

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Метод микробиологического измерения
концентрации штамма-продуцента
бутанола *Clostridium acetobutylicum* 3108
в воздухе рабочей зоны и атмосферном
воздухе населенных мест**

Методические указания
МУК 4.2.2716—10
МУК 4.2.2726—10

Издание официальное

Москва • 2011

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Метод микробиологического измерения
концентрации штамма-продуцента бутанола
Clostridium acetobutylicum 3108
в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе
населенных мест**

**Методические указания
МУК 4.2.2716—10
МУК 4.2.2726—10**

ББК 51.21
М54

М54 **Метод микробиологического измерения концентрации штамма-продуцента бутанола *Clostridium acetobutylicum* 3108 в воздухе рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест: Методические указания.**—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—15 с.

ISBN 978—5—7508—0953—0

1. Разработаны ФГУН Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов (д.б.н. Н. И. Шеина); ГОУ ВПО Российский государственный медицинский университет (к.б.н. С. Н. Успенская, к.б.н. В. И. Сигаев, к.б.н. А. В. Воробьев).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 10.06.2010 № 1).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 4 августа 2010 г.

4. Введены в действие с 4 октября 2010 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.21

ISBN 978—5—7508—0953—0

© Роспотребнадзор, 2011

© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011

Содержание

| | |
|--|----|
| Метод микробиологического измерения концентрации штамма-продуцента бутанола <i>Clostridium acetobutylicum</i> 3108 в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.2716—10..... | 4 |
| Метод микробиологического измерения концентрации штамма-продуцента бутанола <i>Clostridium acetobutylicum</i> 3108 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.2726—10..... | 10 |

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

4 августа 2010 г.

Дата введения: 4 октября 2010 г.

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Метод микробиологического измерения
концентрации штамма-продуцента бутанола
Clostridium acetobutylicum 3108
в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания
МУК 4.2.2716—10**

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации штамма-продуцента бутанола *Cl. acetobutylicum* 3108 в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 50 до 500 000 клеток в 1 м³ воздуха.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТ 12.1.005—88 «ССБТ. Воздух рабочей зоны. Общие санитарно-гигиенические требования» и ГОСТ Р 8.563—96 «Методики выполнения измерений».

Методические указания предназначены для применения в учреждениях Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также в лабораториях других предприятий, организаций и учреждений, аккредитованных в установленном порядке на право проведения микробиологических исследований.

Методические указания одобрены и рекомендованы секцией «Гигиенические аспекты биотехнологии и микробного загрязнения окружающей среды» Проблемной комиссии «Научные основы гигиены окружающей среды».

2. Биологическая характеристика штамма *Cl. acetobutylicum* 3108 и его гигиенический норматив

Систематическое положение микроорганизма.

| | |
|-----------|-----------------------|
| Класс | <i>Schizomycetes</i> |
| Отряд | <i>Eubacteriales</i> |
| Семейство | <i>Bacillaceae</i> |
| Род | <i>Clostridium</i> |
| Вид | <i>acetobutylicum</i> |
| Штамм | 3108 |

Штамм *Clostridium acetobutylicum* 3108 выделен из почвы, строгий анаэроб, представлен грамположительными спорообразующими прямыми палочками. Палочки размером 0,6—0,9 × 2,4—4,7 мкм подвижны за счет перитрихиальных жгутиков. Образуют центрально расположенные эндоспоры, обычно растягивающие клетку. Обладают сахаролитическими и протеолитическими свойствами. Желатин и глюкозу гидролизуют, ферментируют молоко. Не редуцируют сульфаты. Каталазоотрицательные.

Штамм растет на жидких и агаризованных средах. Оптимальная температура роста 36—37 °С. На твердой питательной среде (картофельно-глюкозный агар) на 2—3-и сутки роста в анаэроостате образует очень мелкие (0,7—1,5 мм), светлые, непигментированные, полупрозрачные круглые колонии однородной структуры, блестящие, с выпуклой гладкой поверхностью.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) штамма в воздухе рабочей зоны — 5 000 кл/м³, пометка А.

