

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

**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<sup>3</sup> 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

Систематическое 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  $0,6—0,9 \times 2,4—4,7$  мкм подвижны за счет перитрихальных 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 анаэроstate 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<sup>3</sup>, 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<sup>3</sup> 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 анаэроstate 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), 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. «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  $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ , 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 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 анаэробстат 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 анаэробстате 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<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> 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 <sup>3</sup>

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

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