

Гигиена, эпидемиология,
экология

Hygiene, Epidemiology,
Ecology

УДК 579.852.11+579.841.11] : 614.71

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ СОДЕРЖАНИЯ ОДНОКОМПОНЕНТНЫХ МИКРОБНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ РОДОВ *BACILLUS* И *PSEUDOMONAS* В ВОЗДУХЕ РАБОЧЕЙ ЗОНЫ

*Дудчик Н.В., Филонюк В.А., Шевляков В.В., Сычик С.И.,
Студеничник Т.С.*

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены» Республика Беларусь, г. Минск, e-mail: rspch@rspch.by

Впервые выполнено экспериментальное моделирование микробных аэрозолей с целью разработки технологии количественного определения и гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны. На основании установленных закономерных концентрационных зависимостей динамики роста микроорганизмов-продуцентов родов *Bacillus* и *Pseudomonas* разработаны методы их количественного определения в воздухе рабочей зоны. Впервые обоснован алгоритм и выполнена метрологическая оценка количественных методик с определением операционных характеристик и разработаны стандартизованные методики выполнения измерений концентраций микроорганизмов-продуцентов однокомпонентных микробных препаратов в воздухе рабочей зоны.

Ключевые слова: модельный эксперимент, микроорганизмы-продуценты *Pseudomonas fluorescens S32* и *Bacillus subtilis M-22*, микробные препараты «Стимул» и «Бетапротектин», методики определения концентрации микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны.

Введение

Последние десятилетия особое внимание гигиенической науки сосредоточено на изучении относительно новой и быстро развивающейся биотехнологической отрасли промышленности. Основные направления промышленной и медицинской биотехнологии основаны на использовании различных родов, видов, штаммов и серотипов природных или мутантных, в т.ч. полученных методом геной инженерии, микроорганизмов в качестве пробиотических пищевых препаратов, продуцентов белка, биологически активных веществ и ферментов (амилолитические, протеолитические, пектинолитические, целлюлолитические, антибиотики разных классов, аминокислоты, витамины

и другие), микробиологических препаратов для биологической защиты и повышения урожайности сельскохозяйственных культур и др. [1]. В процессе производства и использования микроорганизмов-продуцентов (МО) и микробных препаратов на их основе (МП) возможно загрязнение ими производственной среды, выделение в воздух рабочей зоны и атмосферы с вредным воздействием на здоровье работников и населения. Согласно значительному массиву данных литературы, штаммы МО, используемые в биотехнологических процессах, могут представлять источники риска для здоровья человека и среды его обитания [2, 3]. В промышленных условиях наличие МО в воздухе

рабочей зоны, непосредственный контакт с микробными аэрозолями в процессе использования могут являться факторами высокого риска здоровью работников биотехнологических производств, поскольку промышленные штаммы МО малопатогенны, но обладают сильной или выраженной сенсибилизирующей способностью (1-2 класс аллергенной опасности) [4, 5].

Этим обусловлена актуальность современного направления гигиенических исследований – изучение биологического действия МО и оценка опасности и вероятности неблагоприятных для здоровья человека последствий производства биотехнологической продукции, эффективная медицинская профилактика их вредного действия путем гигиенического нормирования. Это особенно важно в отношении оценки риска и гигиенического регламентирования МП, содержащих жизнеспособные клетки и их структурные элементы, продукты микробного синтеза. Научное обоснование и практика гигиенического и экологического нормирования биологических факторов среды обитания имеют ряд принципиальных методологических особенностей и разработаны значительно меньше, чем в отношении химических факторов среды обитания. В Республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены» Министерства здравоохранения Республики Беларусь разработка методологии и методов гигиенического регламентирования и нормирования МО и МП как биологических факторов среды обитания человека является одним из ведущих научных направлений, сформирована научная школа в данном, как мы считаем, перспективном, направлении профилактической медицины. В результате выполненных комплексных токсиколого-гигиенических исследований проведено гигиеническое регламентирование более 100, установлены ПДК в воздухе рабочей зоны 12 новых одно- и многокомпонентных

МП [5].

Важной гигиенической проблемой биотехнологических производств является соблюдения ПДК нормированных МО и МП в воздухе рабочей зоны. Для обеспечения их производственного контроля необходимы валидированные инструментальные методы количественной оценки.

