

Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование  
Российской Федерации  
Государственные санитарно-эпидемиологические  
правила и нормативы

---

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ  
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Метод  
микробиологического измерения  
концентрации клеток микроорганизма  
*Acinetobacter species JN-2*  
(препарата Дестройл)  
в воздухе рабочей зоны**

Методические указания  
МУК 4.2.2427—08

Издание официальное

Москва  
2009

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека**

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ  
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Метод  
микробиологического измерения  
концентрации клеток микроорганизма  
*Acinetobacter species JN-2* (препарата Дестройл)  
в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания  
МУК 4.2.2427—08**

ББК 51.21  
М54

**М54** Метод микробиологического измерения концентрации клеток микроорганизма *Acinetobacter species JN-2* (препарата Дестройл) в воздухе рабочей зоны: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—11 с.

ISBN 978—5—7508—0867—0

1. Разработаны в ФГУН «Новосибирский научно-исследовательский институт гигиены Роспотребнадзора» (к. м. н. В. А. Копанев).

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 3 июля 2008 г. № 2).

3. Утверждены и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 29 октября 2008 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.21**

© Роспотребнадзор, 2009  
© Федеральный центр гигиены  
и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

**Содержание**

1. Общие положения и область применения.....	10
2. Характеристика препарата Дестройл.....	11
3. Физико-химические и биологические показатели препарата Дестройл.....	11
4. Биологическая характеристика <i>Acinetobacter species JN-2</i> .....	11
5. Пределы измерений.....	12
6. Метод измерений.....	12
7. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы .....	12
8. Требования безопасности .....	14
9. Требования к квалификации операторов .....	14
10. Условия измерений .....	14
11. Проведение измерения.....	14
12. Вычисление результатов измерения .....	15
13. Оформление результатов измерений .....	16
14. Список литературы.....	16

**УТВЕРЖДАЮ**

Руководитель Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав  
потребителей и благополучия человека,  
Главный государственный санитарный врач  
Российской Федерации

Г. Г. Онищенко

29 октября 2008 г.

Дата введения: с момента утверждения

**4.2.МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ  
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Метод микробиологического измерения  
концентрации клеток микроорганизма  
*Acinetobacter species JN-2* (препарата Дестройл)  
в воздухе рабочей зоны**

**Методические указания  
МУК 4.2.2427—08**

---

**1. Общие положения и область применения**

Настоящие методические указания устанавливают методику проведения микробиологического количественного анализа концентрации клеток штамма *Acinetobacter species JN-2* (препарата Дестройл) в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 10 до 500 000 клеток в 1 м<sup>3</sup> воздуха.

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ГОСТов 12.1.005—88 «ССБТ. Воздух рабочей зоны. Общие санитарно-гигиенические требования» и Р8.563—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 других 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. Характеристика препарата Дестройл

Бактериальный препарат Дестройл является продуктом микробиологического синтеза на основе культуры *Acinetobacter species JN-2*.

Препарат Дестройл представляет собой тонко измельченный порошок, состоящий из вегетативных клеток культуры-продуцента, остатков питательной среды и метаболитов, стабилизирующих добавок и наполнителей.

Препарат обладает высоко выраженной окислительной активностью в отношении углеводородов нефти и нефтепродуктов, вызывая в них глубокие необратимые процессы деградации до остаточных продуктов, относящихся к экологически нейтральным соединениям.

Дестройл применяют для очистки почвы и воды, кроме водоемов 1-го и 2-го классов водопользования, от загрязнений сырой нефтью и её продуктами.

В воздухе может находиться в виде аэрозоля. Препарат не обладает раздражающим и резорбтивным действиями, кумулятивные свойства выражены слабо ( $K_{\text{кум}} > 5$ ).

ПДК в воздухе рабочей зоны — 50 000 м.кл/м<sup>3</sup>.

## 3. Физико-химические и биологические показатели препарата Дестройл

Мелкодисперсный порошок	
Цвет	от светло-желтого до светло-коричневого.
Фракционный состав	500 мкм — 3,5 %, 150 мкм — 70 %.
Массовая доля влаги (%)	не более 10,0.
Растворимость в воде	0,8—1,1 %.
Степень биохимического окисления нефтепродуктов (%)	не менее 75,0.
Количество жизнеспособных бактериальных клеток в 1 г	не менее $1 \cdot 10^8$ .

## 4. Биологическая характеристика *Acinetobacter species JN-2*

Бактерии — неспоровые, неподвижные, грамотрицательные. Культура представлена очень короткими, толстыми палочками

(коккоидными палочками), преимущественно в парах в молодом возрасте, в стационарной фазе роста — кокками. Средний размер клеток (20 ч, среда Хоттингера) 1,0—1,5 мкм. Двухсуточные колонии, выращенные при 32 °С — круглые, каплевидные, бесцветные, непрозрачные, диаметр — 1—2 мм. Пятисуточные колонии — диаметр 2—3 мм.

Устойчивы к пенициллину.

Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под названием *Acinetobacter species JN*.

