

**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации**

**Государственные санитарно-эпидемиологические
правила и гигиенические нормативы**

2.2.6. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ

**Предельно допустимые концентрации
(ПДК) микроорганизмов-продуцентов,
бактериальных препаратов и их
компонентов в воздухе рабочей зоны**

**Гигиенические нормативы
ГН 2.1.6.1762—03**

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания

МУК 4.2.1776—03

МУК 4.2.1777—03

МУК 4.2.1778—03

МУК 4.2.1779—03

МУК 4.2.1780—03

МУК 4.2.1781—03

МУК 4.2.1782—03

МУК 4.2.1783—03

МУК 4.2.1784—03

Издание официальное

**Минздрав России
Москва 2004**

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Методические указания

МУК 4.2.1776–03

МУК 4.2.1777–03

МУК 4.2.1778–03

МУК 4.2.1779–03

МУК 4.2.1780–03

МУК 4.2.1781–03

МУК 4.2.1782–03

МУК 4.2.1783–03

МУК 4.2.1784–03

ББК 51.21
М54

**М54 Методические указания.—М.: Федеральный центр гос-
санэпиднадзора Минздрава России, 2004.—61 с.**

ISBN 5—7508—0529—8

1. Разработаны: Российским государственным медицинским универ-
ситетом (к. б. н. Н. И. Шенной).

2. Утверждены Первым заместителем министра здравоохранения
Российской Федерации – Главным государственным санитарным врачом
Российской Федерации 24 октября 2003 г

3. Введены в действие с 1 декабря 2003 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.21

ISBN 5--7508--0529--8

© Минздрав России, 2004

© Федеральный центр госсанэпиднадзора
Минздрава России, 2004

УТВЕРЖДАЮ

Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра
здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко

24 октября 2003 г.

Дата введения: 1 декабря 2003 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Метод микробиологического измерения концентрации
клеток *Aspergillus awamori* ВНИИгенетика 120/177 –
продуцента глюкоамилазы в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания
МУК 4.2.1776—03**

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации клеток штамма *Aspergillus awamori* ВНИИгенетика 120/177 – продуцента глюкоамилазы в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 100 до 5 000 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 лабораториях 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 *Aspergillus awamori* ВНИИгенетика 120/177 и его гигиенический норматив

На 5 день развития на сусло-агаре штамм образует крупные ровные круглые колонии, средний диаметр которых составляет 0,5—1,0 см, а максимальный — 1,5—3,0 см. Край колоний ровный. Колонии гомогенные, гладкие, плоские.

При температуре 38—42 °С штамм-продуцент появляется на сусло-агаре в виде маленьких белых колоний уже на 1—2 дни. На 3-й день в среду выделяется оранжево-желтый пигмент, процесс спорообразования идет интенсивнее. Образование конидиеносцев с конидиями придает колониям глубокий интенсивно-серый цвет. Колонии становятся опущенными и приподнимаются над средой.

Систематическое положение микроорганизма

Класс	<i>Fungi imperfecti</i>
Порядок	<i>Hyphomycetales</i>
Семейство	<i>Mucedinaceae</i>
Секция	<i>Monoverticillata</i>
Род	<i>Aspergillus</i>
Вид	<i>awamori</i>
Штамм	ВНИИгенетика 120/177

Штамм *Aspergillus awamori* 120/177 получен во ВНИИгенетика как мутант из *A. awamori* С529Д 466 и депонирован в ЦМПМ института. Штамм является продуцентом глюкоамилазы.

Штамм-продуцент растет на жидких и агаризованных средах. Оптимальная температура роста 27—30 °С, рН среды 5,0—6,0, культивирование 7 суток. Для размножения используется агаризованная среда Чапека, сусло-агар 5—6° Б, картофельно-сахарозный агар.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны — 2 000 кл./м³, А.

3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества клеток плесневого гриба в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 100 до 5 000 клеток в 1 м³ воздуха при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Метод основан на аспирации из воздуха клеток плесневого гриба на поверхность среды сусло-агар и подсчета выросших колоний по ти-

пичным культурально-морфологическим признакам и яркому оранжево-желтому окрашиванию субстрата на 3 сутки.