Разработка стандартизованных и валидированных методик выполнения измерений (МВИ) концентраций МП и МО в воздухе рабочей зоны представляет собой достаточно сложную аналитическую задачу, т.к. оптимизация параметров инструментальных методов (условий отбора проб воздуха при различной микробной нагрузке, культивирования и идентификации МО и др.), определение концентрационных зависимостей и пределов чувствительности, возможно только при экспериментальном моделировании. Более того, для практического применения методов контроля содержания МП в производственных условиях требуются аттестованные методики выполнения измерений концентраций МО, входящих в состав МП, разработка которых осуществляется на основе метрологических исследований по оценке категорийных характеристик, связанных со специфичностью и селективностью разрабатываемого метода. В то же время, известные руководства по валидации микробиологических методов существуют только для воды, пищевых продуктов и кормов для животных и отсутствуют для воздушной среды [6, 7].

Следовательно, для обеспечения контроля содержания в воздухе рабочей зоны МО и МП на их соответствие ПДК актуальным и необходимым является обоснование методических подходов к разработке и стандартизации методик выполнения измерений концентраций МП и МО в воздухе рабочей зоны.

Целью работы являлось обосно-

вание технологии количественного определения МО однокомпонентных МП в воздухе рабочей зоны при экспериментальном моделировании микробных аэрозолей и разработка методик выполнения измерений в воздухе рабочей зоны концентрации штамма *Pseudomonas fluorescens* S32 – продуцента МП «Стимул» и *Bacillus subtilis* М-22 – продуцента МП «Бетапротектин».

Материалы и методы

Объектами исследования являлись новые МП «Бетапротектин» на основе штамма *Bacillus subtilis* М-22 (*B. subtilis* М-22) и МП «Стимул» на основе штамма *Pseudomonas fluorescens* S32 (*P. fluorescens* S32), разработанные разработанные ГУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» и НИЛ молекулярной генетики бактерий биологического факультета Белорусского государственного университета.

В работе использовали систему для создания жидких аэрозолей в затравочных камерах объемом 250 л (Спектролаб, РФ); аспиратор SAS SUPER100 (PBI International, Италия), а также стандартное оборудование микробиологических лабораторий. Средства измерений и основное оборудование были должным образом поверены и калиброваны.

В экспериментах для оптимизации условий культивирования и роста тестовых МО подбирали и использовали компоненты стандартных питательных сред и материалов.

Для культивирования *B. subtilis* М-22 использовали полуселективную среду следующего состава: меласса – 30,0 г; калий фосфорнокислый двузамещенный трехводный – 7,0 г; калий фосфорнокислый однозамещенный – 3,0 г; сульфат аммония – 1,5 г; натрий лимоннокислый трехводный – 0,5 г; магний сернокислый семиводный – 0,1 г; агар микробиологический – 20 г; вода водопроводная – 1 дм³, рН 7,0-7,2.

Для культивирования *P. fluorescens* S32 использовали полусе-

лективную среду следующего состава: пептон сухой ферментативный для бактериологических целей – 20,0 г, калий фосфорнокислый двузамещенный трехводный – 1,5 г, магния сульфат семиводный – 1,5 г, агар микробиологический – 15 г, глицерин – 10 см³, вода дистиллированная – 1000 дм³, рН 7,0±0,2.

Для приготовления рабочих разведений МП использовали фосфатный буферный раствор с 0,1 % пептоном, рН 7,0. Подтверждение содержания микробных клеток в рабочей культуре проводили путем высева на селективную агаризованную среду приведенного состава. Для оптимизации параметров отбора проб и определения рабочих характеристик детектора (контактные чашки Петри с соответствующей питательной средой) использовали рабочее разведение 10⁶ КОЕ/мл препарата.

На каждом этапе создания микробного аэрозоля в затравочной камере проводили отбор проб воздуха в диапазоне объемов 10-30 л [11, 12]. Пробы воздуха отбирали при помощи аспиратора на поверхность плотных питательных селективных сред вышеприведенного состава. Перед каждым отбором воздуха аспиратор протирали 70° этиловым спиртом, устанавливали подготовленную чашку Петри со средой, одновременно снимая с нее крышку, прибор закрывали, не допуская соприкосновение крышки прибора со средой. Отбор проб проводили в двух повторностях.

