ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 16000-18— 2013

ВОЗДУХ ЗАМКНУТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Часть 18

Обнаружение и подсчет плесневых грибков Отбор проб осаждением

ISO 16000-18:2011
Indoor air – Part 18: Detection and enumeration of moulds – Sampling by impaction

(IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации – ГОСТ Р 1.0 – 2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Автономной некоммерческой организацией «Научно-исследовательский центр контроля и диагностики технических систем» (АНО «НИЦ КД») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 457 «Качество воздуха»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 1647-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 16000-18:2011 «Воздух замкнутых помещений. Часть 18. Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Отбор проб осаждением» (ISO 16000-18:2011 «Indoor air – Part 18: Detection and enumeration of moulds – Sampling by impaction», IDT)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (gost.ru)

© Стандартинформ, 2014

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Введение

Плесень – общее название нитевидных грибков, принадлежащих к различным таксономическим группам (Аскомицеты, Зигомицеты и их анаморфные состояния, ранее известные как дейтеромицеты или несовершенные грибы). Они образуют мицелий и споры, по которым их можно визуально обнаружить с помощью микроскопа. Диаметр большинства спор составляет от 2 до 10 мкм, некоторые имеют размер до 30 мкм, и совсем небольшое число достигает в диаметре 100 мкм. Споры грибков некоторых видов малы и очень легко попадают в воздух (например аспергилл, пенициллин), а других – имеют большие размеры и/или покрыты слизью (стахиботрикс, фузариум) и не так подвижны.

Споры грибков широко распространены в окружающей среде, и поэтому в разном количестве они также встречаются в замкнутых помещениях. Рост плесени в замкнутых помещениях следует рассматривать как проблему, касающуюся здоровья граждан, поскольку результаты эпидемиологических исследований подтвердили тесную взаимосвязь между сыростью и/или ростом плесени в домах и ухудшением здоровья их обитателей.

Согласованные методы отбора проб, обнаружения и подсчета плесневых грибков, в том числе стандарты, устанавливающие методы отбора проб, важны для сравнительной оценки проблемы грибков в закрытом помещении. Перед проведением любых измерений необходимо разработать их методику.

Настоящий стандарт устанавливает методику активного кратковременного отбора проб (продолжительностью от 1 до 10 мин); методика долговременного отбора проб (продолжительностью от 0,5 ч до нескольких часов) описана в ИСО 16000-16.

Методика, установленная в настоящем стандарте, основана на VDI 4300-10 [5].

В серии стандартов ИСО 16017 (см. [8],[9]) и ИСО 12219 (см. [3] – [7]) установлены требования к измерениям при определении летучих органических соединений (ЛОС).

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ВОЗДУХ ЗАМКНУТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Часть 18

Обнаружение и подсчет плесневых грибков Отбор проб осаждением

Indoor air. Part 18. Detection and enumeration of moulds. Sampling by impaction

Дата введения — 2014—12—01

1 Область применения

В настоящем стандарте установлены требования к кратковременному (продолжительностью от 1 до 10 мин) отбору проб плесневых грибков в воздухе замкнутых помещений путем осаждения на твердую агаровую среду. В соответствии с приведенными рекомендациями получают пробу для последующего обнаружения плесневых грибков методом культивирования в соответствии с ИСО 16000-17.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – При применении настоящего стандарта может потребоваться использование опасных материалов, процедур и оборудования. В настоящем стандарте не рассмотрены требования безопасности, связанные с его применением. Обязанностью пользователя настоящего стандарта является установление подходящих методик и определение применимости инструкций по безопасности перед его использованием.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие международные стандарты:

ИСО 16000-16 Воздух замкнутых помещений. Часть 16. Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Отбор проб фильтрованием (ISO 16000-16, Indoor air — Part 16: Detection and enumeration of moulds — Sampling by filtration)

ИСО 16000-17 Воздух замкнутых помещений. Часть 17. Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Метод культивирования (ISO 16000-17, Indoor air — Part 16: Detection and enumeration of moulds — Culture based method).

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения[1)]

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

[1)] Термины 3.5, 3.9 установлены для целей настоящего стандарта, т. е. для оценки качества воздуха замкнутых помещений.

3.1 **аэродинамический диаметр** (aerodynamic diameter): Диаметр сферической частицы плотностью 1 г/см^3, которая в условиях спокойного воздуха под действием силы гравитации имеет скорость осаждения, равную скорости осаждения частицы в анализируемом воздухе при преобладающих значениях температуры, давления и относительной влажности.

Примечание – Взято из ИСО 7708, пункт 2.2 (см. [2]).

3.2 **эффективность сохранения биологической активности** (biological preservation efficiency): Способность устройства отбора проб поддерживать жизнеспособность взвешенных в воздухе микроорганизмов при их улавливании и сохранять в неповрежденном виде продукты их жизнедеятельности.

[ЕН 13098:2000] см. [10]

3.3 **колониеобразующая единица;** КОЕ (colony forming unit; cfu): Единица, с помощью которой выражают число микроорганизмов, способных к образованию культур.

[ЕН 13098:2000] см. [10].

Примечания

1 Одна колониеобразующая единица может происходить от одного отдельного микроорганизма, агрегатов нескольких микроорганизмов, а также от одного или нескольких микроорганизмов, присоединившихся к частице.

2 Число колоний может зависеть от условий культивирования.

3.4 **пороговое значение размера частиц** (cut-off value): Размер частиц (аэродинамический диаметр), для которого эффективность отбора проб составляет 50 %.

3.5 **культивирование** (cultivation): Выращивание микроорганизмов на питательной среде.

[ИСО 16000-16:2008, 3.6]

3.6 **нитевидный грибок** (filamentous fungus): Грибок, растущий в форме нитевидных клеток, называемых гифами.

Примечания

1 Гифы, соединенные в пучки, называются мицелиями.

2 Термин «нитевидные грибки» необходим для разделения грибков с гифальным ростом от дрожжевых грибков.

[ИСО 16000-16:2008, 3.3]

3.7 **осаждение** (impaction): Отбор проб частиц взвешенных в воздухе путем их отделения под действием инерционных сил на твердую поверхность.

Примечание – Твердая поверхность представляет собой агар (см. также ИСО 4225, 3.18 [1], где определены устройства, используемые при осаждении).

3.8 **микроорганизм** (microorganism): Любая микробиологическая форма, клеточная или неклеточная, способная к репликации или переносу генетического материала, или формы, утратившие эту способность.

[ЕН 13098:2000] [10]

3.9 **плесневые грибки** (mould): Нитевидные грибки, принадлежащие нескольким таксономическим группам, а именно Аскомицеты, Зигомицеты и их анаморфные состояния, ранее известные как дейтеромицеты или несовершенные грибы.

Примечание – Плесневые грибки образуют споры различного вида в зависимости от того, к какой таксономической группе они принадлежат, а именно конидиоспоры (конидиа), спорангиоспоры и аскоспоры.

[ИСО 16000-16:2008, 3.9]

3.10 **физическая эффективность отбора проб** (physical sampling efficiency): Способность пробоотборника улавливать взвешенные в воздухе частицы определенных размеров.

