МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 16000-20— 2017

ВОЗДУХ ЗАМКНУТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Часть 20

Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Определение общего количества спор

(ISO 16000-20:2014, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «Научно-исследовательский центр контроля и диагностики технических систем» (АО «НИЦ КД») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии международного стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 30 ноября 2017 г. № 52)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Грузия	GE	Грузстандарт
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Институт стандартизации Молдовы
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Туркменистан	TU	Главгосслужба «Туркменстандартлары»
Узбекистан	UZ	Узстандарт
Украина	UA	Минэкономразвития Украины

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 15 мая 2018 г. № 246-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 16000-20—2017 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2019 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 16000-20:2014 «Воздух замкнутых помещений. Часть 20. Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Определение общего количества спор» («Indoor air — Part 20: Detection and enumeration of moulds — Determination of total spore count», IDT).

Международный стандарт разработан подкомитетом ISO/TC 146/SC 6 «Воздух замкнутых помещений» технического комитета по стандартизации ISO/TC 146 «Качество воздуха» Международной организации по стандартизации (ISO).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном 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.e-ecolog.ru

© ISO, 2014 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2018

В Российской Федерации 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 Термины и определения 1
3 Основные положения метода 2
4 Оборудование и материалы 2
5 Реагенты 3
6 Методика измерения 3
7 Обеспечение качества 6
8 Градуировка расхода воздуха, оперативный контроль и техническое обслуживание системы отбора проб 6
9 Протокол отбора проб 6
10 Характеристики эффективности 6
Приложение А (справочное) Примеры импакторов 10
Приложение В (обязательное) Результаты испытаний при валидации метода 11
Библиография 12

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 (*Aspergillus*, *Penicillium*), а других — имеют большие размеры и/или покрыты слизью (*Stachybotrys*, *Fusarium*) 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 числа плесневых грибков, в том числе стандарты, устанавливающие методы отбора проб, важны для сравнительной оценки проблемы грибков в закрытом помещении. Перед проведением любых измерений должен быть разработан план для методики измерения.

Настоящий стандарт описывает методы отбора проб воздуха, содержащего споры плесневых грибков, для дальнейшего микроскопического анализа.

Методика, установленная в настоящем стандарте, основана на [6].

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ВОЗДУХ ЗАМКНУТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ

Часть 20

Обнаружение и подсчет плесневых грибков. Определение общего количества спор

Indoor air. Part 20. Detection and enumeration of moulds. Determination of total spore count

Дата введения —2019—01—01

1 Область применения

В настоящем стандарте установлены требования к отбору проб плесневых грибков из воздуха. В соответствии с приведенными ниже рекомендациями получают пробу для микроскопии для определения общего содержания плесневых грибков.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1

культивирование <качество воздуха> (cultivation <air quality>): Выращивание микроорганизмов на питательной среде.

[ISO 16000-16:2008, пункт 3.6]

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

2.3

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

[ISO 16000-16:2008, пункт 3.3]

Примечание — Термин «нитевидные грибки» необходим для различения грибков с гифальным ростом и дрожжевых грибков.

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

2.5

микроорганизм (microorganism): Любая микробиологическая форма, клеточная или неклеточная, способная к репликации или переносу генетического материала или формы, утратившие эти свойства.

[EN 13098:2000]

2.6

плесневые грибки <качество воздуха> (mould <air quality>): Нитевидные грибки, принадлежащие нескольким таксономическим группам, а именно Аскомицеты, Зигомицеты и их анаморфные состояния, ранее известные как Дейтеромицеты или несовершенные грибы.

[ISO 16000-16:2008, пункт 3.9]

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

2.7

мицелий (mycelium): Разветвленная сеть грибковых гифов.

[ISO/TR 10832:2009, пункт 3.5]

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

Примечание — См. [7].

3 Основные положения метода

Определенное количество воздуха прокачивается через импактор, где находится твердая липкая поверхность, которая впоследствии подвергается микроскопическому анализу. При обходе препятствия и искривления потока воздуха, под действием инерции частицы, находящиеся в потоке воздуха, оседают на липкой поверхности.

Таким образом, взвешенные в воздухе плесневые грибки собираются непосредственно на липкой поверхности.

На физическую эффективность отбора проб влияют геометрия щели, скорость воздуха и способность поверхности к адгезии.