После отбора проб воздуха чашки Петри с селективной средой помещали в термостат при (30±0,5) °С. После инкубирования в течение (48±2) ч производили подсчет выросших типичных колоний МО. Оценивали культурально-морфологические особенности сформированных колоний и подсчитывали число типичных колоний.

Расчет концентрации МО X, КОЕ/м³, производили по формуле:

$$X = (N \cdot Ч \cdot 1000) / V, \quad (1)$$

где:

X – концентрация микробных клеток и спор в воздухе рабочей зоны;

N – количество колоний МО на чашке;

1000 – коэффициент пересчета на 1 м³ воздуха;

V – объем отобранной пробы воздуха, дм³.

Для подсчета учитывается среднее количество колоний, выросших на 2-х параллельных чашках Петри. За окончательный результат измерения принимали среднее арифметическое значение двух результатов параллельных измерений, рассчитанных по формуле (1).

Результаты и их обсуждение

Микроорганизмы родов *Bacillus* и *Pseudomonas* широко используются в биотехнологических производствах как МО. В соответствии с санитарными нормами и правилами, определяющими группы патогенности биологических агентов, эти роды относятся к 3-4 группам патогенности, применяются для биологического стимулирования роста

и развития сельскохозяйственных культур, для использования в качестве средства биологической защиты и стимуляции роста сельскохозяйственных растений и т.д. Достаточно хорошо изучены их культуральные, физиолого-биохимические и др. свойства. Процессы культивирования этих МО в промышленных или полупромышленных масштабах хорошо оптимизированы. Представленные разработчиками штаммы МО *P. fluorescens* S32 и *B. subtilis* M-22 проявляли типичные культурально-морфологические и биохимические свойства (Табл. 1).

Гигиенические нормативы содержания в воздухе рабочей зоны (ПДК) установлены для МП «Бетапротектин» на уровне 1000 микробных клеток / м³ (м. кл / м³) по штамму бактерий *B. subtilis* M-22, III класс опасности с отметкой «аллерген» и для МП «Стимул» на уровне 10000 микробных клеток / м³ по штамму бактерий *P. fluorescens* S32, IV класс опасности [8-9].

Разработка технологии количественного определения МО в воздухе рабочей зоны в модельном экспери-

Таблица 1

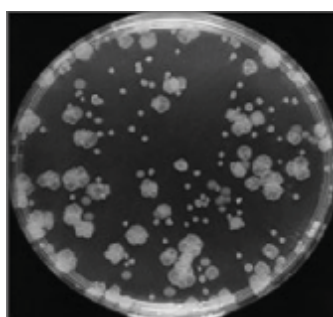
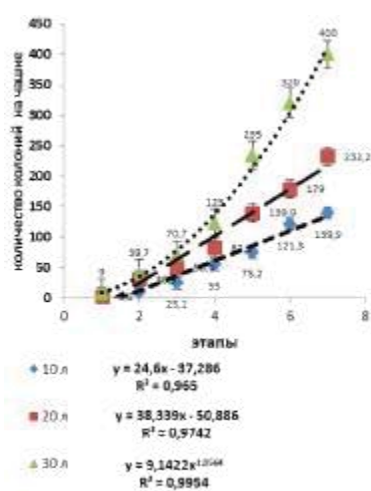
Характеристика изучаемых МП и МО

Микробный препарат, назначение	Штаммы-продуценты /свойства/	Морфологические признаки штамма	Культуральные и биохимические признаки штамма
«Бетапротектин», предназначен для биологической защиты с/х культур	<i>Bacillus subtilis</i> M-22 (БИМ В-439Д) Штамм является антагонистом фитопатогенной микрофлоры.	Грамположительные палочки с округленными концами, размером 0,6-0,7×1-3,3 мкм. Клетки подвижные, споробразующие. Колонии на питательной среде МПА серовато-белого цвета, гладкие, матовые с мучнистым налетом, круглые с зубчатыми краями.	Облигатный аэроб, каталазоположительный, термоустойчив, обладает протеолитической и амилотической активностью.
«Стимул», предназначен для биологического стимулирования роста и развития с/х культур	<i>Pseudomonas fluorescens</i> S 32 (КМБУ 5497) Штамм способен колонизировать ризосферу и вегетативные органы растений, проявляет высокие азотфиксирующие свойства.	Грамотрицательные палочки с округленными концами, размером 0,6×2-3 мкм, обладают 2-4 монополярно расположенными жгутиками, спор и капсул не образуют. Колонии на агаризованных питательных средах серовато-белого цвета, однородные, гладкие, круглые, плоские с ровными краями, размером 2-3 мм.	Облигатный аэроб, на минеральной среде продуцирует желто-зеленый флуоресцирующий пигмент. В качестве источников азота способен утилизировать соли аммония, мочевины и нитраты.

