ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 57175— 2016

Требования к качеству и безопасности ПЦР-наборов, проведению исследований и испытаний с использованием метода ПЦР при идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Ассоциацией «Биологическая экологическая и продовольственная безопасность»

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 447 «Биологическая безопасность пищевых продуктов, кормов и товаров народного потребления»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 октября 2016 г. № 1454-ст

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «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.e-ecolog.ru

© Стандартинформ, 2016

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Общие положения 2
5 Требования к организации и проведению испытаний и исследований 3
6 Требования безопасности 3
7 Требования к идентификации микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов с использованием метода ПЦР и ПЦР-наборов 3
8 Требования к комплектации и качеству компонентов ПЦР-наборов и к условиям детекции амплифицированных фрагментов 4
9 Самостоятельное тестирование ПЦР-наборов 4
10 Требования к документации на ПЦР-наборы 5
11 Требования к документации на Тест- ПЦР-набор 5
12 Требования к охране окружающей среды 6
Библиография 7

Введение

Настоящий стандарт устанавливает требования к обеспечению подтверждения достоверности результатов идентификации микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов, качеству проведения амплификации нуклеиновых кислот (этап идентификации), качеству ПЦР-наборов, предназначенных для идентификации в лабораторных условиях. Несоблюдение этих требований может привести к искажениям результатов исследований, некачественному оказанию услуг, введению в заблуждение и обману потребителя, ухудшению качества жизни населения и нанесению вреда окружающей среде.

Настоящий стандарт разработан для организаций, применяющих ПЦР-наборы или методы амплификации нуклеиновых кислот с использованием ПЦР-наборов при проведении испытаний и исследований по идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов и при самостоятельном тестировании ПЦР-наборов.

Настоящий стандарт также регламентирует требования к организации, качеству и безопасности идентификации, испытаний и исследований с использованием ПЦР-наборов при мониторинге объектов и оказании услуг физическим и юридическим лицам.

Поправка к ГОСТ Р 57175—2016 Требования к качеству и безопасности ПЦР-наборов, проведению исследований и испытаний с использованием метода ПЦР при идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2. Нормативные ссылки	ГОСТ Р 16504	ГОСТ 16504
Пункт 5.2	ГОСТ Р 16504	ГОСТ 16504

(ИУС № 1 2018 г.)

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Требования к качеству и безопасности ПЦР-наборов, проведению исследований и испытаний с использованием метода ПЦР при идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов

Requirements for the quality and safety of PCR kits, research and testing using the PCR method in the identification of the target taxa of microorganisms, plants and genetically modified organisms

Дата введения — 2017—09—01

1 Область применения

Стандарт распространяется на организации, испытательные и исследовательские лаборатории, проводящие исследования и испытания по идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов с использованием ПЦР-наборов, занимающихся природоохранным и экологическим мониторингом, мониторингом биорисков, оказанием услуг населению и организациям, подтверждением соответствия заявленным показателям качества и безопасности, микробиологическими испытаниями и исследованиями пищевой продукции, почвы, воды, кормов для животных и других объектов и продукции, проведением контрольных тестов и проверок в целях обеспечения качества этих испытаний и исследований.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 2.601 Единая система конструкторской документации. Эксплуатационные документы

ГОСТ Р 16504 Система государственных испытаний продукции. Испытания и контроль качества продукции. Основные термины и определения

ГОСТ Р 8.691 Государственная система обеспечения единства измерений. Стандартные образцы материалов (веществ). Содержание паспортов и этикеток

ГОСТ Р 52174 Биологическая безопасность. Сырье и продукты пищевые. Метод идентификации генетически модифицированных источников (ГМИ) растительного происхождения с применением биологического микрочипа

ГОСТ Р 52833 Микробиология пищевой продукции и кормов для животных. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) для определения патогенных микроорганизмов. Общие требования и определения

ГОСТ Р 53244 Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот

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 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.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **амплификация нуклеиновых кислот:** Метод, позволяющий увеличить многократно число копий фрагмента нуклеиновых кислот (ДНК/(кДНК)/РНК).

3.2 **ГСО:** Стандартный образец утвержденного типа [1].

3.3 **ДНК:** Дезоксирибонуклеиновая кислота.

3.4 **Идентификация с использованием метода ПЦР:** Выявление нуклеотидных последовательностей, строго специфичных для целевого таксона организма, с использованием методов амплификации нуклеиновых кислот.

3.5 **ПЦР:** Полимеразная цепная реакция — метод молекулярной биологии, позволяющий увеличить малые концентрации определенных фрагментов ДНК и РНК в биологическом материале.

3.6 **ПЦР-набор:** Набор (тест-система), состоящий из праймеров и реагентов для проведения ПЦР.

