мин.

В отдельных пробирках готовят 10%-ный спиртовой раствор основного фуксина и 10%-ный водный раствор сернистокислого натрия.

К 0,5 мл отфильтрованного спиртового раствора основного фуксина добавляют водный раствор сернистокислого натрия до получения бледно-розового окрашивания. Приготовленную смесь приливают к 100 мл расплавленного МПа с лактозой, хорошо перемешивают и разливают по чашкам. Среду готовят в день применения. Применяют также и сухую готовую среду Эндо.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.2.5. *Приготовление среды Булира*

К МПБ добавляют 0,25% маннита и pH среды доводят до 7,0—7,4. Затем питательную среду помещают в автоклав, где выдерживают при температуре 115—120°С и кипятят в течение 15 мин. Добавляют насыщенный водный раствор нейтральрота (порошок растворяют в воде, нагретой до кипения) до окрашивания смеси в вишнево-красный цвет. Смесь фильтруют, разливают по 7 мл в пробирки с поплавками и выдерживают в автоклаве при температуре 120°С в течение 15 мин.

3.2.6. *Приготовление реактивов для окраски по Граму*

Реактив 1—кристаллвиолет-карболовый раствор.

1 г кристаллгенцианвиолета или кристаллметилвиолета растирают в фарфоровой ступке с 2 г карболовой кристаллической кислоты и несколькими (3—5) каплями глицерина. Во время растирания небольшими порциями прибавляют 10 мл 96%-ного спирта ректификата. После тщательного растирания приливают при постоянном помешивании 100 мл дистиллированной воды. Раствор оставляют на сутки и фильтруют через бумажный фильтр. Краску используют в течение 1—2 месяцев при условии хранения ее в темном прохладном месте (2—5°С).

Реактив 2—раствор Люголя.

2 г йодистого калия растворяют в 5—10 мл дистиллированной воды, прибавляют 1 г кристаллического йода, раствор оставляют на несколько часов до полного растворения йода и после этого доливают дистиллированной воды до 300 мл.

Реактив 3—96%-ный спирт ректификат.

Реактив 4—спирто-водный раствор фуксина.

Для приготовления реактива растворяют 1 мл насыщенного раствора фуксина (основного фуксина — 8—9 г, спирта этилового —100 мл) в 10 мл дистиллированной воды.

3.2.7. *Приготовление реактивов для окраски по Граму в модификации Калины*

Реактив 1—0,5%-ный спиртовый раствор кристаллвиолета.

Реактив 2—к 70 мл 0,5%-ного спиртового раствора йодистого калия добавляют 10 мл 5%-ного спиртового раствора основного фуксина, 10 мл 10%-ного спиртового раствора йода и 10 мл аце-

тона. Растворение йодистого калия лучше производить, подогревая раствор в водяной бане при температуре 45—50°С.

3.2.8. *Приготовление хромовой смеси для мытья посуды*

Хромовую смесь приготовляют одним из следующих способов.

Способ 1. К 3000 мл концентрированной серной кислоты добавляют 50 г измельченного двухромовокислого калия. Смесь взбалтывают и оставляют до растворения двухромовокислого калия. Через сутки раствор темно-оранжевого цвета может быть применен для мытья посуды. Перед применением смесь подогревают до температуры 45—50°С. Изменение темно-оранжевого цвета смеси на темно-зеленый указывает на ее непригодность.

Способ 2. В 1000 мл дистиллированной воды растворяют 10 г измельченного двухромовокислого калия и, перемешивая жидкость, небольшими порциями вливают 1000 мл концентрированной серной кислоты.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

3.3. Подготовка проб спермы к испытанию

3.3.1. В зависимости от степени ожидаемой контаминации бактериями на одну чашку высевают сперму в количестве от 0,0001 до 0,3 мл. При посеве малых объемов спермы (0,1 мл и меньше) ее разводят стерильным изотоническим раствором хлористого натрия. Объем высеваемого материала на одну чашку должен быть не менее 0,2 и не более 1 мл.

Разведения для посевов готовят следующим образом: к 4,5 или 9 мл стерильного 0,9%-ного раствора хлористого натрия добавляют соответственно 0,5 или 1 мл спермы. Тщательно перемешивают и готовят десятикратные разведения от 1 : 10 до 1 : 1000.