## 5. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества клеток микроорганизма в воздухе рабочей зоны в диапазоне концентраций от 10 до 500 000 клеток в 1 м<sup>3</sup> воздуха при доверительной вероятности 0,95.

Пределы относительной погрешности при отборе заданного объема воздуха — 25 %.

## 6. Метод измерений

Определение основано на использовании пробоотборного устройства электрического ПУ-1Б, предназначенного для автоматического отбора проб биологических аэрозолей при проведении санитарного контроля воздуха рабочей зоны.

Устройство обеспечивает отбор проб аэрозолей на плотную питательную среду импактационным осаждением аэрозольных частиц размером 1,5 мкм.

## 7. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства и материалы.

### 7.1. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы

Устройство пробоотборное ПУ-1Б

Прибор для бактериологического анализа воздуха, модель 818 (шелевой прибор Кротова)

ТУ 64-12791—77

Прибор для подсчета колоний микроорганизмов

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 плоскостонные, стеклянные, диаметром 90 мм	ГОСТ 23932—90
Пробирки бактериологические П <sub>1</sub> и П <sub>2</sub> , вместимостью 15 и 20 мл	ГОСТ 25336—82
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 24696—79
Марля медицинская	ГОСТ 9412—77
Вата медицинская гигроскопическая	ГОСТ 25556—81

### *7.2. Реактивы, растворы*

Агар микробиологический	ГОСТ 17206—84
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—72
Антибиотик: бензилпенициллина натриевая соль	
Спирт этиловый ректификат	ГОСТ 5962—67
Агаризованная среда МПА (агар — 1,5—1,8 %, рН 7,5—7,8, режим стерилизации 1,1—1,2 аги в течение 30 мин)	



## 8. Требования безопасности

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

8.1. Санитарные правила СП 1.2.731—99 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности и гельминтами».

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

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

8.4. 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).

8.5. Все виды работ с реактивами проводят только в вытяжном шкафу при работающей вентиляции, работа с биологическим материалом осуществляется в боксе, оборудованном бактерицидными лампами.

## 9. 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.

## 10. 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 %.

## 11. Проведение измерения

### 11.1. Условия отбора проб воздуха

Для определения концентрации клеток микроорганизма воздух аспирируют при помощи пробоотборника со скоростью 10 л/мин на поверхность плотной питательной агаризованной среды. Время аспирации воздуха (1—10 мин) зависит от предполагаемой концентрации клеток штамма-продуцента.

Аппарат перед каждым отбором пробы воздуха протирают спиртом. Особенно тщательно обрабатывают поверхность подвижного диска и внутреннюю стенку прибора; наружную и внутреннюю стенку крышки. На подвижной диск устанавливают подготов-

ленную чашку Петри со средой, снимают 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. На дне чашки Петри стеклографом отмечают точку контроля, время аспирации и дату отбора пробы.

### **11.2. Выполнение анализа**

При выполнении анализа воздуха прямым методом агаризованную среду МПА расплавляют, остужают до 50—60 °С, добавляют свежеприготовленный в стерильной дистиллированной воде раствор антибиотика бензилпенициллина натриевая соль из расчета 180—210 мкг/мл среды (для подавления посторонней бактериальной микрофлоры), 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 термостат с температурой 29—31 °С. Через 24 часа производят подсчет выросших колоний по культурально-морфологическим признакам (прямой метод).

Ростовые свойства всех используемых питательных сред 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 каждой используемой среды.

## **12. Вычисление результатов измерения**

Расчет концентрации клеток продуцента в пересчете на 1 м<sup>3</sup> воздуха производят по формуле:

$$C = 1\,000 \cdot (P/Q), \text{ где}$$

- C — количество микробных клеток в воздухе (кл./м<sup>3</sup>),
- P — число микробных клеток в отобранной пробе воздуха,
- Q — объем отобранной пробы, л.

В случае невозможности использования пробоотборника, рекомендуем применять метод седиментации клеток продуцента из воздуха непосредственно на чашки Петри с плотной питательной средой. Время отбора проб воздуха может составлять до 30 мин.

При использовании этого метода пользуются следующим расчетом концентрации клеток продуцента: эмпирически установле-

но, что за 5 мин на площадь 100 см<sup>2</sup> оседает количество бактерий, содержащееся в 10 л воздуха, следовательно, за 1 мин — количество бактерий из 2 л воздуха. Площадь чашки Петри диаметром 100 мм равна 78,54 см<sup>2</sup>. Составляя пропорцию, определяем, что за 1 мин на стеклянную чашку Петри оседают клетки из 1,57 л. Количество клеток в 1 м<sup>3</sup> воздуха определяем по вышеприведенной формуле, где  $Q = 1,57 \text{ л/мин} \cdot t$  (время аспирации, мин).

Предлагаемый метод является ориентировочным и может быть использован как вспомогательный.

### 13. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют протоколом по нижеприведенной форме.

Протокол № \_\_\_\_\_

**количественного микробиологического анализа штамма-продуцента *Acinetobacter species JN* (препарат Дестройл) 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 \_\_\_\_\_

### 14. 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.