Для отбора проб необходимо устройство, способное улавливать частицы размером близким к размеру спор плесневых грибков (от более 1 мкм до приблизительно 30 мкм). Пороговое значение размера частиц для подобного устройства отбора проб должно составлять 1 мкм или менее, но не более 2,6 мкм.

Примечание — Широко применяют и серийно выпускают импакторы трех основных типов: пробоотборники со сменными предметными стеклами и скоростью потока воздуха приблизительно 30 дм^3/мин, например PS 30[1)] и MBASS30[2)]; пробоотборники со сменными предметными стеклами и скоростью потока воздуха приблизительно 15 дм^3/мин, например Allergenco MK3[3)] и пробоотборники с одноразовыми кассетами и скоростью потока воздуха приблизительно 15 дм^3/мин (см. приложение А).

После отбора проб споры плесневых грибков подсчитывают под микроскопом. Культивирование при этом не проводят. Таким методом определяют общее содержание спор, включающее культивируемые и некультивируемые споры.

4 Оборудование и материалы

Используют стандартное лабораторное оборудование для микробиологического анализа, в том числе следующее:

4.1 Стойка для размещения импактора на требуемой высоте.

4.2 Импактор со сменными предметными стеклами или кассетами.

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

[1)] PS 30 являются примером подходящей серийно выпускаемой продукции. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO данной продукции.

[2)] MBASS30 являются примером подходящей серийно выпускаемой продукции. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO данной продукции.

[3)] Allergenco MK3 является примером подходящей серийно выпускаемой продукции. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO данной продукции.

4.4 Газовый счетчик для определения в кубических метрах объема воздуха, прокачиваемого через пробоотборный зонд.

4.5 Таймер для предварительной настройки времени и продолжительности отбора проб.

4.6 Экран для защиты импактора от неблагоприятных погодных условий (необязательно только на открытом воздухе).

4.7 Микроскоп, оборудованный объективами 40^x и 100^x для достижения приблизительно 400- и 1000-кратного увеличения.

5 Реагенты

5.1 Общие положения

Все реактивы и химические препараты должны быть известной степени чистоты «для микробиологических исследований» или чище. Следует использовать дистиллированную воду или воду эквивалентной чистоты.

5.2 Раствор лактофенола синего

Состав раствора красителя приведен в таблице 1.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Раствор лактофенола синего является токсичным и может привести к неблагоприятным последствиям для здоровья. Должно быть исключено его воздействие через прямой контакт или вдыхание.

Таблица 1 — Состав раствора красителя

Компонент	Количество
Хлопковый голубой	0,5 г
Молочная кислота	4,0 г
Фенол	4,0 г
Глицерин	8,0 г
Дистиллированная вода	100 $см^3$

Все ингредиенты добавляют в 100 $см^3$ воды и растворяют.

6 Методика измерения

6.1 Отбор проб

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.

В соответствии с задачей и методикой измерения подготавливают необходимое количество импакторов и подложек или кассет.

Примечание — Если невозможно предсказать содержание спор, то может быть отобрано несколько проб (например, 50 $дм^3$, 100 $дм^3$ и 200 $дм^3$) и для подсчета может быть использована наиболее подходящая проба (содержащая достаточное количество спор и не перегруженная).

Проверяют оборудование на комплектность и функциональность с поверочным листом. Через регулярные интервалы проводят оперативный контроль. Оперативный контроль подразумевает, в первую очередь, контроль объемного расхода.

Для каждой точки измерения используют стерильные устройства, содержащие предметные стекла или кассеты. В качестве альтернативы очищают щель этанолом или изопропанолом (70 об. %) и затем высушивают (например, сжатым воздухом).

Помещают предметные стекла или кассеты в импакторы. Избегают загрязнения устройства отбора проб.

Включают пробоотборник в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Рекомендуется проводить несколько измерений, отбирая пробы разного объема. Это особенно важно, если ожидаемый уровень содержания плесневых грибков неизвестен.

По завершении отбора проб удаляют предметные стекла или кассеты из устройства отбора проб и запаковывают их в стерильные контейнеры и/или пластиковые пакеты для предотвращения какого-либо вторичного загрязнения. В дальнейшем на новой точке измерения перед проведением отбора проб с импактором, содержащим предметное стекло, воздух в течение нескольких минут прокачивают через импактор без предметного стекла.

