

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

**Измерение концентраций штаммов  
микроорганизмов в атмосферном воздухе  
населенных мест**

**Сборник методических указаний**

**МУК 4.2.3249—14**

**МУК 4.2.3251—14**

**МУК 4.2.3253—14**

**МУК 4.2.3255—14**

**МУК 4.2.3257—14**

**Выпуск 1**

**Издание официальное**

**Москва • 2015**

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

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

**Измерение концентраций штаммов  
микроорганизмов в атмосферном воздухе  
населенных мест**

**Сборник методических указаний**

**МУК 4.2.3249—14**

**МУК 4.2.3251—14**

**МУК 4.2.3253—14**

**МУК 4.2.3255—14**

**МУК 4.2.3257—14**

**Выпуск 1**

ББК 51.21  
ИЗ7

**ИЗ7** Измерение концентраций штаммов микроорганизмов в атмосферном воздухе населенных мест: Сборник методических указаний. Вып. 1.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—40 с.

ISBN 978—5—7508—1414—5

1. Разработаны и подготовлены ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России (д.б.н. Н. И. Шеина).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 6.11.2014 № 2).

3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 30 декабря 2014 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.21**

Ответственный за выпуск Н. В. Митрохина

Редактор Л. С. Кучурова  
Компьютерная вёрстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 21.08.15

Формат 60x88/16

Тираж 150 экз.

Печ. л. 2,5  
Заказ 54

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

© Роспотребнадзор, 2015

© Федеральный центр гигиены и  
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015

МУК 4.2.3249—14, 4.2.3251—14, 4.2.3253—14,  
4.2.3255—14, 4.2.3257—14

## Содержание

Микробиологическое измерение концентрации <i>Rhodococcus jialingiae</i> 1кп ВКПМ Ас-1957 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.3249—14 .....	5
Микробиологическое измерение концентрации <i>Azotobacter chroococcum</i> ВН-1811 ВКПМ В-9029 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.3251—14 .....	12
Микробиологическое измерение концентрации <i>Bacillus mucilaginosus</i> Вас-10 ВКПМ В-8966 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.3253—14 .....	19
Микробиологическое измерение концентрации <i>L. xylanilyticus</i> 5rb ВКПМ В-11685 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.3255—14 .....	26
Микробиологическое измерение концентрации <i>Yarrowia lipolytica</i> 2кп ВКПМ У-4043 в атмосферном воздухе населенных мест: МУК 4.2.3257—14 .....	33

МУК 4.2.3249—14, 4.2.3251—14, 4.2.3253—14,  
4.2.3255—14, 4.2.3257—14

## **Введение**

Сборник методических указаний «Измерение концентраций штаммов микроорганизмов в атмосферном воздухе населенных мест» (выпуск 1) разработан с целью обеспечения контроля соответствия фактических концентраций микроорганизмов их предельно допустимым концентрациям (ПДК), что является обязательным при осуществлении санитарно-эпидемиологического контроля.

Включенные в данный сборник методические указания по контролю биотехнологических штаммов в атмосферном воздухе населенных мест разработаны в соответствии с требованиями ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» и Р 8.563—96 «Методики выполнения измерений».

Методики выполнены с использованием современных и адекватных микробиологических методов исследования и позволяют контролировать концентрации биотехнологических штаммов микроорганизмов на уровне и ниже их ПДК в атмосферном воздухе населенных мест, установленных в гигиенических нормативах.

Методические указания по измерению концентраций штаммов микроорганизмов в атмосферном воздухе населенных мест предназначены для лабораторий центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, санитарно-микробиологических лабораторий промышленных предприятий, а также для научно-исследовательских институтов и других заинтересованных министерств и ведомств, аккредитованных в установленном порядке на право проведения микробиологических исследований, для осуществления контроля за содержанием штаммов в атмосферном воздухе населенных мест.

УТВЕРЖДАЮ

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

А. Ю. Попова

30 декабря 2014 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Микробиологическое измерение концентрации  
*Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966  
в атмосферном воздухе населенных мест**

**Методические указания  
МУК 4.2.3253—14**

---

**1. Общие положения и область применения**

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода микробиологического количественного анализа концентрации *Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966 в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 50 до 50 000 клеток в 1 м<sup>3</sup> воздуха.

1.2. Методические указания носят рекомендательный характер.

**2. Биологическая характеристика штамма *Bacillus mucilaginosus*  
Вас-10 ВКПМ В-8966 и его гигиенический норматив  
в атмосферном воздухе населенных мест**

Штамм *Bacillus mucilaginosus* Вас10 выделен из биоматериалов, не является генетически модифицированным штаммом. Предполагается использовать для производства биоудобрений в растениеводстве.