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

Прибор для бактериологического анализа воздуха, модель 818 (щелевой прибор Кротова)	ТУ 64-12791—77
Термостаты электрические суховоздушные или водяные	
Автоклав электрический	ГОСТ 9586—75
Бокс, оборудованный бактерицидными лампами	
Холодильник бытовой	
Весы лабораторные, аналитические типа ВЛА-200	
Микроскоп биологический с иммерсионной системой типа «Биолам» Л-211	
Лупа с увеличением $\times 10$	ГОСТ 25706—83
Чашки Петри бактериологические плоскодонные, стеклянные, диаметром 100 мм	
Пробирки биологические, вместимостью 20 и 35 мл	ГОСТ 10515—75
Пипетки мерные на 1, 5 и 10 мл	ГОСТ 10515—75
Пипетки мерные на 1, 5, и 10 мл	ГОСТ 1770—74
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

Среда сусло-агар: солодовое сусло (значение Баллинга от 5 до 6°) – 98 %, агар-агар – 2 %, рН среды 5,0–6,0, режим стерилизации: 1,1—1,2 ати, 40 мин	
Спирт этиловый ректификат	ГОСТ 5962—67

Молочная кислота, синоним-альфа-оксипропионовая кислота (для подавления посторонней бактериальной флоры)

ГОСТ 490—79

6. Требования безопасности

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

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

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

6.3. 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).

6.4. 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 ± 5 °С), 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 плесневого гриба воздух аспирируют при помощи аппарата Кротова со скоростью 10 л/мин на поверхность среды сусло-агар. Время аспирации воздуха (1—10 мин) зависит от предполагаемой концентрации клеток штамма-продуцента.

Аппарат Кротова 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

Метод предполагает учет количества типичных колоний, выросших на 3 сутки после посева проб воздуха по культурально-морфологическим признакам и яркой оранжево-желтой пигментации среды. Прямой метод позволяет учитывать на чашке до 200 колоний продуцента.

Агаризованную среду сусло-агар расплавляют, остужают до 50—60 °С, добавляют молочную кислоту из расчета 2 мл на 0,5 л среды (для подавления посторонней бактериальной микрофлоры), тщательно перемешивают и разливают по 10 мл в стеклянные чашки Петри на горизонтальной поверхности.

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 термостат при температуре 38—42 °С (повышенная температура, способствующая более быстрому росту колоний и плодоношений рода *Aspergillus*). Через 2—3 суток производят подсчет выросших типичных колоний продуцента. При необходимости культуру подвергают микроскопированию.

10. Вычисление результатов измерения

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

$$X = \frac{N \cdot 1000}{V}, \text{ кл./м}^3, \text{ где}$$

X — концентрация клеток продуцента в воздухе;

N — количество 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 *Aspergillus awamori* ВНИИгенетика 120/177
в воздухе рабочей зоны

1. Дата проведения анализа _____
2. Место отбора пробы _____
3. Название лаборатории _____
4. Юридический адрес организации _____

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
5. Влодавец В. В. К определению плесневых грибов рода *Aspergillus* в воздухе лечебных учреждений //Гиг. и сан., 1988, № 8, С 93—95.
6. Бабьева И П., Зенова Г М Биология почв.—М., МГУ 122 с.

Содержание

Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны: ГН 2.1.6.1762—03	1
Метод микробиологического измерения концентрации клеток <i>Aspergillus awamori</i> ВНИИгенетика 120/177 – продуцента глюкоамилазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1776—03.....	9
Метод микробиологического измерения концентрации клеток <i>Aspergillus terreus</i> 44-62 – продуцента ловастагина в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1777—03	15
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Bacillus subtilis</i> 65 – продуцента нейтральной протеиназы и амилазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1778—03	21
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Bacillus subtilis</i> 72 – продуцента щелочной протеазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1779—03	27
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Bacillus subtilis</i> 103 (Ч-15) – продуцента нейтральной протеазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1780—03	33
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Bacillus licheniformis</i> 1001 – продуцента бацитрацина в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1781—03.....	40
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Candida tropicalis</i> Y-456 – продуцента ксилита в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1782—03	47
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Penicillium canescens</i> F-832 – продуцента ксиланазы в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1783—03	53
Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма <i>Trichoderma viride</i> 44-11-62/3 – продуцента комплекса целлюлолитических ферментов в воздухе рабочей зоны: МУК 4.2.1784—03	60

**Предельно допустимые концентрации (ПДК)
микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов
и их компонентов в воздухе рабочей зоны**

**Гигиенические нормативы
ГН 2.1.6.1762—03**

**Методические указания
МУК 4.2.1776—4.2.1784—03**

Тираж 50 экз Заказ № 2095

Отпечатано в ФГУП ЦПП