[ЕН 13098:2000] [10]

3.11 **общая эффективность отбора проб** (total sampling efficiency): Произведение физической эффективности отбора проб на эффективность сохранения биологической активности.

[ЕН 13098:2000] [10]

4 Общие положения

Определенное количество воздуха просасывается через импактор, содержащий одну или несколько чашек Петри с агаровой средой (DG18 и агар на солодовом экстракте или картофельный агар с декстрозой). Частицы, находящиеся в потоке воздуха, осаждаются на поверхности агара вследствие их инерции, когда поток воздуха направляется в обход твердой поверхности.

Взвешенные в воздухе плесневые грибки, таким образом, собираются непосредственно на агаровой среде в чашках Петри.

Устройство отбора проб предназначено для обнаружения частиц размером, близким к размеру спор плесневых грибков (от более 1 мкм до приблизительно 30 мкм). Для достижения этого пороговое значение размера частиц для устройства отбора проб предпочтительно должно составлять 1 мкм или менее, но не более 2 мкм.

Примечание – Широко применяют и серийно выпускают импакторы двух основных типов: a) щелевые пробоотборники; b) пробоотборники с сетчатыми фильтрами. В щелевых пробоотборниках воздух просасывается через узкую щель, и частицы осаждаются на агаровой среде во вращающейся чашке Петри. В пробоотборниках с сетчатыми фильтрами воздух прокачивается через сетку с отверстиями определенного диаметра, и частицы осаждаются на агаровой среде в чашке Петри, установленной ниже. Пробоотборники с сетчатыми фильтрами могут работать как комплекты различных сетчатых фильтров, что приводит к различным скоростям потока для улавливания различных гранулометрических фракций частиц (например шестиступенчатый каскадный импактор Андерсена). Результаты валидации приведены только для одноступенчатых импакторов с сетчатыми фильтрами (в основном, с числом отверстий не менее 300), применяемых с агаровой средой в чашках Петри, диаметром 9 см.

После отбора проб споры плесневых грибков культивируют и подсчитывают полученные колонии в соответствии с методикой, установленной в ИСО 16000-17.

5 Оборудование и материалы

5.1 Устройство отбора проб

Подробное описание одноступенчатого импактора с сетчатым фильтром приведено в приложении А. Многоступенчатые импакторы применяют только с особыми целями, когда требуется определение гранулометрического состава частиц.

5.1.1 Стойка для размещения импактора на требуемой высоте.

5.1.2 Импактор щелевого типа или импактор с сетчатым фильтром.

5.1.3 Чашки Петри с агаровой средой, диаметром 9 см, содержащие 18 %-ый дихлоранглицериновый агар (DG18), агар на солодовом экстракте или картофельный агар с декстрозой (см. раздел 6).

5.1.4 Вакуумный насос, обеспечивающий постоянный расход воздуха во время непрерывной работы.

5.1.5 Газовый счетчик для определения объема воздуха, в кубических метрах, просасываемого через пробоотборную насадку.

5.1.6 Таймер для предварительной настройки времени и продолжительности отбора проб.

5.1.7 Экран для защиты импактора от неблагоприятных погодных условий (необязательно, в основном, только при использовании на открытом воздухе).

5.2 Оборудование для подготовки чашек Петри

Используют оборудование для микробиологической лаборатории и, в частности, следующее.

5.2.1 pH-метр с пределами допускаемой погрешности ± 0,1 единицы pH.

5.2.2 Чашки Петри с вентиляционным отверстием, стерильные, диаметром приблизительно 9 см.

5.2.3 Автоклав, обеспечивающий стерилизацию при температурах (121 ± 3) °С и (115 ± 3) °С.

5.3 Оборудование для отбора проб

5.3.1 Полиэтиленовые пакеты для защиты чашек Петри во время транспортирования.

5.3.2 Герметичные контейнеры-холодильники для транспортирования чашек Петри при температуре ниже 25 °С.

5.3.3. Дезинфицирующее средство, например изопропанол или этанол (с объемной долей основного вещества 70 %).

5.3.4 Сжатый воздух (не содержащий масла, необязательно) для сушки оборудования после дезинфекции.

6 Питательная среда для культур и реактивы

6.1 Общие положения

Все реактивы и химикаты должны быть известной степени чистоты «Химически чистый» («х.ч.») или чище. Следует использовать дистиллированную воду или воду эквивалентной чистоты.

Рекомендуется использовать серийно выпускаемые обезвоженные подложки при условии, что они соответствуют установленным требованиям. Их приготовляют в соответствии с инструкциями изготовителя.

6.2 18 %-ый дихлоранглицериновый агар

Состав агара приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Состав 18 %-ого дихлоранглицеринового агара (агар DG18)

Компонент	Количество
Пептон[a)]	5,0 г
Глюкоза	10,0 г
Дигидрофосфат калия (KH_2PO_4)	1,0 г
Семиводный сульфат магния ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0,5 г
Раствор дихлорана (2,6-дихлоро-4-нитроанилин) в этаноле с объемной долей 0,2 %	1,0 мл
Хлорамфеникол	0,1 г
Глицерин	220 г[b)]
Агар	15,0 г
Вода	1000 мл

[a)] Разные изготовители применяют различные пептоны (например, казеиновый, микологический). Обычно это не влияет на количественные результаты измерений, но может влиять на внешний вид колоний. Поэтому необходим положительный контроль для сравнения извлечения и морфологического вида колоний.

[b)] Массовая доля вещества 18 % соответствует приблизительно 220 г агара в 1220 г раствора.

Вводят вспомогательные ингредиенты и агар в ~ 800 мл воды и растворяют при кипячении. Доводят водой до метки 1000 мл и добавляют 220 г глицерина. Стерилизуют в автоклаве при температуре (121 ± 3) °С в течение (15 ± 1) мин. После стерилизации pH должен быть в пределах 5,6 ± 0,2 при 25 °С. Переносят аликвоты объемом приблизительно 20 мл в чашки Петри.

Чашки с агаром DG18, упакованные в пакеты, можно хранить в темном месте при температуре (15± 3) °С в течение недели.

Примечания

1 В зависимости от сопутствующей флоры могут быть использованы другие антибиотики, например, стрептомицин или ампициллин, при условии, что они не оказывают влияние на результаты испытаний.

2 Агар DG18 подходит для обнаружения широкого спектра ксерофильных грибков (т.е. грибков, предпочитающих сухость). Глицерин понижает активность воды a_{H_2O} до 0,95. Хлорамфеникол подавляет деятельность бактерий, особенно грамм-отрицательных. Дихлоран подавляет распространение быстрорастущих колоний плесневых грибков, тем самым обеспечивая возможность для роста медленно растущих колоний.

6.3 Агар на солодовом экстракте

Состав агара приведен в таблице 2.

Таблица 2 – Состав агара на солодовом экстракте

Компонент	Количество
Солодовый экстракт	30,0 г
Соевый пептон	3,0 г
Агар	15,0 г
Вода	1000 мл

Примечания

1 При необходимости может потребоваться добавление хлорамфеникола (0,05 г/л), если пробы содержат большое число бактерий.