Для одноразовых пробоотборников следуют инструкции по эксплуатации.

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

Транспортируют пробы в лабораторию (см. 6.4) и проводят анализ методом прямой микроскопии (см. 6.2).

6.2 Прямая микроскопия

Споры на липкой поверхности окрашивают раствором лактофенола синего (см. 5.2) или хлопкового голубого в молочной кислоте и оценивают под микроскопом при 400- или 1000-кратном увеличении.

Примечание — Для того, чтобы получить представление о спорах в пробе, первоначально можно провести осмотр при 100- или 200-кратном увеличении.

Если были отобраны пробы разных размеров, то для подсчета выбирают наиболее подходящую пробу (содержащую достаточное количество спор и не перегруженную).

Примечания

1 Подсчет спор различных типов под микроскопом является сложным процессом, который проводится только квалифицированным и хорошо обученным персоналом.

2 Раствор лактофенола синего является токсичным и, по возможности, следует избегать работы с ним. Также следует предусмотреть окрашивание спор подходящим альтернативным красителем. Следует обратить внимание, что хлопковый голубой в молочной кислоте не работает с PS 30 и MBASS30, которые используются для определения рабочих характеристик (см. раздел 10).

При использовании метода отбора проб с применением щелевых импакторов на предметном стекле образуется след (трек) пробы длиной приблизительно 1,6 см и шириной приблизительно 1 мм, который также оценивают с помощью микроскопии.

Как правило, предметное стекло оценивают на наличие следующих типов спор: базидиоспоры, аскоспоры, *Cladosporium*, споры типа *Aspergillus/Penicillium*, *Stachybotrys*, *Chaetomium*, споры типа *Alternaria/Ulocladium*, споры типа *Helminthosporium*, *Epicoccum*, других спор и фрагментов мицелия. Дополнительные типы спор, которые встречаются в нетипичных концентрациях и могут быть отнесены к какому-либо морфологическому типу, также протоколируют.

Базидиоспоры, аскоспоры, споры типа *Alternaria/Ulocladium*, *Helminthosporium*, *Epicoccum* обычно образуются в источниках внутри помещения и, следовательно, их наличие дает представление о том, в какой степени проба находилась под воздействием наружного воздуха (например, из-за утечек вокруг оконного пространства, механического воздействия или занесения спор снаружи).

Крупные легко идентифицируемые споры, например споры *Stachybotrys* или *Chaetomium*, подсчитывают на всей поверхности в продольном направлении следа пробы при 400-кратном увеличении. Таким образом, полностью загруженная поверхность импактора может быть оценена за короткий промежуток времени, и при этом определено число спор на единицу объема пробы. Теоретический предел обнаружения составляет одну спору на отобранный объем пробы.

Для небольших спор, например типа *Aspergillus/Penicillium*, проводят дополнительную более детальную оценку при 1000-кратном увеличении в направлении, перпендикулярном направлению следа пробы. Детальная оценка требует больших затрат времени, и поэтому может быть исследована только небольшая часть пробы (обычно от 10 до 30 % общей поверхности импактора, см. раздел 10). Следовательно, предел обнаружения для небольших спор выше, чем для крупных спор. Для пробы объемом 200 $дм^3$ и при оценке 10 поперечных пересечений теоретический предел обнаружения составляет приблизительно 50 спор/$м^3$ (1 спора присутствует в 10 пересечениях).

Для количественной оценки предпочтительно, чтобы в оцениваемом обзорном поле микроскопа присутствовало 10 или более спор.

Примечание — Такие частицы, как чешуйки кожи и другие (минеральные и органические) частицы, не учитывают, но они могут быть указаны в других категориях и определено их содержание, чтобы иметь представление о влиянии соответствующих видов деятельности в помещении.

6.3 Вычисление и представление результатов

Количественные результаты записывают как содержание приведенных типов спор и фрагментов мицелия на 1 м^3 воздуха. Общее содержание спор получают путем суммирования содержания отдельных типов спор.

Примечание — Споры, существующие в агрегатах, подсчитывают отдельно. Однако полезно регистрировать наличие их в протоколе испытаний, чтобы представить информацию о количестве агрегатов спор и отдельных единиц, что может быть необходимо для определенных целей исследования.