При разведении спермы следует пользоваться одной пипеткой. В этом случае раствор набирают резиновой грушей или полиэтиленовым баллончиком и тщательно (не менее трех раз) промывают пипетку раствором из той пробирки, в которую перенесли суспензию. Если эти требования не могут быть выполнены, то для каждого разведения берут новую стерильную пипетку. Следует учитывать, что приготовление разведений с использованием одной пипетки может привести в отдельных случаях к завышению показателей вследствие адсорбции микроорганизмов на стенках пипетки. В результате адсорбированные микробы могут попадать в пробирку с более высоким разведением.

4. МЕТОДЫ ИСПЫТАНИЙ

Для проведения испытаний используют неразбавленную сперму, хранившуюся не более 6 ч при температуре 2—5°С.

4.1. Определение общего количества бактерий

4.1.1. *Проведение испытания*

Сперму высевают в таком количестве, чтобы на чашках вырастало не более 500 колоний.

Посев производят из разведения спермы 1 : 10 или 1 : 100, приготовленного по п. 3.3, на три чашки или из двух разведений на четыре чашки (по две чашки из каждого разведения) одним из следующих методов.

Поверхностный пластинчатый метод

Посев на поверхность МПА, заранее разлитого в бактериологические чашки. Перед посевом бактериологические чашки с разлитым агаром выдерживают в термостате при температуре 37—37,5°С в течение до 24 ч (проверка на стерильность).

Метод одновременных разливок

Разлив производят в пустые стерильные чашки Петри, предварительно смешав посевной материал с 10—15 мл расплавленного при температуре 45—46°С агара.

Двухслойный метод

Посев на поверхность застывшего МПА, предварительно смешанного с 2—3 мл подогретого 0,75—1%-ного агара.

При посеве на поверхность МПА нанесенную суспензию равномерно распределяют по всей поверхности агара стерильным шпателем, который изготавливают из стеклянной палочки или пастеровской пипетки. Суспензию распределяют до полной ее адсорбции агаром.

Затем чашки закрывают, переворачивают крышками вниз и выдерживают в термостате в течение 48 ч при температуре 37,5±0,5°С.

Количество выросших колоний подсчитывают в каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне. При подсчете пользуются лупой или прибором для счета колоний.

При небольшом количестве выросших колоний подсчитывают их на всей площади чашки. Подсчитанные колонии отмечают на чашке восковым карандашом или чернилами. При сравнительно большом росте микробов дно чашки делят карандашом на секторы (2, 4, 8) и подсчитывают число колоний отдельно в каждом секторе. Полученные числа складывают. При равномерном распределении колоний можно ограничиться подсчетом на 1/2 или 1/4 площади чашки.

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.1.2. *Обработка результатов*

Количество бактерий (C) в 1 мл неразбавленной спермы вычисляют по формуле

$$C=\frac{N\cdot D}{V\cdot S},$$

где N — количество насчитанных колоний;

D — разведение спермы;
V — объем суспензии, взятой для посева, мл;
S — относительный размер площади чашки, на которой был произведен подсчет колоний. Площадь всей чашки принята за 1, площадь половины чашки — 0,5; четверти—0,25 и т. д.

За окончательный результат испытания принимают среднее арифметическое результатов трех определений. Допускаемые расхождения между результатами определений не должны превышать 20%.

Пример. Высеяно 0,5 мл спермы, разбавленной 1 : 10.

Подсчет колоний произведен на 1/4 площади чашки, насчитано 20 колоний:

$$C = \frac{20 \times 10}{0{,}5 \times 0{,}25} = 1600.$$

Следовательно, в 1 мл спермы содержится 1600 бактерий.

При большом количестве выросших колоний (более 500) пользуются камерой Вольфгюгеля для подсчета колоний, которая представляет собой стеклянную пластинку, разделенную на 144 квадрата, каждый из которых имеет площадь 1 см². Для подсчета чашку кладут под стеклянную пластинку и подсчитывают при ярком боковом освещении. При сравнительно равномерном распределении колоний их подсчитывают в 10 квадратах, расположенных в разных участках чашки. Число колоний суммируют.

Количество бактерий (C) в 1 мл неразбавленной спермы вычисляют по формуле

$$C = \frac{N \cdot \pi R^2 \cdot D}{n \cdot V},$$

где N — количество колоний, насчитанных в 10 квадратах;
πR^2 — площадь чашки, см²;
D — разведение спермы;
n — число квадратов, взятых для подсчета колоний;
V — объем суспензии спермы, взятой для посева, мл.