2 В зависимости от сопутствующей флоры могут быть использованы другие антибиотики, например, стрептомицин или ампициллин, при условии, что они не оказывают влияние на результаты испытаний.

Вводят все компоненты и агар в воду и растворяют при кипячении. Стерилизуют в автоклаве при температуре (115 ± 3) °С в течение (10 ± 1) мин. После стерилизации pH должен быть в пределах 5,5 ± 0,2 при 25 °С. Переносят аликвоты объемом приблизительно 20 мл в чашки Петри.

Чашки с агаром на солодовом экстракте, упакованные в пакеты, можно хранить в темном месте при температуре (5 ± 3) °С в течение месяца.

ВАЖНО – Серийно выпускают агар на солодовом экстракте различного состава. Убеждаются в том, что их состав соответствует приведенному в таблице 2.

6.4 Картофельный агар с декстрозой

Состав агара приведен в таблице 3.

Таблица 3 – Состав картофельного агара с декстрозой

Компонент	Количество
Картофельный экстракт	4,0 г
Глюкоза	20,0 г
Агар	15,0 г
Вода	1000 мл

Примечания

1 Если пробы содержат большое число бактерий, может потребоваться добавление хлорамфеникола (0,05 г/л).

2 В зависимости от сопутствующей флоры могут быть использованы другие антибиотики, например, стрептомицин или ампициллин, при условии, что они не оказывают влияние на результаты испытаний.

Вводят все компоненты и агар в воду и растворяют при кипячении. Стерилизуют в автоклаве при температуре (115 ± 3) °С в течение (10 ± 1) мин. После стерилизации pH должен быть в пределах 5,6 ± 0,2 при 25 °С. Переносят аликвоты объемом приблизительно 20 мл в чашки Петри.

Чашки с картофельным агаром с декстрозой, упакованные в пакеты, можно хранить в темном месте при температуре (5 ± 3) °С в течение месяца.

7 Методика

7.1 Основные положения

Подготавливают необходимое число импакторов и чашек с агаровой средой в соответствии с целью и методикой измерений. Для регулярных измерений с одноступенчатыми импакторами рекомендуется отбирать параллельные пробы воздуха разного объема (например, 2×50 л и 2×100 л) в каждой точке отбора проб, а также одну холостую пробу. Поэтому для каждой точки отбора проб необходимо, как минимум, пять чашек с агаром DG18, и пять чашек с агаром на солодовом экстракте или с картофельным агаром с декстрозой.

Проверяют комплектность и функционирование оборудования в соответствии с контрольным перечнем.

Проверяют градуировку устройства отбора проб. При необходимости осуществляют очередную градуировку перед проведением измерений (см. раздел 9).

В каждой точке отбора проб применяют стерильное устройство отбора проб щелевого типа или с сетчатым фильтром. В качестве альтернативы стерилизации щель или сетчатый фильтр могут быть продезинфицированы этанолом или изопропанолом (с объемной долей основного вещества 70 %) с последующей сушкой воздухом (например с применением сжатого воздуха). Для этого пропускают воздух через импактор без чашек Петри с агаром в каждой новой точке отбора проб в течение нескольких минут перед отбором проб с чашками Петри.

Собирают установку для отбора проб в соответствии со схемой, приведенной на рисунке 1.

7.2 Отбор проб

Осуществляют оперативный контроль установки для отбора проб через равные промежутки времени. Под оперативным контролем следует понимать, главным образом, регулирование объемного расхода.

Отбор проб обычно проводят на высоте от 0,75 до 1,5 м от пола. В особых случаях допустимо проводить отбор проб на другой высоте. Следят за тем, чтобы пыль, осевшая на пол в доме, не попала в устройство отбора проб при его размещении на небольшой высоте от пола. При размещении импактора в замкнутом помещении с неинтенсивным движением воздуха ориентация его входного отверстия имеет второстепенное значение. Закрепление пробоотборной насадки необходимо только в том случае, если наблюдается интенсивное движение воздуха (например, при проведении сравнительных измерений на открытом воздухе).

Помещают чашки Петри с агаром со снятой крышкой в импакторы. Избегают загрязнения чашек Петри с агаром или устройства отбора проб.

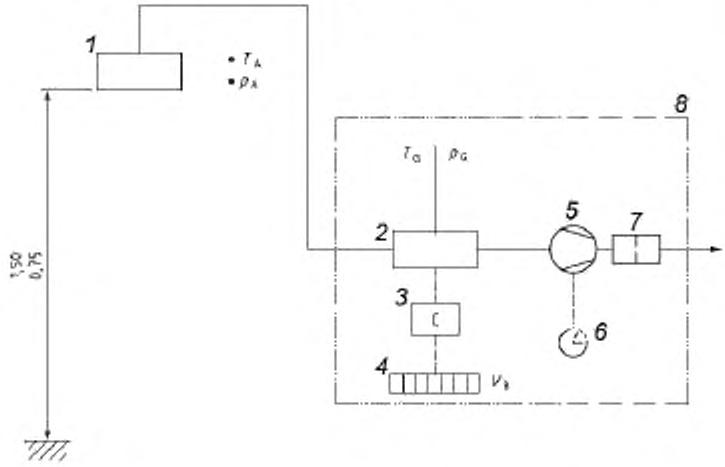
Включают устройство отбора проб в соответствии с инструкциями изготовителя.

По завершении отбора проб удаляют чашки Петри с агаровой средой из устройства отбора проб, закрывают крышкой, запаковывают их в полиэтиленовые пакеты для предотвращения какого-либо вторичного загрязнения.

Заполняют протокол отбора проб (см. раздел 11 и приложение В).

Рекомендуется проводить несколько измерений, отбирая пробы разного объема. Это особенно важно, если ожидаемый уровень содержания плесневых грибков неизвестен. При каждом отборе проб используют новую чашку Петри с агаром.

Отбирают как минимум одну холостую пробу для условий применения для каждой агаровой среды в каждой серии измерений. Предпочтительно отбирают холостую пробу в середине серии измерений таким же образом, как и реальную пробу, но при этом не пропускают воздух через устройство отбора проб. С этой целью помещают чашку Петри с агаровой средой со снятой крышкой в импактор при выключенном насосе, а затем вынимают, закрывают, запаковывают и обрабатывают чашку Петри с агаром таким же образом, как и загруженные чашки Петри. Не допускают длительного воздействия атмосферного воздуха на открытую чашку с агаровой средой. Результат анализа холостой пробы представляет собой число колониеобразующих единиц, попадающих в пробу при обращении с чашками Петри с агаровой средой во время отбора проб.