менте основана на известных этапах и приемах микробиологической практики: отбор проб воздуха аспирационным способом с учетом отобранного объема, культивирование в оптимальных для изучаемых МО условиях на питательной среде приведенного состава, подсчет сформированных колоний с характерными морфологическими признаками, морфологическая идентификация мик-

роорганизмов и колоний, расчет количества микроорганизмов на чашках с перерасчетом на 1 м³ воздуха.

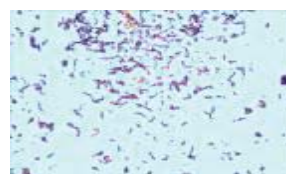
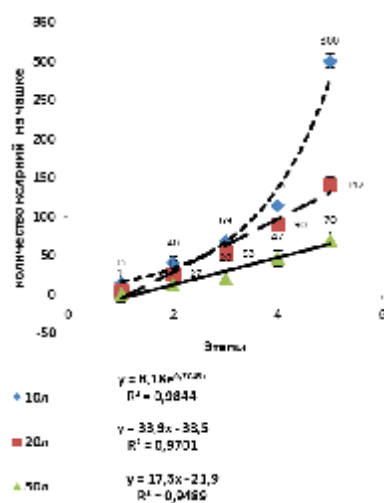
Алгоритм и дизайн эксперимента были разработаны и успешно выполнены в камерах ингаляционной затравки. На созданной модели распыления в затравочных камерах объемом 250 л установки ингаляционного моделирования жидких аэрозолей обрабатывались



а

б

Рис. 1. Изменения роста штамма-продуцента *P. fluorescens* S-32 в модельном эксперименте (а), морфология колоний, и микроскопический препарат (б)



а

б

Рис. 2. Изменения роста штамма-продуцента *B. subtilis* M-22 в модельном эксперименте (а), морфология колоний, и микроскопический препарат (б)

режимы создания в камерах разных концентраций микроорганизмов в замкнутом объеме с использованием различных типов распылителей, при разных скоростях подачи на эжекторы и на распылители потока воздуха, экспозициях распыления МП. Были подобраны параметры аспирационного способа отбора проб воздуха (время и объем) при разных уровнях микробной нагрузки, проведена оптимизация состава сред и режимов культивирования МО с их последующей идентификацией.

Выполненная в условиях модельного эксперимента оптимизация совокупности параметров количественного определения концентрации МО в воздухе позволила выявить характер и закономерности роста МО в зависимости от концентрации МП в фиксированном объеме затравочной камеры (рис. 1 и 2).

Характер зависимости между количеством колоний на чашке и отобраным объемом воздуха носил как линейный, так и степенной характер и описывался приведенными на рисунках 1 и 2 уравнениями.

Соответствующие коэффициенты детерминации *R*² находились в диапазоне 0,9489-0,9954, что свидетельствует о высокой достоверности полученных результатов количественного определения концентраций МО в воздухе рабочей зоны.

Определены пределы измерения для разработанных методов, которые 10-10000 м. кл./м³.

Экспериментальные исследования позволили установить необходимые требования по отбору проб воздуха для количественной

оценки содержания МО, определить прямые концентрационные зависимости, лежащие в основе математической модели количественной оценки, высокую чувствительность разработанных инструментальных методов определения количества бактерий штаммов *B. subtilis* M-22 и *P. fluorescens* S32 в воздухе.

Методики выполнения измерений, используемые в области аккредитации испытательных лабораторий, должны быть валидированы в соответствии с требованиями международной организации по стандартизации (ИСО). Выбор алгоритма метрологической аттестации определялся специфическими микробиологическими параметрами исследуемых объектов, т.к. распределение МО в воздухе рабочей зоны является относительно однородным. В процессе валидации микробиологических МВИ определяли показатели прецизионности (повторяемость и промежуточная прецизионность с изменяющимся фактором «оператор»), расширенную неопределенность и др. операционные характеристики, а также присущие для оценки биологических факторов показатели: специфичность, чувствительность, частоту ложноположительных и ложноотрицательных результатов, верхний предел линейности и др. [6, 7, 10].