Пример. При высеве 0,5 мл спермы, разведенной 1 : 10, в каждом из квадратов насчитано колоний: 8, 10, 12, 1, 7, 14, 8, 12, 18 и 14.
Всего 114:

$$C = \frac{114 \times 3{,}14 \times 5^2 \times 10}{0{,}5 \times 10} = 17898.$$

При записи результатов подсчета количества бактерий полученные числа округляют в соответствии с табл. 1.

Таблица 1

Количество микробных тел в 1 мл	Округление результатов исследований
От 1 до 100	—
» 101 » 1000	До 10
» 1001 » 10000	» 100
» 10001 » 100000	» 1000
» 100001 » 1000000	» 10000

(Измененная редакция, Изм. № 1).

4.2. Определение коли-титра (коли-индекса) спермы

4.2.1. Бактерии из группы кишечной палочки определяют с целью санитарной оценки спермы.

К группе кишечной палочки относят все разновидности кишечной палочки, способные ферментировать с выделением кислоты и газа жидкую среду, содержащую глюкозу и маннит, в течение 24 ч инкубации при температуре 43—44°С.

Количество кишечной палочки, обнаруженной в сперме, выражают в виде коли-титра (титр кишечной палочки) или коли-индекса.

Коли-титром считают наименьший объем исследуемого материала, выраженный в миллилитрах, в котором обнаружена одна кишечная палочка. Коли-титр выражают также степенью разведения 1 : 10=0,1; 1 : 100=0,01 и т. д.

Коли-индекс — показатель, указывающий на число бактерий кишечной палочки в 1 мл спермы.

Коли-титр можно перевести в коли-индекс и наоборот. Для перевода коли-титра в коли-индекс единицу делят на объем, выражающий коли-титр.

Например, установлен коли-титр, равный 0,01 мл (разведение 1 : 100). Следовательно, коли-индекс будет равен $\frac{1}{0{,}01}=100$, т. е. в 1 мл содержится 100 кишечных палочек.

Для перевода коли-индекса в коли-титр необходимо единицу разделить на число, выражающее коли-индекс.

Например, коли-индекс равен 100. В этом случае коли-титр равен $\frac{1}{100}=0{,}01$.

4.2.2. *Проведение испытания*

Коли-титр определяют методом бродильных проб при посеве на среду Булира. Сущность метода заключается в сбраживании микробами маннита, которое сопровождается выделением газа и изменением цвета среды.

В три пробирки, содержащие 5—7 мл среды Булира, высевают по 1 мл из одного разведения или из различных разведений спермы (*1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000*). Сперму разводят 0,9%-ным стерильным раствором хлористого натра. Если в пробе необходимо определить коли-титр и общее количество бактерий, то высев можно производить одновременно одной пипеткой.

Пробирки с посевом выдерживают в термостате при температуре 43—44°С в течение 18—24 ч. В результате осмотра пробирок устанавливают бродильный титр.

4.2.3. При отсутствии помутнения среды и газообразования реакцию считают отрицательной. При изменении цвета среды (пожелтение, помутнение) и газообразовании (пузырек в газовке), что указывает на размножение в среде микробов из группы кишечной палочки, реакцию считают положительной.

При наличии положительной реакции на бродильный титр проводят исследование на идентификацию кишечной палочки. Для этого из пробирок с измененным цветом среды и газообразованием производят посев на среду Эндо с таким расчетом, чтобы получить отдельные колонии.

Перед посевом дно чашки со средой Эндо делят на четыре сектора. Из каждой пробирки петлей высевают минимальное количество материала на отдельный сектор. Чашки с посевами крышками вниз помещают в термостат при температуре 37,5±0,5°С на 18—24 ч.

При отсутствии роста на среде Эндо колоний, типичных для бактерий группы кишечной палочки, сперму считают не загрязненной микроорганизмами этого вида.

При появлении на среде Эндо колоний, типичных для бактерий группы кишечной палочки (красных, нередко с металлическим блеском, розовых, бледно-розовых), а также бесцветных колоний, проводят их изучение.

4.2.4. *Окраска препаратов*

Из изолированных колоний, характерных для бактерий группы кишечной палочки, приготавливают препараты, которые окрашивают или по методу Грама, или по методу Грама в модификации Калины и микроскопируют.