1 – импактор и стойка для его размещения; 2 – объемный газовый счетчик (например, измерительная диафрагма, тепловой расходомер); 3 – блок электроники для преобразования показаний в кубические метры; 4 – дисплей для отображения объема воздуха в кубических метрах; 5 – вакуумный насос; 6 – таймер; 7 – фильтр для крупных твердых частиц (при использовании пластинчато-роторного вакуумного насоса), 8 – корпус для защиты от неблагоприятных условий окружающей среды; T_A – температура атмосферного воздуха; p_A – атмосферное давление; T_G – температура отбираемого газа; p_G – давление отбираемого газа, V_B – объем отбираемого газа

Рисунок 1 – Схема подсоединения приборов для отбора проб

7.3 Продолжительность отбора проб и объем отобранной пробы

Продолжительность отбора проб и ее отобранный объем определяют в зависимости от целей измерений и ожидаемым содержанием плесневых грибков. Обычно продолжительность отбора проб составляет от 1 до 10 мин. Не рекомендуется отбирать пробы объемом менее 50 л из-за погрешности определения объема отобранного воздуха, обусловленной «мертвым» объемом устройства отбора проб (см. приложение С).

7.4 Транспортирование и хранение проб

Защищают чашки с агаровой средой от неблагоприятных воздействий (солнечного света, влажности или пересушивания, перегрева, пыли и т.д.) и транспортируют их в лабораторию сразу после отбора проб, размещая рабочей поверхностью вверх в герметично закрытых контейнерах (см. 5.3.2). Температура в контейнере для транспортирования отобранных проб должна соответствовать температуре культивирования и находиться в пределах (25 ± 3) °С. При необходимости во время транспортирования пробы охлаждают. Но следят за тем, чтобы они не заморозились и не доводят до очень низких температур во избежание конденсации. Регистрируют условия во время транспортирования (температуру окружающей среды, влажность и продолжительность). Предпочтительно проанализировать пробы в промежутке, не превышающем 24 ч после окончания их отбора, но не позднее, чем через 48 ч.

8 Эффективность отбора проб и ограничения метода

Ограничения метода определяются физической и биологической эффективностью отбора проб.

Физическая эффективность отбора проб определяется пороговым значением устройства отбора проб по размеру частиц. Желательно, чтобы пороговое значение было не более 1 мкм, но оно не должно быть более 2 мкм для обеспечения эффективного отбора проб небольших спор.

Эффект обезвоживания, влияющий на биологическую эффективность отбора проб непостоянен, и зависит от температуры, относительной влажности воздуха, продолжительности отбора проб и типа плесневых грибков в момент измерения. Риск обезвоживания во время осаждения небольшой, поскольку отбор проб кратковременный, а осаждение происходит непосредственно на агаровые пластинки.

Оптимальным для подсчета колоний будет их число в диапазоне от 20 до 40 колоний на каждую агаровую пластинку (относительно подсчета в диапазоне от 10 до 100 колоний на чашку Петри см. ИСО 16000-17). Таким образом необходимо, чтобы объем отбираемой пробы был подобран в соответствии с ожидаемым содержанием грибков в воздухе для предотвращения:

– перегрузки агаровых пластинок, приводящей к заниженной оценке содержания (см. приложение С);

– слишком малого числа колоний в каждой чашке Петри, которое будет недостаточным для получения статистически достоверных результатов.

9 Градуировка оборудования по расходу воздуха и техническое обслуживание системы отбора проб

9.1 Градуировка оборудования по расходу воздуха

Проводят градуировку устройства отбора проб с помощью газового счетчика утвержденного типа, погрешность измерения объема воздуха которого в кубических метрах, приведенного к реальным условиям, находится в пределах ± 2 %. Подсоединяют газовый счетчик к входному отверстию устройства отбора проб. Убеждаются в том, что входное отверстие газового счетчика свободно. Определяют точность дисплея устройства отбора проб по показанию газового счетчика. При просасывании воздуха через устройство отбора проб в течение 30 мин отклонение показания дисплея устройства отбора проб от показания газового счетчика утвержденного типа должно быть в пределах ± 1 %.

Периодичность проверки градуировки оборудования по расходу воздуха (оперативный контроль) зависит от стабильности его работы. Полную градуировку выполняют перед началом новой серии измерений или после значительных изменений, например, если было установлено новое или отремонтированное оборудование или после технического обслуживания насоса. Если расход, определенный с помощью эталона сравнения, отклоняется более, чем на 2 % значения, требуемого для

корректной работы входного отверстия, регулируют объемную скорость потока в соответствии с инструкциями изготовителя. Убеждаются в том, что во время отбора проб не происходит изменения потока воздуха более, чем на 2 % и, что время, необходимое для достижения требуемой скорости отбора проб в начале процесса отбора проб, остается по возможности наиболее коротким для сведения к минимуму влияния объема пробы.

Для некоторых устройств отбора проб проверку и настройку номинального потока не может осуществить пользователь, однако ее регулярно выполняет изготовитель. В этом случае постоянный поток в течение межградуировочного интервала должен быть гарантирован изготовителем, а устройство отбора проб должно быть оснащено встроенной системой контроля, предотвращающей отклонения от номинального потока.

9.2 Оперативный контроль и техническое обслуживание системы отбора проб

Техническое обслуживание механических частей системы отбора проб (входного отверстия и подсоединяемых трубок), в том числе проверку герметичности проводят в соответствии с инструкциями изготовителя.

10 Обеспечение качества

Гарантируют правильную работу устройства отбора проб, например, посредством проверки его герметичности (см. 9.2) и регулярной градуировки расхода устройства отбора проб для обеспечения постоянного определения объема пробы (см. 9.1). Кроме того, с особым вниманием следят за работой насоса и обращением с чашками Петри с агаровой средой.

Лаборатория должна иметь документированное руководство по качеству, находящееся в свободном доступе для сотрудников.

11 Протокол отбора проб

Маркируют пробы для их однозначной идентификации.

Заполняют протокол отбора проб для каждой пробы перед ее отбором (или сразу после отбора).

Протокол должен содержать, по крайней мере, следующую информацию:

a) ссылку на настоящий стандарт;

b) ФИО и адрес заказчика;

c) цель измерений;

d) тип применяемого устройства отбора проб;

e) объем пробы воздуха, дату, время, описание места и продолжительности отбора проб;

f) результаты анализа холостой пробы;

g) ФИО лаборанта, отбиравшего пробу.

Также, по возможности, может быть указан перечень необходимых для анализа параметров, которые впоследствии могут быть учтены при выборе методов анализа в лаборатории. Может потребоваться другая дополнительная информация (например по температуре и влажности воздуха, подробное описание точки отбора проб, тип системы вентиляции, любые наблюдения или явления, которые могли повлиять на содержание плесневых грибков в воздухе).

Пример протокола отбора проб приведен в приложении В.

Примечание – Дополнительные параметры, такие как давление воздуха, направление ветра, скорость ветра, и климатические условия могут иметь значение при проведении измерений в окружающем воздухе.

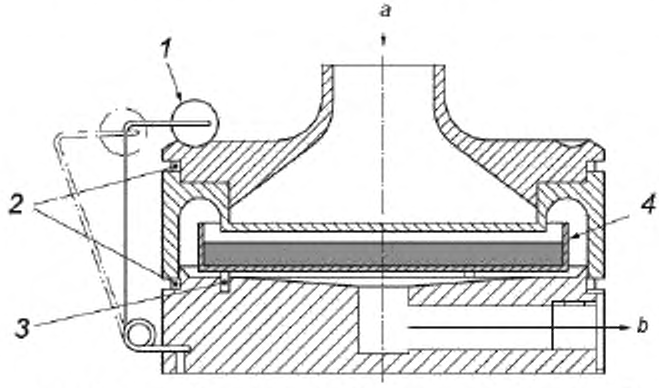
12 Характеристики эффективности

Пригодность метода изначально была проверена на основе сравнительных измерений с применением 18 %-ного глицеринового агара с дихлораном (DG18) (см. приложение С).