3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнения измерений количества клеток микроорганизма *Cl. acetobutylicum* 3108 в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 50 до 500 000 клеток в 1 м³ воздуха при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Метод основан на аспирации из воздуха производственных помещений клеток микроорганизма на плотную картофельно-глюкозную среду, выращивании в анаэроостате в течение 2—3 суток при температуре 36—37 °С и подсчете количества выросших колоний по типичным культурально-морфологическим признакам.

5. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства и материалы.

5.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

| | |
|---|---------------------------|
| Импактор микробиологический «Флора-100» | ТУ 9443-001-05031637—2002 |
| Прибор для бактериологического анализа воздуха, модель 818 (щелевой прибор Кротова) | ТУ 64-12791—77 |
| Прибор MAS – 100 ESO фирмы «Merk» (Германия) для отбора проб воздуха* | |
| Термостаты электрические | ГОСТ 10444.12—88 |
| Автоклав электрический | ГОСТ 9586—75 |
| Бокс, оборудованный бактерицидными лампами | |
| Холодильник бытовой | ГОСТ 26678—85 |
| Весы лабораторные ВЛКТ-500 | ГОСТ 24104—88 |
| Микроскоп биологический с иммерсионной системой типа «Биолам» Л-211 | |
| Лупа с увеличением ×10 | ГОСТ 25706—83 |
| Чашки Петри бактериологические плоскодонные, стеклянные, диаметром 90 мм | ГОСТ 23932—90 |
| Пробирки бактериологические П1 и П2 вместимостью 15 и 20 мл | ГОСТ 25336—82 |
| Пипетки мерные на 1, 5 и 10 мл | ГОСТ 10515—75 |
| Колбы конические вместимостью 250 и 500 мл | ГОСТ 1770—74 |
| Секундомер | ГОСТ 9586—75 |
| Барометр | ГОСТ 246 96—79 |
| Марля медицинская | ГОСТ 9412—77 |
| Вата медицинская гигроскопическая | ГОСТ 25556—81 |

5.2. Реактивы, растворы

| | |
|--|---------------|
| Агар микробиологический | ГОСТ 17206—84 |
| Вода дистиллированная | ГОСТ 6709—72 |
| Спирт этиловый ректификат | ГОСТ 5962—67 |
| Агаризованная картофельно-глюкозная среда (агар – 20 г/л, очищенный и измельченный картофель – 250 г/л, глюкоза – 5 г/л, сульфат аммония – 1,5 г/л, мел – 2,0 г/л, цистеин – | |

* Возможно также использование других сертифицированных аналогов пробоотборника.

0,5 г/л), рН 6,2, режим стерилизации: 1 атм.,
20 мин

6. Требования безопасности

При выполнении измерений концентрации клеток штамма-продуцента в воздухе рабочей зоны соблюдают следующие требования.

6.1. Санитарные правила СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

6.2. Правила техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.005—88.

6.3. Электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019—79 и инструкции по эксплуатации прибора.

6.4. Руководство «Положение об организации работы по технике безопасности в микробиологической промышленности» (1980), «Инструкции по устройству, требованиям безопасности и личной гигиены при работе в микробиологических лабораториях предприятий микробиологической промышленности» (1977).

6.5. Все виды работ с реактивами проводят только в вытяжном шкафу при работающей вентиляции, работа с биологическим материалом осуществляется в боксе, оборудованном бактерицидными лампами.

7. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц с высшим или средним специальным образованием, прошедших соответствующую подготовку и имеющих навыки работы в области микробиологических исследований.

8. Условия измерений

Процессы приготовления растворов и подготовки проб к анализу проводят в нормальных условиях при температуре воздуха $(20 \pm 5) ^\circ\text{C}$, атмосферном давлении 630—800 мм рт. ст. и влажности воздуха не более 80 %.

9. Проведение измерения

9.1. Условия отбора проб воздуха

Для определения концентрации клеток микроорганизма воздух аспирируют при помощи пробоотборника со скоростью 100 л/мин на поверхность плотной питательной картофельно-глюкозной среды. Время

аспирации воздуха (1—5 мин) зависит от предполагаемой концентрации клеток штамма.

