
**Микробиология пищевых продуктов и
кормов для животных. Метод
полимеразной цепной реакции (ПЦР)
для обнаружения и количественного
определения пищевых патогенных
микроорганизмов. Показатели
результативности**

*Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain
reaction (PCR) for the detection and quantification of food borne
pathogens — Performance characteristics*

ISO 22118:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 22118:2011(R)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22118:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2011

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org

Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, установленными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы данной части ISO 16065 могут быть объектом патентных прав. Организация ISO не должна нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 22118 был подготовлен Европейским комитетом по стандартизации (CEN) Техническим комитетом CEN/TC 275, *Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы*, совместно с Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 9, *Микробиология*, в соответствии с Соглашением по техническому сотрудничеству между ISO и CEN (Венское Соглашение).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4bad74fd-89fd-4ea3-9fd8-88e3aba73522/iso-22118-2011>

Введение

Методы молекулярного обнаружения разработаны в последние несколько десятилетий и в настоящее время имеются для большинства пищевых патогенных микроорганизмов. Некоторые из этих методов имеют возможность выполнения количественного анализа.

Хотя до настоящего времени большинство методов основывалось на полимеразной цепной реакции (ПЦР) и ПЦР в реальном времени, другие принципы молекулярного обнаружения и количественного анализа подлежат дальнейшему обсуждению.

Для сопоставления молекулярных методов с общепринятыми методами или с другими принципами необходимо разработать минимальные требования к показателям результативности разрабатываемых методов.

Настоящий международный стандарт является частью серии документов под общим названием *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов*:

ISO/TS 20836, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Определение характеристик термоциклеров*

ISO 20837, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Требования к подготовке образцов для качественного обнаружения*

ISO 20838, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Требования к амплификации и обнаружению для методов качественного анализа*

ISO 22118, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Показатели результативности*

ISO 22119, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Общие требования и определения*

ISO 22174, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Общие требования и определения*

Следующие Технические условия находятся в стадии разработки:

ISO/TS 13136, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения бактерий Escherichia coli, выделяющих токсин Шига (STEC), принадлежащих к серотипам O157, O111, O26, O103 и O145. Качественный метод на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР)*

Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для обнаружения и количественного определения пищевых патогенных микроорганизмов. Показатели результативности

1 Область применения

Настоящий международный стандарт устанавливает минимальные требования к показателям результативности при обнаружении последовательностей нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) молекулярными методами. Настоящий международный стандарт применяется к обнаружению пищевых патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах и полученных из них изолятов с помощью молекулярных методов обнаружения, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Настоящий международный стандарт также применяется, например, к обнаружению пищевых патогенных микроорганизмов в пробах из различных объектов окружающей среды и в кормах для животных.

ПРИМЕЧАНИЕ Ввиду стремительного развития в данной области приведенные примеры являются наиболее часто используемыми на момент разработки данного стандарта.

2 Нормативные ссылки

Нижеследующие документы являются обязательными для применения данного документа. Для датированных ссылок действительно только указанное издание. В случае недатированных ссылок используется последняя редакция документа, на который дается ссылка (включая все изменения).

ISO 16140:2003, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов*

ISO 22174:2005, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Общие требования и определения*

3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются следующие термины и определения.

3.1

аналит

анализируемое вещество

analyte

компонент, обнаруженный или измеренный методом анализа

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Аналит может представлять собой микроорганизм или вирус, его компоненты или продукты.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Взято из ISO 16140:2003, 3.4.

3.2
качественный метод
qualitative method
метод анализа, результатом которого является присутствие или отсутствие аналита, обнаруженное непосредственно или косвенно в определенном количестве образца

[ISO 16140:2003, 3.5.]

3.3
количественный метод
quantitative method
метод анализа, результатом которого является количество аналита, измеренное непосредственно или косвенно в определенном количестве образца

ПРИМЕЧАНИЕ Взято из ISO 16140:2003, 3.6.