Приложение А
(справочное)

Техническое описание удобного одноступенчатого импактора с сетчатым фильтром

Схема удобного устройства отбора проб (одноступенчатого импактора) приведена на рисунке А.1.



1 – зажим; *2* – уплотнительные кольца; *3* – центрирующее приспособление для чашки Петри; *4* – чашка Петри с агаровой средой;
a – отверстие для впуска воздуха; *b* – отверстие для выпуска воздуха
Рисунок А.1 – Схема одноступенчатого импактора

Приложение В
(справочное)

Протокол отбора проб

Примечание – ИСО оставляет за пользователями настоящего стандарта право на воспроизведение протокола отбора проб, приведенного ниже, исключительно в целях выполнения требований данной части настоящего стандарта или применение другого протокола отбора проб.

Заказчик:	Назначение №:
Объект:	Тип и серийный номер устройства:
Место проведения измерений:	Дата:

Тип агара/ № чашки Петри	Время начала отбора пробы	Объем пробы, $м^3$	Продолжительность отбора пробы, мин	Высота размещения устройства, м	Температура, °С	Относительная влажность, %	Примечание, например, появление запаха	Мешающие влияния во время отбора проб, например, деятельность людей в комнате, HVAC[a)]

[a)] Нагревание, вентиляция и кондиционирование воздуха

Примечания:

ФИО лаборанта: Дата и подпись:

Приложение С
(справочное)

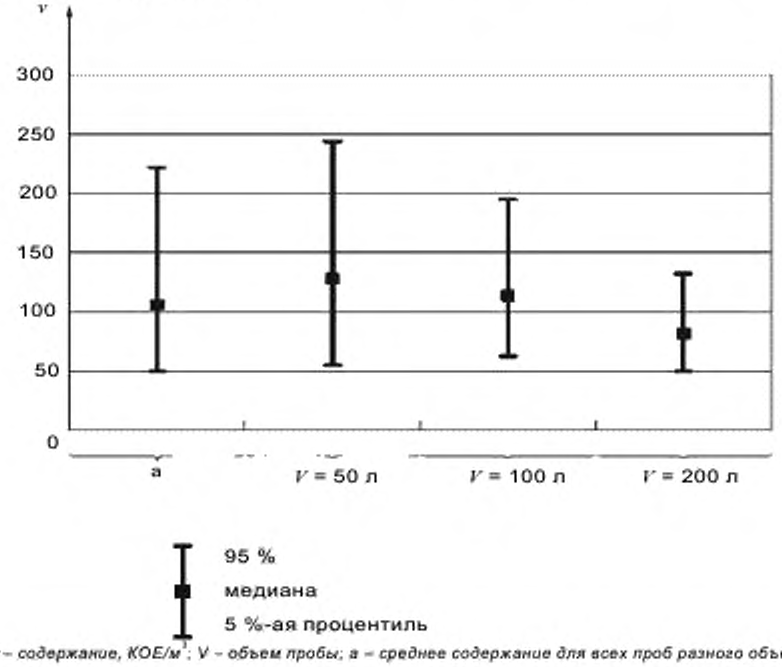
Результаты испытаний, проведенных при валидации метода

Для проверки применимости метода отбора проб, установленного в настоящем стандарте, было проведено три испытания в условиях применения, согласованных Немецкой ассоциацией по экологичному строительству (Berufsverband Deutscher Baubiologen, Association of German Green Builders) (см. [12]).

Испытания проводили в двух различных конференц-залах (первое и второе испытания соответственно) и в церкви (третье испытание) с естественной вентиляцией. За 1 ч до отбора проб были закрыты окна. Во всех испытаниях методом осаждения были отобраны параллельные пробы объемами 50, 100 и 200 л. В третьем испытании пробы объемом 50 л были отобраны в начале и в конце программы отбора проб, и были получены сопоставимые результаты, показавшие, что содержание грибков оставалось постоянным на протяжении всего периода отбора проб.

Чашки с агаром DG18 были предоставлены одной центральной лабораторией (Учреждение здравоохранения Баден-Вюртемберга, Штутгарт) всем лабораториям-участникам испытаний для предотвращения влияния агаровой среды на результаты. Все чашки с агаром прошли процедуру культивирования и были проанализированы в центральной лаборатории. При первом испытании проводили дополнительный отбор проб в чашки Петри с агаром, которые затем прошли процедуру культивирования с последующим анализом в лабораториях-участниках испытаний или были отправлены с этими целями в аналитические лаборатории.

Во время первого испытания (в июне 2005 года) 34 лаборатории провели отбор проб методом осаждения с помощью различных устройств отбора проб. Содержание грибков (число колониеобразующих единиц в кубическом метре) в помещении было относительно низким. Среднее общее содержание, вычисленное на основе результатов подсчета для всех проб разного объема, составило 100 КОЕ/м^3 (см. рисунок С.1). Однако, результаты отличались, если вычислялись отдельно для проб разного объема. Значительно более высокие значения были получены при отборе проб объемами 50 и 100 л (131 КОЕ/м^3 и 120 КОЕ/м^3 соответственно) по сравнению с пробой объемом 200 л (85 КОЕ/м^3). Подобный результат указывает на то, что подавление роста колоний может происходить уже при относительно небольшом числе колоний в чашке с агаром (около двадцати колоний для пробы объемом 200 л). Пересушиванием, скорее всего, нельзя объяснить низкие значения содержания для проб объемом 200 л, из-за, в целом, непродолжительного отбора проб и того обстоятельства, что осаждение происходит непосредственно на поверхность агара.

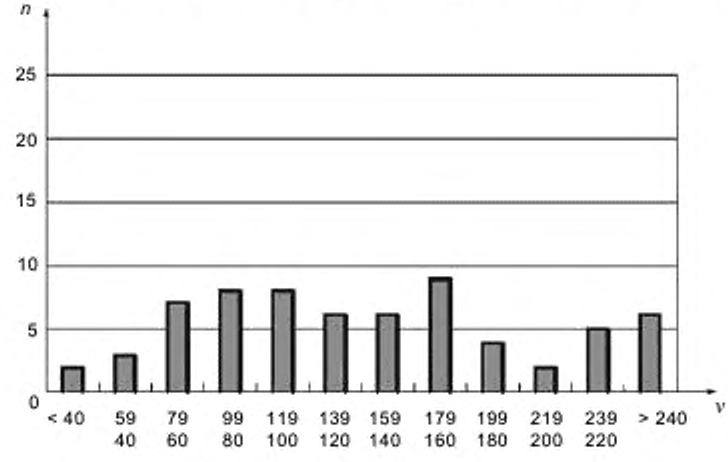


V – содержание, КОЕ/м^3; V – объем пробы; a – среднее содержание для всех проб разного объема

