Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

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

gost.e-ecolog.ru

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

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 атмосферном воздухе населенных мест

Методические указания МУК 4.2.2726—10

1. Общие положения и область применения

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации клеток штамма *Clostridium acetobutylicum* 3108 – продуцента бутанола в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 50 до 50 000 клеток в 1 $м^3$ воздуха.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» 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 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 *Clostridium acetobutylicum* 3108 и его гигиенический норматив

Систéматическое положение микроорганизма.

Класс	Schizomycetes
Отряд	Eubacteriales
Семейство	Bacillaceae
Род	Clostridium
Вид	acetobutylicum
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 анаэростате 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 атмосферном воздухе населенных мест – 500 кл./м^3, пометка А.

3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества клеток плесневого гриба в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 10 до 50 000 клеток в 1 м^3 воздуха при доверительной вероятности 0,95.

4. Метод измерений

Метод основан на аспирации из атмосферного воздуха клеток микроорганизма на плотную картофельно-глюкозную среду, выращивании в анаэростате 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 ECO 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 24696—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), pH 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. «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 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 штамма-продуцента воздух аспирируют при помощи пробоотборника со скоростью *100 л/мин* на поверхность агаризованной среды. Время аспирации воздуха (1—5 мин) зависит от предполагаемой концентрации клеток штамма-продуцента.

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 анаэростат 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 анаэростате 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 м^3 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 колоний продуцента, выросших на чашке;

1 000 – коэффициент пересчета на 1 м^3 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 в атмосферном воздухе населенных мест

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. РД 52.04.186—96 «Руководство по контролю загрязнения атмосферы». М., 1991. 693 с.
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. ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ». М.: Изд-во стандартов, 1981. 3 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 Печ. л. 1,0
Тираж 200 экз. 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

gost.e-ecolog.ru