В оценке при 400-кратном увеличении (см. 6.2), которую проводят в продольном направлении следа пробы, необходимо оценивать полный объем пробы. Для вычисления содержания спор в 1 м^3 воздуха, результат, полученный для всего объема пробы, умножают на соответствующий коэффициент (например, $F = 5$ для пробы объемом 200 дм^3, см. пример 1).

В детальной оценке при 1000-кратном увеличении, которую проводят в направлении перпендикулярном направлению отбора пробы (см. 6.2), в вычислении участвуют такие параметры как геометрия щели, размер видимой области объектива и количество оцененных поперечных пересечений. Результаты округляют до двух знаков после запятой.

Содержание может быть вычислено по формуле

$$C_L = \frac{L}{B} \cdot \frac{1}{V_G} \cdot Z, \quad (1)$$

где C_L — содержание спор в пробе воздуха, спор/м^3;

L — общая длина в направлении следа пробы, мм;

B — длина оцениваемой области в направлении следа пробы, мм;

V_G — объем пробы, м^3;

Z — общее количество спор.

Значение B вычисляют по формуле

$$B = D \cdot Z_Q, \quad (2)$$

где D — диаметр видимой области, мм;

Z_Q — количество оцененных поперечных пересечений.

Примеры

1 На всей поверхности отбора проб определены 20 спор Stachybotrys. Объем пробы составил 200 дм^3.

Решение: $20 \cdot 5 = 100$ спор/м^3 воздуха = $1{,}0 \cdot 10^2$ спор/м^3 воздуха.

2 Проба отобрана с использованием щелевого импактора (длиной 16 мм, шириной 1,1 мм) и оценена при 1000-кратном увеличении. Обзорное поле микроскопа и используемого объектива имеет диаметр 175 нм. Объем пробы составил 200 дм^3. Были оценены 20 поперечных пересечений с 60 спорами типа Aspergillus/Penicillium.

$$C_L = \frac{16}{0{,}75 \cdot 20} \cdot \frac{1}{0{,}2} \cdot 60 = 1{,}371 \text{ спор/м}^3 \text{ воздуха.}$$

Решение: $1{,}4 \cdot 10^3$ спор/м^3 воздуха.

6.4 Транспортирование и хранение проб

Предметные стекла или кассеты запаковывают в стерильные контейнеры и/или пластиковые пакеты для предотвращения какого-либо вторичного загрязнения. Защищают их от неблагоприятных воздействий (увлажнения, пересушивания, перегрева, запыления и т. д.) и транспортируют в лабораторию для анализа. Предпочтительно проанализировать пробы в течение 1 недели после их отбора. До последующей обработки пробы хранят в лаборатории при комнатной температуре защищенными от пересушивания.

7 Обеспечение качества

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

8 Градуировка расхода воздуха, оперативный контроль и техническое обслуживание системы отбора проб

Градуировку устройства отбора проб следует проводить с помощью сертифицированного объемного расходомера, погрешность измерения объема воздуха которого в кубических метрах, приведенного к реальным условиям, находится в пределах ±5 %. Газовый счетчик должен быть подключен к входному отверстию устройства отбора проб. Следует убедиться в том, что входное отверстие газового счетчика свободно. После регулирования расхода точность дисплея пробоотборника должна быть соотнесена с объемным расходомером утвержденного типа. При прокачивании воздуха через устройство отбора проб в течение 30 мин отклонение показания дисплея устройства отбора проб от показания расходомера 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 % от значения, требуемого для корректной работы входного отверстия, то объемную скорость потока регулируют в соответствии с инструкцией по эксплуатации. 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 пользователь этого оборудования не может осуществить проверку и настройку номинального потока, в этом случае ее регулярно выполняет производитель. В течение межповерочного интервала производителем должна быть обеспечена постоянная величина потока, а устройство отбора проб должно быть оснащено встроенной системой контроля, предотвращающей отклонения от номинального потока.

9 Протокол отбора проб

Маркируют пробы для 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) наименование и адрес заказчика;

c) цель измерений;

d) тип использованного пробоотборного устройства;

e) объем отобранного воздуха;

f) дату, время, описание места и продолжительности отбора проб.