Рисунок С.1 – Содержание колоний в пробах разного объема, полученных методом осаждения на агар DG18 в первом испытании

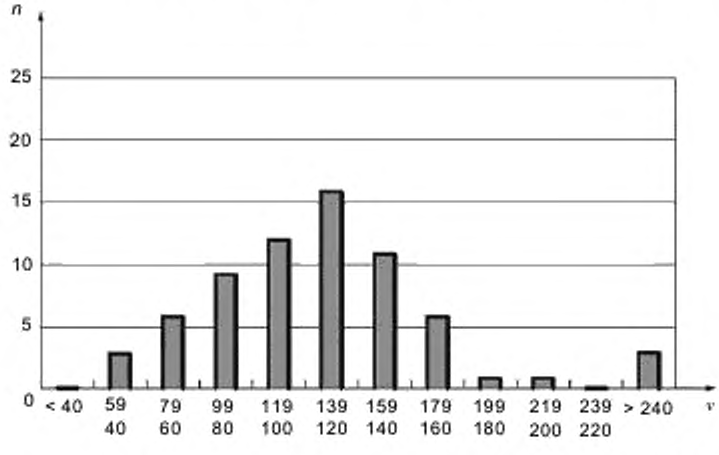
Наибольшее стандартное отклонение было получено при отборе проб объемом 50 л, наименьшее – объемом 200 л. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при небольшом числе колоний на чашках Петри для результатов характерно более высокое стандартное отклонение. Аналогичная зависимость наблюдалась при сравнении числа подсчитанных колоний разных родов. Содержание *Cladosporium* spp. и *Penicillium* spp. составляло порядка 50 КОЕ/м^3 со стандартным отклонением около 30 %. Содержание колоний грибков других видов было ниже, а стандартное отклонение результатов увеличилось и составило от 50 % до 200 %. Стандартное отклонение общего числа колоний 100 КОЕ/м^3 составило 23 %. Результаты подсчета колоний были распределены по нормальному закону для проб объемами 100 и 200 л, но не для проб объемом 50 л (см. рисунки С.2 – С.4). Эти результаты являются подтверждением условия, в соответствии с которым при числе колоний менее десяти подсчеты не следует использовать в качестве количественных результатов.

Стандартное отклонение результатов, полученных на агаровых пластинках, анализ которых был выполнен в лабораториях-участниках испытаний, а не в референтной лаборатории, были значительно выше. Для содержания колоний в диапазоне от 40 до 100 КОЕ/м^3 было получено стандартное отклонение от 60 % до 80 %.



n – число результатов; v – содержание, КОЕ/м^3

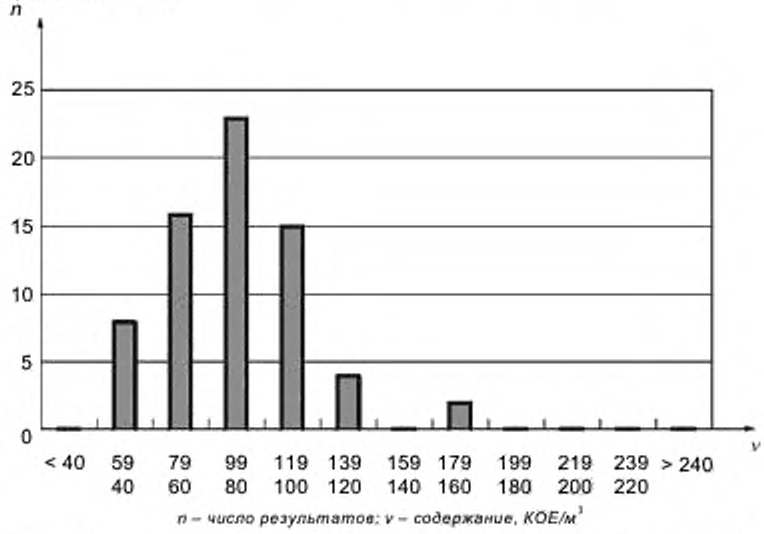
Рисунок С.2 – Число результатов, полученных в разных диапазонах содержания для проб объемом 50 л; распределение результатов не соответствует нормальному закону



n – число результатов, v – содержание (КОЕ/м^3)n – число результатов; v – содержание, КОЕ/м^3

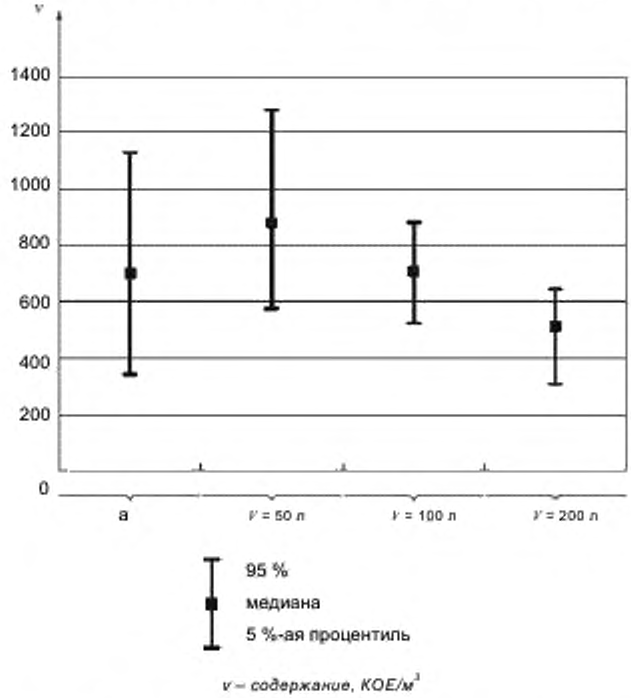
Рисунок С.3 – Число результатов, полученных в разных диапазонах содержания для проб объемом 100 л; распределение результатов соответствует нормальному закону

При испытаниях в 34 лабораториях применялись различные устройства отбора проб (число установок для отбора проб указано в круглых скобках): Holbach LKS30[1)] (15), MBASS30[1)] (11), RCS[1)] (4), MAS-100[1)] (2), Spin Air[1)] (1), FH2 Loreco[1)] (1). Результаты были сопоставимы для всех устройств отбора проб, за исключением пробоотборников RCS. Подсчеты колоний, соответствующие медиане распределения, полученные с использованием пробоотборников RCS, составили около половины значения содержания, полученного при применении других пробоотборников (см. рисунок С.5).