3.7 **Тест-ПЦР-набор:** ГСО специфических (видоспецифичных) ДНК или РНК фрагментов, имеющих 100 %-ную идентичность с тестируемым участком генома идентифицируемого объекта, с реагентами для проведения и контроля ПЦР.

3.8 **чувствительность:** Минимальное количество биологического материала представителя целевого таксона (отдельных видов микроорганизмов, растений, линий или штаммов генетически модифицированных организмов), необходимое для его идентификации.

3.9 **специфичность:** Способность определить наличие в образце только того объекта, для выявления которого был разработан ПЦР-набор.

3.10 **положительный контрольный образец:** Индикатор работы амплификационной смеси и маркер длины специфических ПЦР-фрагментов нуклеиновых кислот, соответствующих определяемому организму.

3.11 **отрицательный контрольный образец:** Образец для оценки возможной контаминации реактивов для выделения ДНК, включающий в качестве матрицы ДНК организмов, близкородственных определяемому данным ПЦР-набором.

3.12 **положительный контроль ПЦР:** Образец для контроля качества амплификационных реактивов, включающий в качестве матрицы ДНК организмов с секвенированным геномом и специфические праймеры к участку геномной ДНК этого организма.

3.13 **отрицательный контроль ПЦР:** Образец для контроля контаминации амплификационных реактивов, включающий деионизированную воду.

4 Общие положения

4.1 Организация и проведение испытаний и исследований с использованием метода ПЦР должны соответствовать требованиям настоящего стандарта, отвечать интересам потребителя, быть безопасными для жизни и здоровья населения и окружающей среды.

4.2 Для ПЦР-наборов должна быть предоставлена полная информация об их комплектации и дана полная характеристика каждого компонента ПЦР-набора.

4.3 ПЦР-наборы должны включать все необходимые реагенты, и их качество должно обеспечивать высокую чувствительность и специфичность системы амплификации. ПЦР-наборы должны обеспечивать воспроизводимость результатов амплификации для идентификации объекта тестирования.

4.4 ПЦР-наборы должны иметь документальное подтверждение указанным в их сопроводительной документации характеристикам.

При использовании Тест-ПЦР-наборов для самостоятельного тестирования по каждому из них должна быть предоставлена полная информация о составе и метрологических характеристиках [1].

4.5 Проведение испытаний и исследований с помощью Тест-ПЦР-набора должно соответствовать требованиям по охране окружающей среды, установленным соответствующим Федеральным законом [2].

4.6 Требования настоящего стандарта распространяются на организации и предприятия независимо от их организационно-правовой формы.

4.7 Соответствие качеству и безопасности ПЦР-наборов подтверждается их производителем.

4.8 Не допускается использование ПЦР-наборов, не соответствующих требованиям настоящего стандарта.

5 Требования к организации и проведению испытаний и исследований

5.1 Организации, использующие в своей деятельности идентификацию микрофлоры, растений, генетически модифицированных организмов с использованием метода ПЦР, должны иметь необходимые правоустанавливающие документы на данный вид деятельности в соответствии с законодательством Российской Федерации.

5.2 Общие требования к проведению испытаний регламентируются ГОСТ Р 16504.

5.3 Нуклеиновая кислота, экстрагированная из каждой анализируемой пробы, должна быть проанализирована не менее чем в двух повторностях. Концентрация анализируемой последовательности нуклеиновой кислоты должна находиться внутри динамического диапазона ПЦР-набора.

Примечание — Для определения качества нуклеиновой кислоты (по длине и структурной целостности), а также ее чистоты и количества для обеспечения обнаружения целевого таксона может быть проведен контроль, специфический для целевого таксона. Он может быть тем более обоснован, когда нуклеиновая кислота экстрагирована из композитного или подвергнувшегося глубокой обработке материала.

5.4 Результат испытаний следует определять только качественно (в анализируемой пробе нуклеиновая кислота из целевого таксона присутствует).

5.5 Качественное определение состоит:

- из амплификации одной или большего числа специфических целевых последовательностей;
- обнаружения и подтверждения специфичности продукта(ов) ПЦР.

6 Требования безопасности

6.1 Требования безопасности при организации и проведении испытаний, исследований по идентификации микрофлоры с учетом требований настоящего стандарта должны соответствовать санитарно-эпидемиологическим требованиям [3], [4], [5].

6.2 Не допускается нахождение и использование в лаборатории, осуществляющей идентификацию микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов реагентов, не соответствующих качеству и безопасности.

6.3 Для обеспечения безопасности услуг не допускается в лабораториях экспериментальная деятельность и проведение в помещении лаборатории научно-исследовательских работ.

6.4 Деятельность лаборатории должна быть безопасной для потребителей услуг, ее сотрудников и окружающей среды.