10 Характеристики эффективности

Характеристики эффективности были определены с применением PS 30 и MBASS30 лабораторией Umweltmykologie Dr. Dill & Dr. Trautmann GbR в Германии с привлечением субсидий на проведение научно-исследовательской работы, выданной Федеральным агентством по охране окружающей среды.

Физическая эффективность отбора проб была определена при различных скоростях воздуха (15 дм^3/мин, 22,5 дм^3/мин, 30 дм^3/мин и 45 дм^3/мин) путем фильтрации воздуха на выходном отверстии импактора для определения неосажденных грибков. Эффективность отбора проб увеличивается при увеличении скорости от 15 дм^3/мин до 30 дм^3/мин. Для скорости воздуха 45 дм^3/мин увеличения эффективности зафиксировано не было. Для крупных спор эффективность отбора проб была выше, чем для небольших спор. Для спор *Cladosporium* была достигнута эффективность отбора проб порядка 90 % (см. рисунок 1), в то время как для спор типа *Aspergillus/Penicillium* эффективность составила только 30—80 %. В дальнейших экспериментах была использована скорость потока воздуха

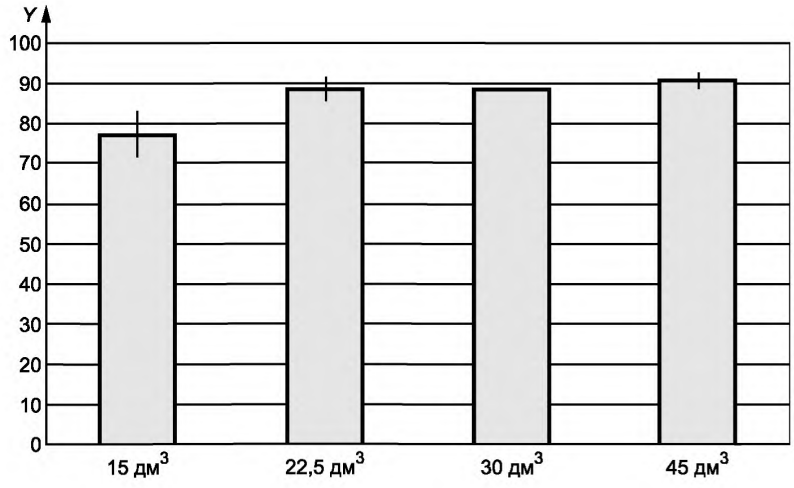
30 дм^3/мин. Сопоставимая эффективность отбора проб была опубликована для пробоотборного зонда Air-O-Cell)[1] (см. [7]).

При отборе проб щелевым импактором с помощью пробоотборника PM 30[2] образуется след длиной приблизительно 1,6 см и 1,1 см в диаметре.

При 1000-кратном увеличении в пределах области 1,6 см в продольном направлении лежат приблизительно 94 обзорных поля микроскопа. С использованием «чистых» культур при различных содержаниях было определено распределение крупных (*Chaetomium* или *Stachybotrys*) и небольших спор (*Aspergillus/Penicillium*). Большое содержание было обнаружено во всех обзорных полях микроскопа, при этом небольшое количество спор располагались в области начала и конца пробоотборной поверхности (см. рисунки 2 и 3). Отмечалось, что при низких концентрациях спор в пробе воздуха многие обзорные поля микроскопа были пустыми, также эффект отсутствия спор в начале и в конце пробоотборной поверхности был еще более заметным (см. рисунки 4 и 5). Подсчет небольших спор обычно делается при 1000-кратном увеличении в выбранных обзорных полях микроскопа. Области в начале и конце следа пробы не следует включать в подсчет вследствие очень низкого содержания или отсутствия спор в них.

Дальнейшие эксперименты были проведены для определения неопределенности измерения при проверке нескольких (5, 10, 20 или 30 из 94) обзорных полей микроскопа. Неопределенность измерения уменьшается при увеличении содержания спор и увеличении числа обзорных полей для подсчета (см. таблицу 2). Для того чтобы неопределенность измерения составляла менее 10 %, должно быть подсчитано не менее 30, 20, 10 или 5 обзорных полей микроскопа с количеством спор около 100, 200, 1000 и 2000 на 200 дм^3 воздуха соответственно.

Пригодность метода в рабочих условиях изначально была проверена на основе сравнительных измерений с применением PS 30 и MBASS30 (см. приложение В).