n – число результатов; v – содержание, КОЕ/м³

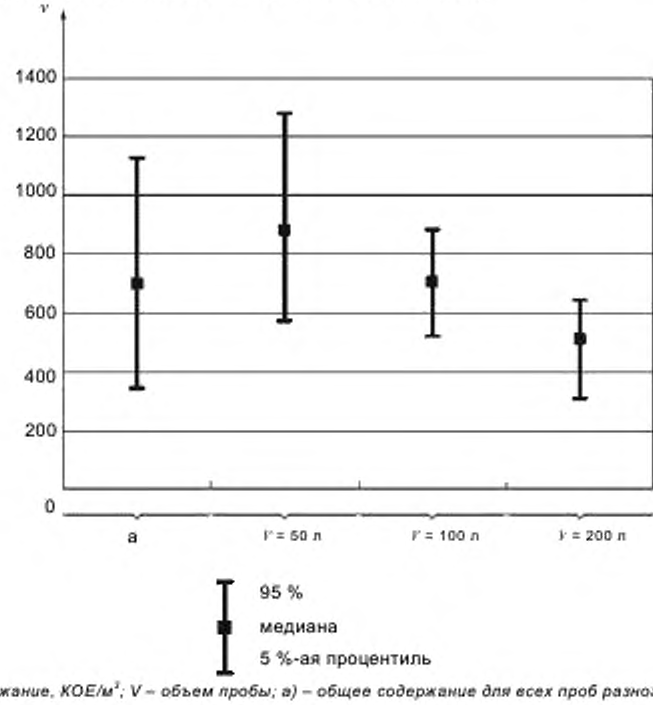
Рисунок С.4 – Число результатов, полученных в разных диапазонах содержания для проб объемом 200 л; распределение результатов соответствует нормальному закону



[1)] Оборудование выпускается серийно. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ИСО данной продукции.

Рисунок С.5 – Счетная концентрация колоний в пробах, полученных в первом испытании методом осаждения на агар DG18 с применением различных устройств отбора проб

Во время второго испытания (июнь 2006 года), в котором приняло участие 33 лаборатории, был проведен отбор проб методом осаждения с помощью различных устройств отбора проб. Содержание грибков в помещении было выше по сравнению с результатами, полученными в первом испытании. Среднее общее содержание, вычисленное на основе результатов для проб разного объема, составило приблизительно 700 КОЕ/м^3 (см. рисунок С.6). При отдельных вычислениях для проб разного объема результаты отличались (статистически значимо). Было обнаружено, что при увеличении объема отбираемой пробы уменьшается содержание: 884 КОЕ/м^3 – для проб объемом 50 л, 704 КОЕ/м^3 – для проб объемом 100 л и 508 КОЕ/м^3 – для проб объемом 200 л. Число колоний в чашках Петри находилось в пределах диапазона, который был оптимален только при подсчете для проб объемом 50 л. Для проб объемами 100 и 200 л число колоний в чашках Петри было слишком большим для точного подсчета. Этим можно объяснить более низкое значение среднего содержания, полученное для проб большего объема. Стандартные отклонения результатов были сопоставимы со значениями, вычисленными в первом испытании (20 % в диапазоне содержания, оптимальном для подсчета). Подсчеты колоний были распределены по нормальному закону для проб разного объема (данные не приведены).



v – содержание, КОЕ/м^3; V – объем пробы; а) – общее содержание для всех проб разного объема

Рисунок С.6 – Содержание колоний в пробах разного объема, полученных методом осаждения на агар DG18 во втором испытании

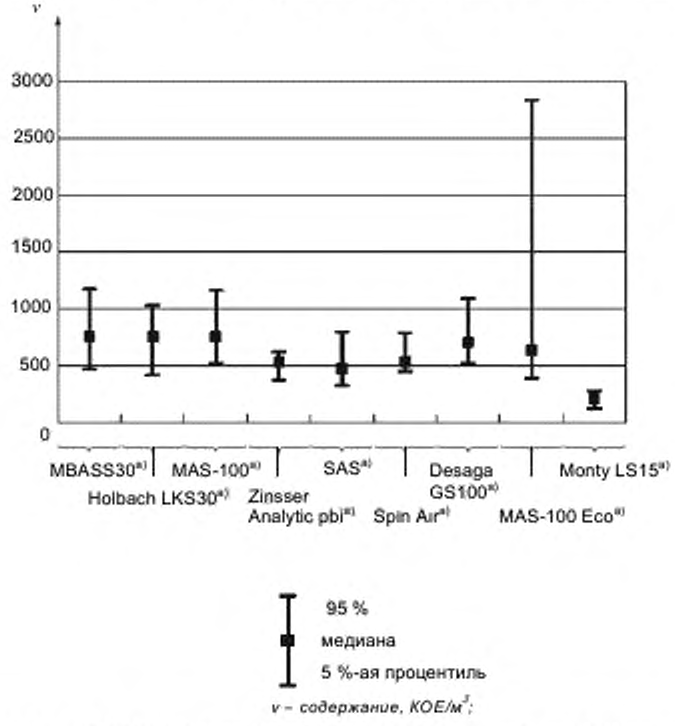
В испытаниях, в которых участвовали 33 лаборатории, применялись различные устройства отбора проб (число установок для отбора проб указано в круглых скобках): Holbach LKS30[1)] (11), MBASS30[1)] (12), MAS-100[1)] (4), Spin Air[1)] (1), Zinsser Analytic pbi[1)] (1), Desaga GS100[1)] (1), SAS[1)] (1), MAS-100 Eco[1)] (1), Monty LS15[1)] (1). Полученные результаты были сопоставимы для устройств отбора проб MBASS, LKS30, MAS-100 и Desaga GS100. Несколько меньшее содержание колоний было получено при применении устройств отбора проб Spin Air, Zinsser Analytic pbi, SAS и MAS-100 Eco, хотя сравнение полученных результатов было затруднено из-за их небольшого числа. Значительно более низкое содержание было получено при применении Monty LS15 (см. рисунок С.7). Использование агаровых пластинок небольшого диаметра при отборе проб с применением Zinsser Analytic pbi, SAS и Monty LS15 могло быть одной из причин получения более низкого содержания колоний.

В ходе третьего испытания (в июне 2007 года), в котором участвовали 35 лабораторий, отбирались пробы методом осаждения с использованием различных устройств отбора проб. Содержание грибков в помещении было выше, чем при первом и втором испытаниях. Среднее общее содержание составило приблизительно 2000 КОЕ/м^3. (см. рисунок С.8). Для подсчета могли быть использованы только чашки Петри с агаром, полученные при

[1)] Оборудование выпускается серийно. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ИСО данной продукции.

отборе проб объемом 50 л (приблизительно 100 колоний на пластинке). На агаровых пластинках при отборе проб объемом 100 или 200 л, наблюдался усиленный рост числа колоний, которое превысило ожидаемое число 200 и 400. Эти результаты, очевидно, показывают ограничения метода осаждения при высоком содержании грибков в воздухе. Стандартные отклонения результатов составляли приблизительно 5 % для общего подсчета колоний и для грибков преобладающего рода *Cladosporium*. Для грибков других родов, присутствующих в небольшом количестве, стандартное отклонение было выше (от 50 % до 100 %). Подсчеты колоний были распределены по нормальному закону для проб объемом 50 л (данные не приведены).

В испытаниях, в которых участвовали 35 лабораторий, применялись различные устройства отбора проб (число установок для отбора проб указано в круглых скобках): Holbach LKS30[1)] (13), MBASS30[1)] (15), MAS-100[1)] (5), Spin Air[1)] (1) и Desaga GS100[1)] (1). Полученные результаты были сопоставимы для MBASS, LKS30 и MAS-100 (см. рисунок С.8). Несколько бóльшие значения содержания были получены при применении устройств Spin Air и Desaga GS100, хотя сравнение полученных результатов было трудно осуществить из-за их небольшого числа



Примечание – [a)] Оборудование выпускается серийно. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ИСО данной продукции.