Таблица 2

Метрологические характеристики и показатели специфичности и селективности методик

Метрологические характеристики	Микробный препарат	
	«Стимул»	«Бетапротектин»
Взвешенное совокупное относительное стандартное отклонение подсчета s_{Σ}	0,076	0,13
Стандартное отклонение повторяемости S_r	0,039 log ₁₀ КОЕ/м ³	0,088 log ₁₀ КОЕ/м ³
Предел повторяемости r	0,11 log ₁₀ КОЕ/м ³	0,25 log ₁₀ КОЕ/м ³
Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_l(O)$	0,052 log ₁₀ КОЕ/м ³	0,12 log ₁₀ КОЕ/м ³
Предел промежуточной прецизионности $r_l(O)$	0,15 log ₁₀ КОЕ/м ³	0,32 log ₁₀ КОЕ/м ³
Расширенная неопределенность (k=2) U	0,11 log ₁₀ КОЕ/м ³	0,23 log ₁₀ КОЕ/м ³
Чувствительность	1,0	0,915
Специфичность	0,5	1,000
Частота ложноположительных результатов	0,048	0,000
Частота ложноотрицательных результатов	0	0,800
Селективность	1,322	-0,048
Эффективность	0,955	0,917
Верхний предел линейности	Не более 50 колоний на чашку	Не более 300 колоний на чашку

На основе массива данных, полученных в модельном эксперименте, были оценены операционные характеристики методов, проведена метрологическая аттестация и утверждены МВИ концентрации МО в воздухе рабочей зоны [11, 12].

В табл. 2 представлены метрологические характеристики и показатели специфичности и селективности разработанных методов.

Заключение

Впервые выполненная метрологическая оценка операционных характеристик методов определения количества бактерий штаммов *B. subtilis* M-22 и *P. fluorescens* S32 в воздухе позволила разработать аттестованные Белорусским государственным институтом метрологии МВИ концентраций МП «Бетапротектин» и «Стимул» в воздухе рабочей зоны [11-12]. Использование МВИ в рамках области аккредитации микробиологических лабораторий обеспечивает объективный санитарно-производственный контроль содержания данных МП в производственной среде на соответствие их ПДК.

Впервые обоснованные унифицированные подходы и технология разработки МВИ концентраций МО и МП в воздухе рабочей зоны формализованы в инструкции по применению [13] и позволяют проводить разработку МВИ для новых биопрепаратов.

Литература

1. Коломиец, Э. И. Состояние и перспективы развития биотехнологии в Республике Беларусь / Э. И. Коломиец, О. А. Ракецкая // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т микробиологии. – Минск, 2013. – Т. 5: Посвящен 85-летию со дня основания Национальной академии наук Беларуси. – С. 3–9.
2. Доброхотский, О. Н. Гигиеническая оценка безопасности микробиологических производств : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.07 / О. Н. Доброхотский ; Федер. науч. центр гигиены. – М., 2004. – 24 с.

3. Проблемы и перспективы гигиенического нормирования биотехнологических штаммов микроорганизмов / Ю. П. Пивоваров [и др.] // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 9–12.
4. Шеина, Н. И. Критерии оценки биобезопасности микроорганизмов, используемых в биотехнологической промышленности / Н. И. Шеина // Вестн. Оренбург. гос. ун-та. – 2012. – № 6. – С. 165–169.
5. О методологии гигиенического регламентирования микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов в воздухе рабочей зоны / В. В. Шевляков [и др.] // Мед. журнал. – 2014. – № 2. – С. 40–53.
6. ISO/TR 13843:2000. Качество воды. Руководство по аттестации микробиологических методов.
7. ISO/TS 19036:2009. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по оценке неопределенности измерения для количественных определений.
8. К вопросу о гигиеническом нормативе содержания в воздухе рабочей зоны микробного препарата Стимул / В. В. Шевляков [и др.] // Мед. журнал. – 2013. – № 4. – С. 135–139.
9. Обоснование предельно допустимой концентрации (ПДК) в воздухе рабочей зоны микробного препарата Бетапротектин / В. В. Шевляков [и др.] // Мед. журнал. – 2013. – № 2. – С. 123–126.
10. Дудчик, Н. В. Прокариотические тест-модели для оценки биологического действия и гигиенической регламентации факторов среды обитания : дис. ... д-ра биол. наук : 14.02.01 / Н. В. Дудчик; государственное предприятие «НПЦГ». Минск, 2016. – 409 л.
11. Методика выполнения измерений (МВИ) концентрации клеток штамма *Pseudomonas fluorescens* S32 – продуцента микробного препарата «Стимул» в воздухе рабочей зоны : МВИ.МН 4619-2013 : свидетельство об аттестации № 770/2013 от 29.04.2013 г. / разработ.: Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк [и др.]. – Минск : Белорус. гос. ин-т метрологии, 2013. – 16 с.
12. Методика выполнения измерений (МВИ) концентрации клеток и спор штамма *Bacillus subtilis* M-22 – продуцента микробного препарата «Бетапротектин» : МВИ.МН 4594-2013 : свидетельство об аттестации № 760/2013 от 29.03.2013 г.