Штамм характеризуется следующими культурально-морфологическими признаками: на среде Эшби и глюкозо-пептонном агаре наблюдаются крупные колонии слизистые, прозрачные, выпуклые, блестящие с ровными краями.

Микроскопически различаются клетки палочковидные, правильной формы, с закругленными краями, часто располагаются парами. Наблюдаются мощные слизистые капсулы, окружающие клетки.

Для культивирования используется агаризованная среда Эшби, оптимальная температура  $(30 \pm 2)$  °С.

Штамм *Bacillus mucilaginosus* Bac10 депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером ВКПМ В-8966.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) в атмосферном воздухе населенных мест — 5 000 кл/м<sup>3</sup>.

### 3. Пределы измерений

Методика обеспечивает выполнение измерений количества штамма в атмосферном воздухе населенных мест в диапазоне концентраций от 50 до 50 000 клеток в 1 м<sup>3</sup> воздуха при доверительной вероятности 0,95.

### 4. Методы измерений

Прямой метод основан на аспирации из атмосферного воздуха населенных мест бактерий на глюкозо-пептонный агар и подсчета 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, реактивы и питательные среды.

#### 5.1. Средства измерений

Барометр-анероид с диапазоном измерения атмосферного давления 5—790 мм рт. ст. и пределом допустимой погрешности  $\pm 2,5$  мм рт. ст.

ТУ 2504-1799—75

Весы лабораторные, аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности  $\pm 0,2$  мг

ГОСТ Р 53228—08

Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2, 2-1000-2

ГОСТ 1770—74

Пипетки градуированные 2-го класса точности емкостью 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 см <sup>3</sup>	ГОСТ 29227—91
Цилиндры мерные 2-го класса точности емкостью 25 и 50 см <sup>3</sup>	ГОСТ 1770—74
Термометр лабораторный шкальный, пределы измерения 0—55 °С	ТУ 25-2021.003—88
Аспирационный аппарат и устройство для отбора проб воздуха	

**Примечание.** Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *5.2. Вспомогательные устройства и материалы*

Шкаф сушильный стерилизационный, позволяющий поддерживать температуру (160 ± 5) °С	ТУ 9452-010-00141798—02
Термостаты, позволяющие поддерживать рабочую температуру (30 ± 2) и (37 ± 2) °С	ТУ 9452-002-00141798—97
Автоклав электрический	ГОСТ 9586—75
Стерилизаторы паровые медицинские	ГОСТ Р ЕН 13060—11, ГОСТ Р 51935—02
Дистиллятор	ТУ 4952-007-33142130—2000
Облучатель бактерицидный настенный	ТУ 9444-015-03965956—08
Холодильник бытовой	ГОСТ 26678—85
Микроскоп биологический с иммерсионной системой	
Лупа с увеличением × 10	ГОСТ 25706—83
Пробирки типов П1, П2	ГОСТ 25336—82
Спиртовки лабораторные стеклянные	ГОСТ 23932—90
Чашки биологические (Петри) или одноразо- вые из полимерных материалов	ГОСТ 23932—90
Воронки конусные диаметром 40—45 мм	ГОСТ 25336—82
Груша резиновая	ТУ 9398-005-0576-9082—03
Петля бактериологическая	
Марля медицинская	ГОСТ 9412—77
Вата медицинская гигроскопическая	ГОСТ 25556—81
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026—76

**Примечание.** Допускается применение оборудования с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.



### **5.3. Реактивы и питательные среды**

Агар микробиологический	ГОСТ 17206—96
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709—90
Глюкоза	ГОСТ 6038—79
Пептон сухой ферментативный	ГОСТ 13805—76
Спирт этиловый технический	ГОСТ 17299—78
Спирт этиловый ректификованный	ГОСТ Р 51652—2000 или ГОСТ 18300—87
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Глюкозо-пептонная среда стандартная	

**Примечание.** Допускается использование других питательных сред и диагностических препаратов с аналогичными характеристиками.

### **6. Требования безопасности**

При выполнении измерений концентрации штамма в атмосферном воздухе населенных мест соблюдают следующие требования.

6.1. СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

6.2. СП 1.3.2518—09. Дополнения и изменения 1 к СП 1.3.2322—08.

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

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

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**

Приготовление сред, подготовку к анализу проводят в следующих условиях:

- температура воздуха  $(20 \pm 5) \text{ }^\circ\text{C}$ ;
- атмосферное давление  $(760 \pm 20) \text{ мм рт. ст.}$ ;
- влажность воздуха не более 80 %.