Рисунок С.7 – Содержание грибков, полученное во втором испытании при отборе проб с применением различных устройств отбора проб/

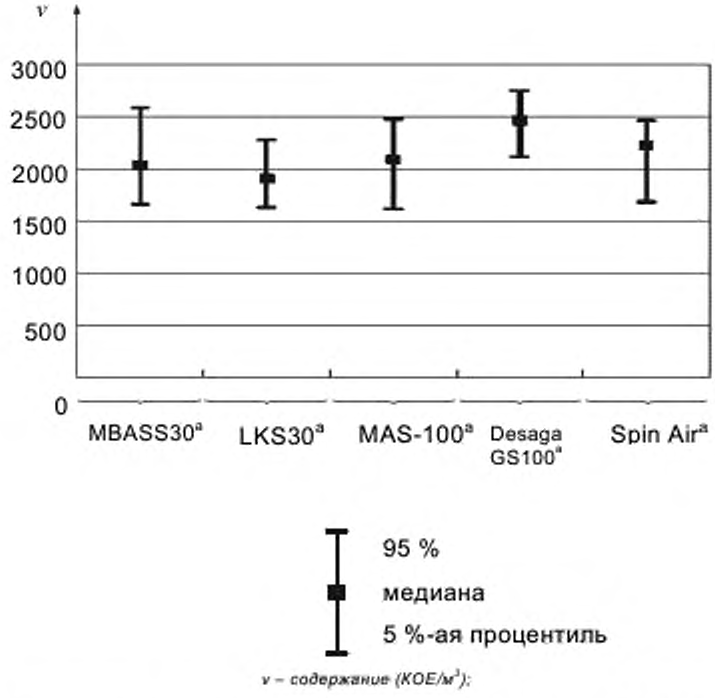


Рисунок С.8 – Содержание общего числа колоний на пластинке из агара DG18 после отбора проб различными устройствами, полученное в третьем испытании

Примечание – [a)] Оборудование выпускается серийно. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ИСО данной продукции.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов ссылочным национальным стандартам Российской Федерации

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ИСО 16000-16	IDT	ГОСТ Р ИСО 16000-16–2012 Воздух замкнутых помещений. Часть 16. Обнаружение и подсчет числа плесневых грибков. Отбор проб фильтрованием
ИСО 16000-17	IDT	ГОСТ Р ИСО 16000-17–2012 Воздух замкнутых помещений. Часть 17. Обнаружение и подсчет числа плесневых грибков. Метод культивирования
Примечание – В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения степени соответствия стандартов: - IDT – идентичный стандарт.		

Библиография

[1] ISO 4225:1994 — Air quality — General aspects — Vocabulary (ИСО 4225:1994, Качество воздуха. Общие аспекты. Термины и определения)

[2] ISO 7708:1995 — Air quality — Particle size fraction definitions for health-related sampling (ИСО 7708-1995, Качество воздуха. Определение гранулометрического состава частиц при санитарно-гигиеническом контроле)

[3] ISO 12219-1 — Indoor air of road vehicles — Part 1: Whole vehicle test chamber — Specification and method for the determination of volatile organic compounds in cabin interiors (ИСО 12219-1, Воздух в салоне дорожных транспортных средств. Часть 1. Испытательная камера для укомплектованного автомобиля. Технические условия и метод определения летучих органических соединений во внутренних частях кабин)

[4] ISO 12219-2 — Indoor air of road vehicles — Part 2: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials — Bag method (ИСО 12219-2, Воздух в салоне дорожных транспортных средств. Часть 2. Скрининговый метод определения выделений летучих органических соединений внутренними частями и материалами транспортных средств. Метод отбора в мешок)

[5] ISO 12219-3 — Indoor air of road vehicles — Part 3: Screening method for the determination of the emissions of volatile organic compounds from vehicle interior parts and materials — Micro-chamber method (ИСО 12219-3, Воздух в салоне дорожных транспортных средств. Часть 3. Скрининговый метод определения выделений летучих органических соединений внутренними частями и материалами транспортных средств. Метод с использованием микрокамеры)

[6] ISO 12219-4 — Indoor air of road vehicles — Part 4: Determination of the emissions of volatile organic compounds from car trim components — Small chamber method (ИСО 12219-4, Воздух в салоне дорожных транспортных средств. Часть 4. Определение выделения летучих органических соединений материалами отделки автомобилей. Метод с использованием небольшой камеры)

[7] ISO 12219-5[2] — Indoor air of road vehicles — Part 5: Screening method for the determination of emissions of volatile organic compounds (VOC) from car trim components — Static chamber method (ИСО 12219-5, Воздух в салоне дорожных транспортных средств. Часть 5. Метод отбора проб для определения выделения летучих органических соединений (ЛОС) материалами внутренней отделки автомобилей. Метод с применением стационарной камеры)

[8] ISO 16017-1 — Indoor, ambient and workplace air — Sampling and analysis of volatile organic compounds by sorbent tube/thermal desorption/capillary gas chromatography — Part 1: Pumped sampling (ИСО 16017-1, Воздух атмосферный, рабочей зоны и замкнутых помещений. Отбор проб летучих органических соединений при помощи сорбционной трубки с последующей термодесорбцией и газохроматографическим анализом на капиллярных колонках. Часть 1. Отбор проб методом прокачки)

[9] ISO 16017-2 — Indoor, ambient and workplace air — Sampling and analysis of volatile organic compounds by sorbent tube/thermal desorption/capillary gas chromatography — Part 2: Diffusive sampling (ИСО 16017-1, Воздух атмосферный, рабочей зоны и замкнутых помещений. Отбор проб и анализ летучих органических соединений при помощи сорбционной трубки с последующей термодесорбцией и газохроматографическим анализом на капиллярных колонках. Часть 2. Диффузионный отбор проб)

[10] EN 13098:2000 — Workplace atmosphere — Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin (ЕН 13098:2000, Воздух рабочей зоны. Руководство по измерению содержания взвешенных в воздухе микроорганизмов и эндотоксинов)

11] VDI 4300 Part 10:2008 — *Messen von Innenraumluftverunreinigungen — Messstrategien zum Nachweis von Schimmelpilzen im Innenraum [Measurement of indoor air pollution* — Measurement strategies for determination of mould fungi in indoor environment] (VDI 4300 Часть 10:2008, Методики количественного определения плесневых грибков в воздухе замкнутых помещений)

[12] — Richardson, N., Szabo, E. Results of round-robin tests to proof impaction as a sampling method to collect mould fungi spores in indoor air. *Gefahrst. Reinhalt. L.* 2007, **67**, pp. 425-428

[2] Находится в стадии подготовки.

УДК 504.3:006.354 ОКС 13.040.20 Т58
Ключевые слова: воздух, помещения замкнутые, плесневые грибки, отбор проб, требования, осаждение, импактор, чашки Петри

Подписано в печать 01.04.2014. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 2,79. Тираж 31 экз. Заказ 1114

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»,

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru