

**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**

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 микроорганизма *Candida tropicalis* Y-456 –  
продуцента ксилита в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания  
МУК 4.2.1782—03**

---

**1. Общие положения и область применения**

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации клеток штамма *Candida tropicalis* Y-456 – продуцента ксилита в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 10 до 3 000 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 *Candida tropicalis* Y-456 и  
его гигиенический норматив**

На сусло-агаре на 2—3 сутки штамм образует круглые кремоватые колонии с ровным краем, средний диаметр изолированных колоний со-

ставляет 0,3 см, а максимальный – 0,8 см. В центре колоний образуется небольшое возвышение – «бугорок», на среде появляется маленькое желто-оранжевое окрашивание. Консистенция колоний мягкая, неплотная, вязкая. Поверхность гладкая, слегка матовая.

Морфологически штамм представлен полиморфными клетками: округлые, овальные, большей частью одиночные 2—4 мкм, иногда цепочки или конгломераты из вытянутых клеток 10—12 мкм. Наблюдается обилие бластоспор.

При выращивании на кукурузном агаре по Дальмау в чашках Петри обильно образуются с многократными разветвлениями и бластокогнидиями, расположенными одиночно или цепочками вдоль гиф (7).

*Систематическое положение микроорганизма.*

Класс *Fungi imperfecti*

Порядок *Blastomycetales*

Род *Candida*

Вид *tropicalis*

Штамм Y-456

Штамм получен из ЦМПМ ВНИИгенетика как продуцент этанола и селективирован по признаку формирования крупных колоний на средах с ксилитом. Штамм является продуцентом ксилита. Продуктивность на средах с 5 % содержанием ксилиты: максимальная – 80 % ксилита, средняя – 78,8—76,2 % (39,5 г/л) ксилита.

Штамм-продуцент растет на жидких и агаризованных средах. Оптимальная температура роста 35—37 °С, рН среды – 5,0—6,0. Для размножения используется сусло-агар 5—6 °Б, среда ДАП – глюкоза (ксилоза) – 20 г, дрожжевой экстракт – 2,0 г, пептон – 2 г, агар-агар – 20 г, вода – 1 л, рН среды – 5,0—6,0.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в воздухе рабочей зоны – 300 кл./м<sup>3</sup>, пометка А.

### 3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества клеток плесневого гриба в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 10 до 3 000 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 типичным культурально-морфологическим признакам на 2 сутки. В качестве дополнительного контроля предлагается отбор пробы на чашку Петри с селективной средой для дифференцирования *C. tropicalis* от

других дрожжеподобных грибов, обладающих способностью к образованию ростковых трубок (8,9).

### 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—77
Антибиотик биомицин (хлортетрациклина гидрохлорид)	

Сыворотка или плазма крови человека  
(вместо них можно использовать среду 199)

## **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 ( $20 \pm 5$  °С), атмосферном давлении 630- 800 мм рт. ст и влажности воздуха не более 80 %.

## **9. Проведение измерений**

### **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 подготовлен-

ную 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 2 сутки после посева проб воздуха по культурально-морфологическим признакам. Метод позволяет учитывать на чашке до 200 колоний продуцента.

Агаризованную среду сусло-агар расплавляют, остужают до 50—60 °С, добавляют антибиотик биомицин из расчета 100 мг/л (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 37 °С. Через 2 суток производят подсчет выросших типичных колоний продуцента. При необходимости культуру подвергают микроскопированию.

Для постановки дополнительного контроля в среду добавляют сыворожку или плазму крови человека (можно также заменить средой 199) из расчета 0,5 мл сыворотки на 5 мл среды. После отбора проб инкубируют при 37 °С в течение 3 часов. При микроскопировании некоторые дрожжеподобные грибы (*S. albicans*) в отличие от *S. tropicalis* на селективной среде образуют ростковые трубки диаметром 3—4 мкм и длиной до 20 мкм (они сходны с мицелием, но не дают сужения в месте прикрепления к дрожжевой клетке).

## 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 *Candida tropicalis*.У-456 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 <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., Немыря В. И. Санитарно-микологический контроль объектов окружающей среды на предприятиях микробиологической промышленности //Гиг. и сан., 1977. № 1. С. 25—28.
6. Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв.—М.: МГУ. С. 332.
7. Сагтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов.—М.: Мир, 2001. 110 с.
8. Кашкин П. Н., Лисин В. В. Практическое руководство по медицинской микологии.—М.: Медицина, 1983. 153 с.
9. Kwon-Chung K. J., Bennett J. E. Medical mycology. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992. P. 61—62.



## 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*