/ разраб.: Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, В. А. Филонюк [и др.] – Минск : Белорус. гос. ин-т метрологии, 2013. – 16 с.

13. Обоснование предельно допустимых концентраций и методик выполнения измерений содержания в воздухе рабочей зоны микроорганизмов-продуцентов и микробных препаратов на их основе : инструкция по применению № 009-1015 / В. В. Шевляков [и др.] / М-во здравоохран. Респ. Беларусь.– Минск, 2015.– 30 с.

References

- Kolomiets, E. I. Statement and prospects of biotechnology development in the Republic of Belarus / E. I. Kolomiets, O. A. Raketkaya / Microbial biotechnologies: basic and applied aspects: Sat. scientific. tr. / National Academy of Sciences, Institute of Microbiology. – Minsk, 2013. – Т. 5: Dedicated to the 85th anniversary of the founding of the National Academy of Sciences of Belarus. – P. 3–9.
- Dobrohotky, O. N. Hygiene safety assessment microbiological productions: abstract. dis. ... cand. honey. sciences: 14.00.07 / O. M. Dobrohotky; Feder. scientific. health center. – M., 2004. – 24 p.
- Problems and prospects of hygienic regulation of biotechnological strains of microorganisms / Y.P. Pivovarov [et al.] // Hygiene and sanitation. – 2010. – № 5. – P. 9– 2.
- Sheina, N. I. Criteria for evaluating biosafety microorganisms used in biotechnology industry / N. I. Sheina // Vestn. Orenburg. state. Univ. – 2012. -- № 6. – P. 165–169.
- Methodology hygienic regulation-producing microorganisms and microbial agents in the working area / V. V. Shevlyakov [et al.] // Med. Journal. – 2014. – № 2. – P. 40–53.
- ISO / TR 13843: 2000. Water quality. Manual validation of microbiological methods.
- ISO / TS 19036: 2009. Microbiology of food and animal feed. Evaluation of measurement uncertainty for quantitative determinations Guide.
- On the issue of hygienic standards in the air of the working area of microbial drug Stimulus / V. V. Shevlyakov [et al.] // Med. Journal. – 2013. – № 4. – P. 135–139.
- Justification of the maximum permissible concentration (MPC) in the working area of microbial preparation Betaprotektin / V. V. Shevlyakov [et al.] // Med. Journal. – 2013. – № 2. – P. 123–126.
- Dudchik, N. V. Prokaryotic test model to assess the biological effect of hygienic and environmental factors: dis. ... dr. biol. sciences: 14.02.01 / N. V. Dudchik; State Enterprise “NPTSG”. Minsk, 2016. – 409 p.
- The method of measurement (MM) cell concentration of the strain *Pseudomonas fluorescens* S32 - producer of “Stimulus” microbial preparation in the working area: MVI.MN 4619-2013: an appraisal certificate number 770/2013 from 04.29.2013 city / N. V. Dudchik, V. V. Shevlyakov, V. Filanyuk [et al.] – Minsk: Belarusian state Institute of Metrology, 2013. – 16 p.
- The method of measurement (MVI), the concentration of cells and spores of strain *Bacillus subtilis* M-22 - producing microbial drug “Betaprotektin”: MVI.MN 4594-2013: an appraisal certificate number 760/2013 from 29.03.2013 / N. V. Dudchik, V. V. Shevlyakov, V. Filanyuk [et al.] - Minsk: Belarusian state Institute of Metrology, 2013. – 16 p.
- Justification of maximum allowable concentrations and methods of measurement in the air of the working area-producing microorganisms and microbial products based on them: Instruction for use № 009-1015 / V. V. Shevlyakov [et al.] / M. of Health. Rep. Belarus. –Minsk, 2015. – 30 p.