3.4
анализ устойчивости (метода)
robustness testing
(микробиология пищевых продуктов) проверка влияния на предлагаемый метод небольших изменений методики или воздействия факторов окружающей среды с целью определения степени их влияния (в случае возникновения) на результативность метода

3.5
селективность
избирательность
selectivity
(микробиология пищевых продуктов) мера инклюзивности (обнаружения целевого микроорганизма или вируса) и эксклюзивности (необнаружение нецелевых микроорганизмов или вирусов)

3.6
чувствительность
sensitivity
(микробиология пищевых продуктов) мера минимального количества клеток, частиц или молекул аналита, которое можно обнаружить в одной реакции

3.7
специфичность
specificity
способность применяемого метода распознавать исключительно целевую последовательность и отличать ее от сходных последовательностей и загрязняющих примесей

[ISO 22174:2005, 3.6.4]

3.8
правильность
trueness
близость согласования между ожиданием и результатом или результатом измерения и истинным значением

[ISO 3534-2:2006 ^[1], 3.3.3]

3.9**предел обнаружения****предел выявления****detection limit****limit of detection****LOD**

наименьшая концентрация или наименьшее содержание целевого микроорганизма относительно определенного количества матрицы, которое можно последовательно обнаружить в условиях эксперимента, установленных в рассматриваемом методе

ПРИМЕЧАНИЕ Взято из ISO 22174:2005, 3.1.8.

3.10**предел количественного определения****quantification limit****limit of quantification****LOQ**

〈микробиология пищевых продуктов〉 наименьшее количество аналита (т.е. наименьшее фактическое число микроорганизмов), которое можно измерить количественно при определенной правильности и прецизионности в условиях метода, достоверность которого надо подтверждать

ПРИМЕЧАНИЕ Взято из ISO 16140:2003, 6.2.2.2.3.

3.11**прецизионность****precision**

близость согласования между результатами независимого испытания/измерения, полученными в предписанных условиях

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Прецизионность зависит только от распределения случайных ошибок и не связана с истинным значением или установленным значением.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Мера прецизионности обычно выражается в пересчете на nepřецизионность и вычисляется как стандартное (среднеквадратическое) отклонение результатов испытаний или результатов измерений. Меньшая прецизионность отображается большим стандартным отклонением.

ПРИМЕЧАНИЕ 3 Количественные меры прецизионности критически зависят от предписанных условий. Условия повторяемости и условия воспроизводимости являются конкретными наборами граничных предписанных условий.

[ISO 3534-2:2006 ^[1], 3.3.4]

4 Показатели результативности количественных и качественных методов обнаружения

4.1 Общие положения

Молекулярный метод обнаружения должен удовлетворять показателям результативности согласно данному международному стандарту. Информация о показателях результативности молекулярного метода обнаружения должна быть доступна. Сюда входит конкретная информация по межлабораторным исследованиям и исследованиям, проведенным одной лабораторией, включая соответствующие данные, полученные в процессе предварительного подтверждения метода (например, варьирование параметров, реактивов).

4.2 Область применения метода

Следует указать цель метода. Следует также представить информацию, касающуюся предполагаемого применения и ограничений методов. В частности, провайдер метода должен указать, что выполняют критерии, установленные данным международным стандартом.

4.3 Научная база

Следует обеспечить обзор принципов и ссылок на соответствующие научные публикации.

4.4 Селективность

4.4.1 Анализ инклюзивности

4.4.1.1 Общие положения

Следует предоставить эмпирические результаты проверки метода на целевом микроорганизме или вирусах. Такая проверка должна включать все соответствующие варианты или типы микроорганизма или вирусов в соответствии с областью применения метода (4.2).

4.4.1.2 Минимальные требования к специфичности

Варианты последовательностей целевого микроорганизма или вирусов следует обнаруживать с помощью сопоставимой эффективности амплификации, даже если присутствуют различия в участках связывания праймеров и/или зондов, как указано в области применения метода (4.2).

Если возможно, рекомендуется проанализировать 50 штаммов конкретного целевого микроорганизма или вируса.

4.4.2 Анализ эксклюзивности

4.4.2.1 Общие положения

Следует обеспечить эмпирические результаты проверки метода нецелевыми микроорганизмами или вирусами. Такая проверка должна включать как таксономически близкие, так и неблизкие микроорганизмы или вирусы.

Метод должен четко различать целевые и нецелевые микроорганизмы или вирусы.

4.4.2.2 Тест-системы для обнаружения бактерий

Выбирают минимум 30 штаммов, которые могут привести к интерференции с целевым микроорганизмом и пищевыми штаммами, естественно присутствующими в каждом анализируемом пищевом материале. Примеры подходящих микроорганизмов приведены в Приложении А.

Следует также включить вирусы, если подходят, например, если существует родство последовательностей олигонуклеотидов и последовательностей вирусных нуклеиновых кислот.

Не менее 90 % штаммов должны быть представлены бактериями. Остальные штаммы должны принадлежать дрожжам, плесеням и вирусам.

Четко обнаруживаемое количество ДНК, например, представляющее ДНК 10^6 клеток, следует использовать для проверки селективности. Пригодность ДНК, используемой для амплификации, следует подтвердить, например, с помощью рибосомной основанной на ДНК согласованной ПЦР-системы.