6.5 В эксплуатационной документации и технических условиях на ПЦР-наборы должны быть указаны возможные виды опасности, а также требования и средства обеспечения безопасности при их использовании.

6.6 В целях обеспечения биологической безопасности и достоверности результатов идентификации оказание услуг, проведение мониторинга окружающей среды, продукции и предупреждение биоугроз осуществляются с использованием периодического тестирования ПЦР-наборов Тест-ПЦР-наборами.

6.7 При идентификации микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов с использованием метода ПЦР должен осуществляться менеджмент биориска.

6.8 Требования к безопасности, организации и проведению испытаний и исследований по идентификации генетически модифицированных организмов должны соответствовать требованиям ГОСТ Р 52174, ГОСТ Р 52833, ГОСТ Р 53244, [3], [4], [6], [7].

6.9 Не допускается использование несертифицированных наборов и реагентов с истекшим сроком годности, хранившихся в условиях нарушения температурного режима.

7 Требования к идентификации микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов с использованием метода ПЦР и ПЦР-наборов

7.1 Идентификация микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов проводится с использованием ПЦР-наборов, прошедших проверку на Тест-ПЦР-наборах.

7.2 Организация, предоставляющая услуги по идентификации микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов, должна обеспечить достоверность результатов испытаний и исследований.

7.3 Периодичность и выборность тестирования ПЦР-наборов проводится в соответствии с сопроводительной документацией Тест-ПЦР-набора на конкретный объект микрофлоры, растение, генетически модифицированный организм.

7.4 Тестирование ПЦР-наборов их пользователями осуществляется самостоятельно.

7.5 В случае отсутствия Тест-ПЦР-набора (не разработан, не утвержден) тестирование проводится по схеме сличительных испытаний, утвержденных организацией, осуществляющей идентификацию, или в форме межлабораторных испытаний и в соответствии с существующей нормативно-правовой базой.

7.6 Правила проведения мониторинга, документацию по оказанию услуг по настоящему стандарту при отсутствии форм, утвержденных нормативно-правовыми актами, организация, оказывающая услуги и/или осуществляющая мониторинг, разрабатывает и утверждает самостоятельно, используя стандарты по менеджменту качества, менеджменту биориска, другие стандарты, методические указания.

7.7 Проведение идентификации, испытаний и исследований для обеспечения здоровья населения и мониторинга без проведения контроля качества ПЦР-наборов не допускается.

8 Требования к комплектации и качеству компонентов ПЦР-наборов и к условиям детекции амплифицированных фрагментов

8.1 ПЦР-наборы и Тест-ПЦР-наборы должны иметь следую комплектацию:

- набор реагентов для амплификации специфического(их) фрагмента(ов) ДНК;
- набор контрольных образцов.

8.2 Набор реагентов для амплификации специфического(их) фрагмента(ов) ДНК должен содержать реакционную смесь, состав компонентов которой обеспечивает амплификацию строго специфического фрагмента ДНК или отдельные компоненты для ПЦР, в том числе:

- буфер для ПЦР, состав компонентов которого должен обеспечивать амплификацию строго специфического фрагмента ДНК;
- смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (дНТФ);
- олигонуклеотидные праймеры, которые должны обладать 100%-ной специфичностью к амплифицируемому фрагменту ДНК;
- ДНК-полимеразу с высокопроцессивной 5′ → 3′ ДНК полимеразной активностью, корректирующей 3′ → 5′ экзонуклеазной активностью и горячим стартом, которая должна позволять амплификацию малых количеств ДНК и сложных смесей ДНК.

8.3 Набор контрольных образцов должен включать:

- положительный контрольный образец, имеющий 100 %-ную идентичность с тестируемым участком генома идентифицируемого объекта;
- отрицательный контрольный образец — ДНК организма, близкородственного идентифицируемому данным ПЦР-набором;
- положительный контроль ПЦР — ДНК организма с секвенированным геномом и специфические праймеры к участку геномной ДНК этого организма;
- отрицательный контроль ПЦР — стерильную деионизированную воду.

9 Самостоятельное тестирование ПЦР-наборов

9.1 Самостоятельное тестирование осуществляется в форме лабораторных исследований и должно соответствовать требованиям настоящего стандарта к безопасности проведения исследований.

9.2 Самостоятельное тестирование проводится с использованием Тест-ПЦР-набора согласно схеме тестирования, указанной в сопроводительной документации Тест-ПЦР-набора.

10 Требования к документации на ПЦР-наборы

10.1 К ПЦР-наборам должна быть приложена сопроводительная документация в соответствии с требованиям ГОСТ 2.601. Документация должна полно и однозначно описывать назначение и технические характеристики ПЦР-наборов и соответствовать требованиям пункта 10.2 настоящего стандарта.