Резюме

РОЗРОБКА І ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДИК ВИКОНАННЯ ВИМІРЮВАНЬ ЗМІСТУ ОДНОКОМПОНЕНТНИХ МІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ШТАМІВ-ПРОДУЦЕНТІВ ПОЛОГІВ *BACILLUS* І *PSEUDOMONAS* У ПОВІТРІ РОБОЧОЇ ЗОНИ

Дудчик Н.В., Філонюк В.А.,
Шевляков В.В., Сычкі С.І.,
Студенічкі Т.С.

Вперше виконано експериментальне моделювання мікробних аерозолів з метою розробки технології кількісного визначення та гігієнічного регламентування мікроорганізмів-продуцентів в повітрі робочої зони. На підставі встановлених закономірних концентраційних залежностей динаміки зростання мікроорганізмів-продуцентів родів *Bacillus* і *Pseudomonas* розроблені методи їх кількісного визначення в повітрі робочої зони. Вперше обґрунтовано алгоритм і виконана метрологічна

оцінка кількісних методик з визначенням операційних характеристик і розроблені стандартизовані методики виконання вимірювань концентрацій мікроорганізмів-продуцентів однокомпонентних мікробних препаратів в повітрі робочої зони.

Ключові слова: мікроорганізми-продуценти *Pseudomonas fluorescens* S32 та *Bacillus subtilis* M-22, мікробні препарати «Стимул» та «Бетапротектін», методи визначення концентрації мікроорганізмів-продуцентів в повітрі робочої зони.

Summary

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF METHODS FOR MEASURING SINGLE-COMPONENT MICROBIAL PREPARATIONS BASED ON STRAIN BASED STRAINS *BACILLUS* AND *PSEUDOMONAS* IN THE WORKING AREA

Dudchik N.V., Filanyuk V.A., Shevlyakov V.V., Sychik S.I. Studenichnik T. S.

For the first time experimental modeling of microbial aerosols have been carried out to develop technology of quantitative determination and hygienic

regulation of microorganisms-producers in the working area. Based on the set of regular concentration dependences of the growth of microorganisms-producers of the genera *Bacillus* and *Pseudomonas* dynamics methods for their quantification in the working area have been developed. The first algorithm is justified and executed metrological evaluation of quantitative methods to determine the operating characteristics and developed a standardized method of measuring the concentration of microorganisms-producers of single-component microbial agents in the working area.

Keywords: producing microorganisms *Pseudomonas fluorescens* S32 and *Bacillus subtilis* M- 22, the microbial preparations "Stimulus" and "Betaprotektin", methods for determining of concentration producing microorganisms in the air of the working area.

Впервые поступила в редакцию 26.11.2015 г. Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

UDC 613.2.03

DEFINITE FEATURES OF DIETARY INTAKE OF INTERNATIONAL STUDENTS FROM INDIA

Melnyk K.S., Kovalchuk L.Y., Mykhaylenko V.L.
Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine

The number of foreigners who are educated in Ukraine increases every year. The amount of studies comparing nutritional quality of food intake of foreign students who live in Ukraine is limited. Data on Indian students' nutrition and eating patterns are especially lacking. It was the aim of the present study to compare the ethnic differences in food consumption and the contributing main components of Indian students' diets. Macronutrient (proteins, fats, carbohydrates) dietary intake was estimated using food frequency questionnaire. Data were obtained to analyze food intake and compare it with the recommendations of the Ministry of Health of Ukraine (MHU) and the World Health Organization (WHO). After analyzing the data of food frequency questionnaire the following results were obtained: most of 119 students generally follow the daily diet regime ; total energy intake in males' and females' daily diet below the standards of MHU. Furthermore, the nutrient ratio of P: F: C (proteins, fats, carbohydrates) has differences with the recommendations of WHO. The imbalance primarily caused by the