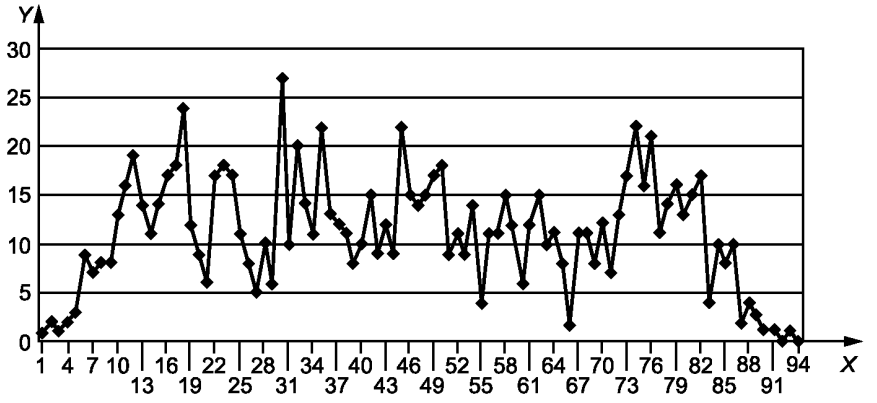


Y — эффективность отбора проб, %

Рисунок 1 — Эффективность отбора проб для крупных спор (*Cladosporium*) при различных скоростях расхода воздуха

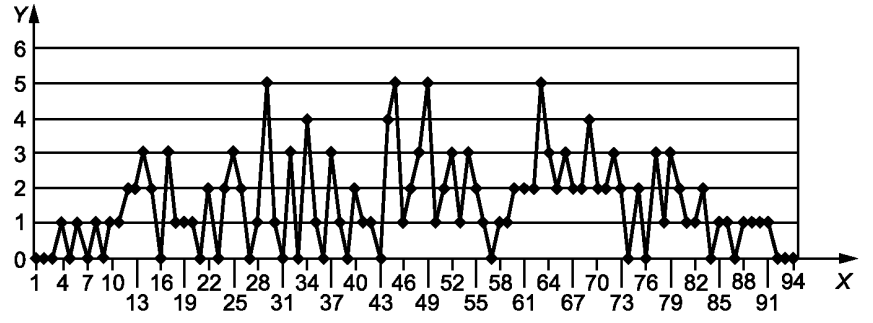
[1] Air-O-Cell является примером подходящей серийно выпускаемой продукции. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO данной продукции.

[2] PM 30 является примером подходящей серийно выпускаемой продукции. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO данной продукции.



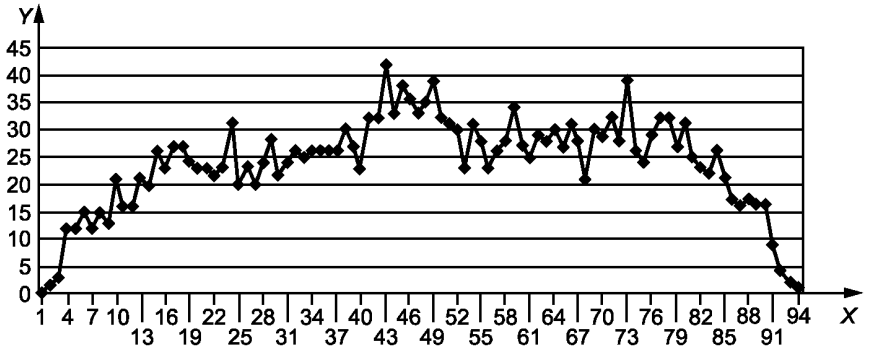
X — номер исследуемого участка; *Y* — число спор

Рисунок 2 — Распределение 1038 спор *Stachybotrys chartarum* в 94 исследуемых участках следа отбора проб



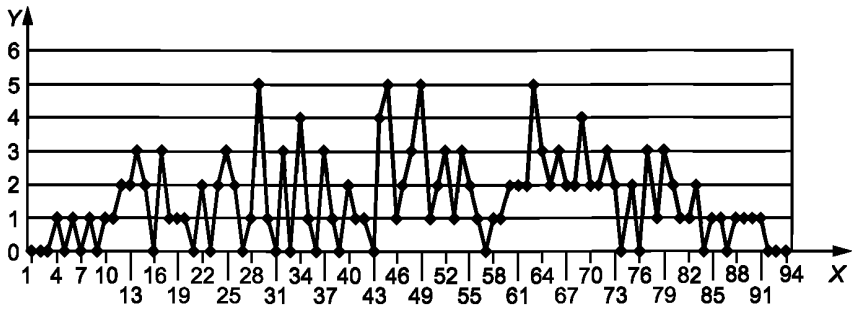
X — номер исследуемого участка; *Y* — число спор