## 9. Приготовление питательных сред

Для приготовления используют сухую готовую глюкозо-пептонную среду: 50,0 г порошка размешивают в 1 000 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Можно использовать отдельные компоненты среды следующего состава: пептон – 20,0 г, глюкоза – 10,0 г, хлорид натрия – 5,0 г, агар-агар – 15,0 г. Сухие компоненты растворяют в 1 000 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и тщательно перемешивают.

Приготовленную среду разливают в стерильные колбы по 250—500 см<sup>3</sup> и автоклавируют при 121 °С в течение 15 мин.

Готовые среды хранят в защищенных от света условиях при температуре не выше 8 °С в течение 14 дней, не более.

## 10. Проведение измерения

### 10.1. Отбор проб воздуха

Отбор проб воздуха проводят в соответствии с требованиями ГОСТ 17.2.4.02—81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» и Р 8.563—96 «Методики выполнения измерений».

Для этого воздух аспирируют при помощи пробоотборника на поверхность плотной питательной среды в соответствии с технической документацией (инструкцией) на прибор. Время аспирации и объем отбираемого воздуха зависит от предполагаемой концентрации микроорганизма.

Аппарат перед каждым отбором пробы воздуха тщательно протирают 96° этиловым 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 (количество питательной среды в чашки вносят в соответствии с инструкцией к прибору). 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.

### 10.2. Выполнение анализа

При выполнении анализа воздуха прямым методом стерильную агаризованную среду (ГПА) расплавляют, остужают до 50—60 °С и разливают в чашки Петри.

Контроль чистоты розлива проводят в соответствии с п. 7.1.1 МУК 4.2.2316—08. Для этого чашки с застывшей средой помещают в термостат при температуре 37 °С не менее чем на 18 ч. Проросшие чашки бракуют, стерильные чашки используют для контроля воздуха. Разлитую в чашки питательную среду хранят при температуре (2—8) °С не более 10 дней.

После отбора проб воздуха чашки Петри помещают в термостат с температурой (30 ± 2) °С. Через 1—2 суток производят подсчет выросших колоний по культурально-морфологическим признакам.

Ростовые свойства используемой питательной среды должны быть проверены до проведения анализа воздуха в соответствии с требованиями к ростовым свойствам питательных сред (МУК 4.2.2316—08). Для этого эталонный музейный штамм *Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966 высевается на 2—3 чашки используемой среды.

Лиофилизированную культуру музейного штамма необходимо использовать 2—3 пассажа во избежание потери им заданных ростовых свойств.

### 11. Вычисление результатов измерения

Расчет концентрации клеток производят по формуле:

$$K = (П \times 1\,000) / C \times T, \text{ кл/м}^3, \text{ где}$$

$K$  — концентрация *Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966 в воздухе, кл/м<sup>3</sup>;

$П$  — количество типичных колоний, выросших на чашке Петри;

1 000 — коэффициент перерасчета на 1 м<sup>3</sup> воздуха;

$C$  — скорость аспирации воздуха, л/мин;

$T$  — время аспирации, мин.

### 12. Оформление результатов измерений

Результаты измерений оформляют протоколом по следующей форме.

**Протокол №**  
**количественного микробиологического анализа штамма**  
*Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966  
**в атмосферном воздухе населенных мест**

1. Дата проведения анализа \_\_\_\_\_
2. Рабочее место (профессия работающего) \_\_\_\_\_
3. Место отбора пробы (название и адрес организации, производство, технологическая стадия, точка отбора пробы) \_\_\_\_\_
4. Вид пробоотборника \_\_\_\_\_
5. Дата последней метрологической поверки оборудования для отбора проб \_\_\_\_\_
6. Питательная среда, время инкубации \_\_\_\_\_
7. Результаты испытания ростовых свойств питательной среды \_\_\_\_\_
8. Количественная и качественная характеристика выросших колоний (количество типичных колоний) \_\_\_\_\_
9. Результаты идентификации микроорганизмов *Bacillus mucilaginosus* Вас-10 ВКПМ В-8966 (микроморфологические признаки) \_\_\_\_\_

---

10. Результаты расчёта концентрации штамма \_\_\_\_\_
11. Соотношение полученных результатов с уровнем ПДК<sub>а.в.</sub> \_\_\_\_\_
12. Отбор пробы произведён (Ф.И.О., должность, дата, подпись) \_\_\_\_\_

---

13. Идентификация штамма и расчёт концентрации произведены (Ф.И.О., должность, дата, подпись) \_\_\_\_\_