Аппарат перед каждым отбором пробы воздуха тщательно протирают спиртом. Особенно тщательно обрабатывают поверхность подвижного диска и внутреннюю стенку прибора; наружную и внутреннюю стенку крышки. На подвижной диск устанавливают подготовленную чашку Петри со средой, одновременно снимая с нее крышку. Прибор закрывают. Соприкосновение крышки прибора со средой недопустимо. После отбора пробы воздуха и остановки диска прибор открывают, быстро снимают чашку Петри и закрывают крышкой от данной чашки. На дне чашки Петри стеклографом отмечают точку контроля, время аспирации и дату отбора пробы.

9.2. Выполнение анализа

При выполнении анализа воздуха картофельно-глюкозную среду расплавляют, остужают до 50—60 °С, тщательно перемешивают и разливают в чашки Петри. Чашки с застывшей средой помещают в термостат на сутки при температуре 37 °С, после чего проросшие чашки бракуют, стерильные чашки используют для контроля воздуха.

После отбора проб воздуха чашки Петри помещают в анаэроостат и термостатируют при температуре 36—37 °С. Через 48—72 ч производят подсчет выросших колоний по культурально-морфологическим признакам.

Ростовые свойства используемой питательной среды должны быть проверены в соответствии с «Требованиями к ростовым свойствам питательных сред» (Государственная Фармакопея СССР, изд. XI, вып. 2, с. 208), что позволит более полно оценить пределы ошибки метода. Для этого эталонный музейный штамм-продуцент высевается на 2—3 чашки используемой среды, термостатируется в анаэроостате и на 2—3-и сутки производится подсчет выросших колоний.

Лиофилизованную культуру музейного штамма необходимо использовать в 2—3 пассажа во избежание потери им заданных ростовых свойств.

10. Вычисление результатов измерения

Расчет концентрации клеток продуцента в пересчете на 1 м³ воздуха производят по формуле:

$$X = \frac{N \cdot 1\,000}{V}, \text{ кл./м}^3, \text{ где}$$

X — концентрация клеток продуцента в воздухе;

N – количество зон вокруг колоний продуцента, выросших на чашке;
 1 000 – коэффициент пересчета на 1 м³ воздуха;
 V – объем воздуха, л (произведение скорости на время аспирации).

11. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют протоколом по форме:

Протокол №

количественного микробиологического анализа штамма-продуцента *Cl. acetobutylicum* в воздухе рабочей зоны

1. Наименование и адрес испытательной лаборатории (центра), проводящей измерения, аттестат аккредитации лаборатории.
2. Юридический и фактический адрес организации-заказчика.
3. Идентификация используемого метода, методики, ссылки на методы, используемые испытательной лабораторией.
4. Описание состояния объекта исследования.
5. Дата получения объекта измерений и дата проведения анализа.
6. Место отбора пробы.

7. Результаты микробиологического анализа

| Шифр или № пробы | Определяемый микроорганизм | Концентрация, кл./м ³ |
|------------------|----------------------------|----------------------------------|
| | | |

Ответственный исполнитель:

Научный руководитель:

Список литературы

1. ГОСТ 12.1.005—88 «ССБТ. Воздух рабочей зоны. Общие санитарно-гигиенические требования».
2. ГОСТ 8.563—96 ГСИ «Методики выполнения измерений».
3. Положение об организации работы по технике безопасности в микробиологической промышленности. М., 1980. 27 с.
4. Инструкции по устройству, требованиям безопасности и личной гигиены при работе в микробиологических лабораториях предприятий микробиологической промышленности. М., 1977. 7 с.

**Метод микробиологического измерения концентрации штамма-
продуцента бутанола *Clostridium acetobutylicum* 3108 в воздухе
рабочей зоны и атмосферном воздухе населенных мест**

**Методические указания
МУК 4.2.2716—10
МУК 4.2.2726—10**

Редактор Е. В. Николаева
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 21.01.11

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 1,0
Заказ 11

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89