4.4.2.3 Тест-системы для обнаружения грибов

Выбирают не менее 30 штаммов нецелевых микроорганизмов или вирусов.

При валидации тест-системы для грибов, не менее 90 % штаммов должны быть представлены грибами. Остальные штаммы должны принадлежать бактериям и вирусам.

Если вирусы подходящие, их следует включить в анализ. Это может произойти, если существует родство последовательностей олигонуклеотидов и последовательностей вирусных нуклеиновых кислот.

Четко обнаруживаемое количество ДНК, например, представляющее ДНК 10^6 клеток, следует использовать для проверки селективности. Пригодность ДНК, используемой для амплификации, следует подтвердить, например, с помощью рибосомной основанной на ДНК согласованной ПЦР-системы.

4.4.2.4 Тест-системы для обнаружения вирусов

Для подтверждения тест-системы для обнаружения вирусов следует проверить не менее трех нецелевых штаммов вирусов.

Четко обнаруживаемое количество ДНК или РНК, например, представляющее ДНК или РНК 10^6 вирусных частиц или геном-эквивалентов вируса, следует использовать для проверки селективности. Пригодность нуклеиновой кислоты, используемой для амплификации, следует подтвердить, например, с помощью другой тест-системы.

4.5 Чувствительность (standards.iteh.ai)

4.5.1 Общие положения

Необходимо получить и описать в протоколе подтверждения метода анализа эмпирические результаты, полученные при проверке метода анализа при различных концентрациях для определения диапазона использования метода.

4.5.2 Минимальные требования к чувствительности для качественного анализа

Пищевые патогенные микроорганизмы, требующие качественного анализа, следует обнаруживать на уровне от 1 клетки до 10 клеток на анализ для бактерий или паразитов, и от 10 частиц до 100 частиц или геном-эквивалентов вируса, в определенном количестве матрицы анализируемой пробы. Концентрации связаны с внесенным количеством перед началом процедуры обнаружения (включая обогащение).

ПРИМЕЧАНИЕ Чувствительность реакции отличается от чувствительности метода. Чувствительность реакции можно точно определить по количеству нуклеиновой кислоты, используемой в качестве шаблона. Чувствительность метода, среди прочего, зависит от эффективности выделения на концентрацию.

Испытания должны осуществляться на образцах, содержащих микробиологическую фоновую микрофлору, соответствующую рассматриваемому пищевому продукту.

Оценка чувствительности должна включать пять различных категорий продукции.

4.5.3 Минимальные требования к чувствительности количественного анализа

Должны быть установлены верхнюю и нижнюю границы линейного диапазона метода.

Оценка этих границ и линейного диапазона должна осуществляться на образцах, содержащих микробиологическую фоновую микрофлору, соответствующую рассматриваемому пищевому продукту.

Оценка чувствительности должна включить пять различных категорий продукции.

Пользователь должен обеспечить, чтобы выбранный метод охватывал установленный диапазон обнаружения целевого параметра.

4.6 Устойчивость метода

4.6.1 Общие положения

Следует получить, если возможно, результаты эмпирической проверки метода в отношении небольших, но преднамеренных вариаций параметров метода (например, вариаций концентраций набора компонентов, вариаций параметров аппаратуры и т.д.).

4.6.2 Определение устойчивости

Устойчивость (метода) можно определить посредством проведения межлабораторных испытаний.

Результаты межлабораторных испытаний должны быть интерпретированы с точки зрения надежности в межлабораторных исследованиях. Метод считается пригодным, если результаты, полученные в разных лабораториях, отличаются незначительно.

4.7 Аналитические контроли

Аналитические контроли в соответствии с требованиями ISO 22174 должны быть четко установлены и их интерпретация записана. Сюда должны быть включены положительные и отрицательные, внутренние и внешние контроли амплификации, их подробное содержание, использование и интерпретация полученных результатов.

4.8 Правильность и прецизионность

Следует представить информацию по правильности и прецизионности рассматриваемого метода.

4.9 Приборы

Спецификации прибора могут повлиять на результативность метода. Оборудование, которое требуется для выполнения проверяемого метода, следует подробно описать в отношении подготовки образцов и молекулярного анализа.

Провайдер метода должен указать прибор(ы), на которых осуществлялось подтверждение рассматриваемого метода.

Лаборатории могут использовать оборудование, отличающееся от установленного провайдером метода, если экспериментальная проверка подтверждает, что получаются сопоставимые результаты.

5 Показатели результативности для валидации

5.1 Общие положения

Метод следует подтвердить, используя условия, в которых он выполняется.