

**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 м<sup>3</sup> 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* C529Д 466 и депонирован в ЦМПМ института. Штамм является продуцентом глюкоамилазы.

Штамм-продуцент растет на жидких и агаризованных средах. Оптимальная температура роста 27—30 °С, pH 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./м<sup>3</sup>, 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 м<sup>3</sup> 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 %, pH среды 5,0—6,0, режим стерилизации: 1,1—

1,2 атм, 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 ( $20 \pm 5^\circ\text{C}$ ), 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 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 среды 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 пробы 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 м<sup>3</sup> 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 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 *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<br>№ пробы | Определяемый<br>микроорганизм | Концентрация,<br>кл /м <sup>3</sup> |
|---------------------|-------------------------------|-------------------------------------|
|                     |                               |                                     |

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 ловастатиона 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*