10.2 Набор сопроводительных документов должен содержать:

- паспорт ПЦР-набора;
- инструкцию по применению.

10.2.1 В паспорте указывают технические требования и приводят следующую информацию:

- наименование ПЦР-набора;
- комплектацию ПЦР-набора;
- дату изготовления;
- назначение;
- характеристики;
- сведения об изготовителе;
- номер серии, номер и дату выдачи паспорта;
- гарантии изготовителя;
- габаритные размеры;
- требования к безопасности;
- чувствительность ПЦР-набора;
- специфичность ПЦР-набора;
- срок годности;
- способ утилизации;
- условия применения и хранения.

10.2.2 Инструкция по применению ПЦР-наборов должна содержать следующие разделы:

- назначение;
- меры предосторожности при работе с ПЦР-наборами;
- анализируемые объекты;
- состав ПЦР-набора;
- условия применения, транспортирования и хранения;
- протокол проведения идентификации с использованием ПЦР-набора, включая количественные и качественные характеристики ДНК- или РНК-матриц, описание реакционных смесей контрольных и экспериментальных ПЦР-образцов, параметры температурных циклов амплификации, условия детекции амплифицированных фрагментов.

11 Требования к документации на Тест-ПЦР-набор

11.1 К Тест-ПЦР-наборам должна быть приложена сопроводительная документация в соответствии с требованиями ГОСТ 2.601и пунктами 11.1, 11.2 настоящего стандарта. Документация должна полно и однозначно описывать назначение и технические характеристики Тест-ПЦР-набора. К Тест-ПЦР-набору должен прилагаться паспорт в соответствии с пунктом 11.2 и требованиями ГОСТ Р 8.691.

11.2 Набор сопроводительных документов должен содержать:

- паспорт;
- инструкцию по применению.

11.2.1 В паспорте указывают технические требования и следующую информацию:

- наименование Теста-ПЦР-набора;
- сведения об изготовителе;
- номер партии;
- описание;
- срок годности;
- условия хранения и транспортирования;
- требования безопасности;
- комплект поставки;
- фамилии и подписи ответственных лиц;
- наименование Теста-ПЦР-набора;
- дату изготовления;

- сведения об изготовителе;
- технические требования;
- состав;
- назначение;
- результаты проверки специфичности и чувствительности Тест-ПЦР-набора с использованием метода количественной ПЦР в реальном времени;
- схему испытаний и тестирования ПЦР-набора;
- документацию на ГСО;
- название анализируемого объекта;
- номер серии, номер и дату выдачи паспорта;
- гарантии изготовителя;
- габаритные размеры;
- условия применения.

11.2.2 Инструкция по применению Тест-ПЦР-набора должна содержать следующие разделы:

- назначение;
- оборудование для проведения испытаний;
- правила отбора проб;
- пробоподготовка;
- подготовка образцов;
- характеристики образцов для испытаний;
- схема проведения испытаний;
- меры предосторожности при работе с Тест-ПЦР-набором;
- анализируемый объект;
- состав;
- условия применения и хранения.

12 Требования к охране окружающей среды

При оказании услуг следует соблюдать требования, установленные в [2].

Библиография

[1]	Федеральный закон Российской Федерации от 26 июня 2008 г. № 102-ФЗ	«Об обеспечении единства измерений»
[2]	Федеральный закон Российской Федерации от 10 января 2002 г. № 7-ФЗ	«Об охране окружающей среды»
[3]	Методические указания. МУ 1.3.2569—09	Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности
[4]	СП 1.3.3118-13	Безопасность работы с микроорганизмами I — II групп патогенности (опасности)
[5]	СП 1.3.2322-08	Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней
[6]	ИСО 22119-2011	Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени для определения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах. Общие требования и определения (Microbiology of food and animal feeding stuffs — Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions)
[7]	ИСО 22118—2011	Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) для обнаружения и количественного учета патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах. Технические характеристики Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of food-borne pathogens — Performance characteristics)

УДК 543.9:006.354 ОКС 11.100

Ключевые слова: ПЦР-наборы, Тест-ПЦР-наборы, идентификация микрофлоры, услуги населению, потребитель

Редактор *К.В. Колесникова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 24.10.2016. Подписано в печать 01.11.2016. Формат 60 × 84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,40. Уч.-изд. л. 1,28. Тираж 31 экз. Зак. 2700.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта.

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ Р 57175—2016 Требования к качеству и безопасности ПЦР-наборов, проведению исследований и испытаний с использованием метода ПЦР при идентификации целевых таксонов микрофлоры, растений и генетически модифицированных организмов

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2. Нормативные ссылки	ГОСТ Р 16504	ГОСТ 16504
Пункт 5.2	ГОСТ Р 16504	ГОСТ 16504

(ИУС № 1 2018 г.)

gost.e-ecolog.ru