4.2.4.1. **Окраска по методу Грама**

На мазок культуры, фиксированной на огне, накладывают кусочек фильтровальной бумаги, наливают реактив 1 (см. п. 3.2.6) и выдерживают 1—2 мин. Краску сливают, бумагу снимают и, не промывая препарата водой, наливают раствор Люголя (реактив 2). Выдерживают 1—2 мин до почернения препарата. Сливают раствор Люголя и прополаскивают препарат в 96%-ном спирте в течение 0,5—1 мин, пока не перестанет отходить краситель. Промывают тщательно водопроводной водой. Дополнительно ок-

рашивают 2 мин спирто-водным раствором фуксина (реактив 4). Промывают водой, высушивают и микроскопируют.

4.2.4.2. **Окраска по Граму в модификации Калины**

На чистое, хорошо обезжиренное предметное стекло наносят петлей каплю дистиллированной воды, в которую вносят также петлей небольшое количество агаровой культуры, но не размешивают. Приготавливая препарат из бульонной культуры, на стекло наносят только каплю ее. Затем в каплю агаровой или бульонной культуры вносят петлей каплю реактива 1 (см. п. 3.2.7), смешивают и распределяют на площади примерно 1 см^2, подсушивают при комнатной температуре и фиксируют, проводя медленно один раз через пламя горелки. На одном стекле можно готовить несколько мазков, отделяя их линиями, проведенными с обратной стороны стекла.

После остывания стекла на препарат наносят реактив 2 таким образом, чтобы реактив покрыл всю поверхность стекла. Окрашивают 0,5—1 мин, краску сливают, мазок погружают на 1—2 с в 30%-ный этиловый спирт, ополаскивают проточной водой, высушивают фильтровальной бумагой и микроскопируют с иммерсионной системой.

Микробы, красящиеся по Граму (грам-положительные), окрашиваются в темно-фиолетовый цвет, не красящиеся по Граму (*бактерии грам-отрицательные — группы кишечной палочки*) — в красный цвет.

Для дополнительного контроля может быть поставлена вторая бродильная проба. Для этого из колоний, характерных для кишечной палочки, производят высев в пробирки со средой Булира. Испытания проводят по п. 4.2.2.

4.2.5. *Обработка результатов*

При посеве в три пробирки со средой Булира из одного и того же разведения спермы коли-титр устанавливают по табл. 2.

Таблица 2

Варианты опыта	Разведение спермы, при которой обнаружена (+) или не обнаружена (—) кишечная палочка			Коли-титр, мл
	0,1	0,1	0,1	
А	—	—	—	Св. 0,3
Б	+	—	—	0,3
В	+	+	—	Менее 0,3
Г	+	+	+	Менее 0,3

При посеве в три пробирки со средой Булира из разных разведений спермы коли-титр устанавливают по табл. 3.

Таблица 3

Варианты опыта	Разведение спермы, при которой обнаружена (+) или не обнаружена (—) кишечная палочка			Коли-титр, мл
	0,1	0,01	0,001	
А	—	—	—	Св. 0,111
Б	+	—	—	0,1
В	+	+	—	0,01
Г	+	+	+	Менее 0,001

В зависимости от количества микроорганизмов в 1 мл неразбавленной спермы и коли-титра различают пять степеней чистоты спермы в соответствии с показателями, указанными в табл. 4.

Таблица 4

Степень чистоты спермы	Количество микробных тел в 1 мл	Коли-титр, мл	Санитарная оценка качества спермы
I	—	Св. 0,1 или 0,3	Стерильна
II	До 100	0,1 или 0,3	Незначительно загрязнена
III	» 2000	0,1 или 0,3	Слабо загрязнена
IV	» 5000	0,1 или 0,3	Средне загрязнена
V	Более 5000	0,01 или менее 0,3	Сильно загрязнена

Редактор *А. А. Зимовнова*
Технический редактор *Э. В. Митяй*
Корректор *С. И. Ковалева*

Сдано в наб. 21.10.88 Подп. в печ. 23.12 88 1,0 усл. п. л. 1,0 усл. кр.-отт. 0,99 уч.-изд. л. Тираж 6000 Цена 5 коп.

Ордена «Знак Почета» Издательство стандартов, 123840, Москва, ГСП, Новопресненский пер., д. 3.
Типография Издательства стандартов, ул. Даряус и Гирено, 39. Зак. 2859

gost.e-ecolog.ru