Рисунок 3 — Распределение 2250 спор типа *Aspergillus/Penicillium* в 94 исследуемых участках вдоль следа отбора проб



X — номер исследуемого участка; *Y* — число спор

Рисунок 4 — Распределение 214 спор *Chaetomium* в 94 исследуемых участках вдоль следа отбора проб



X — номер исследуемого участка, *Y* — число спор

Рисунок 5 — Распределение 144 спор типа Aspergillus/Penicillium в 94 исследуемых участках вдоль следа отбора проб

Таблица 2 — Среднее количество спор и подсчитанное стандартное отклонение при различном количестве обзорных полей микроскопа в четырех пробах с различным количеством спор

Номер пробы	Содержание спор в 200 дм^3 воздуха. Обследовано 5 обзорных полей микроскопа		Содержание спор в 200 дм^3 воздуха. Обследовано 10 обзорных полей микроскопа		Содержание спор в 200 дм^3 воздуха. Обследовано 20 обзорных полей микроскопа		Содержание спор в 200 дм^3 воздуха. Обследовано 30 обзорных полей микроскопа	
	Среднее	SD, %	Среднее	SD, %	Среднее	SD, %	Среднее	SD, %
1	133	34	122	24	120	14	126	9
2	248	17	255	11	248	7	251	4
3	1031	16	1019	8	1016	5	1020	6
4	2239	6	2283	4	2260	3	2277	2

Примечания
1 Пробы 1 и 4: споры *Aspergillus* и *Penicillium*.
2 Проба 2: споры *Chaetomium*.
3 Проба 3: споры *Stachybotrys chartarum*.

Приложение А
(справочное)

Примеры импакторов

Таблица А.1 — Щелевые импакторы для определения общего количества спор в воздухе замкнутых помещений

Система отбора проб/ объемный расход	Рекомендованный период отбора проб	Объем пробы	Пороговое значение (d_{50})	Подготовка проб/метод анализа	Конечный диапазон оценки в спор/м^3 (фрагмент мицелия/м^3)
Пробоотборник со сменными предметными стеклами, расход приблизительно 30 дм^3/мин, например PS 30 и MBASS30	приблизительно от 5 до 7 мин	от 0,15 до 0,2 м^3	1,8 нм[a, b]	Микроскопия окрашенных объектов и световая микроскопия; подсчет типов спор (род и/или родовая группа)	от 50 до 100000[c, d]
Пробоотборник со сменными предметными стеклами, расход приблизительно 15 дм^3/мин, например Allergenco MK3	от 5 до 10 мин	от 0,075 до 0,15 м^3	данные отсутствуют[a, b]	Микроскопия окрашенных объектов и световая микроскопия; подсчет типов спор (род и/или родовая группа)	от 50 до 100000[c, d]
Одноразовая кассета, расход приблизительно 15 дм^3/мин, например кассета Air-O-Cell[e], кассета Allergenco-D[f]	от 5 до 10 мин	от 0,075 до 0,15 м^3	от 1,8 до 2,6 нм[b, c]	Микроскопия окрашенных объектов и световая микроскопия; подсчет типов спор (род и/или родовая группа)	от 50 до 100000[c, d]

[a] Эффективность улавливания зависит от выбранной пробоотборной среды (адгезия, вязкость).

[b] Эффективность улавливания зависит от строения внешней оболочки спор (контакт спора-пробоотборная среда).

[c] Эффективность улавливания зависит от конструкции одноразовой кассеты.

[d] Диапазон оценки применяют для детальной оценки. В таких случаях меньшее значение зависит от количества детальных оценок (см. 6.2 и 6.3); верхнее значение, достижимое в измерительной практике, широко варьируется, поскольку споры, чешуйки кожи, другие частицы и т. п., уловленные на поверхность импактора, ограничат дальнейшую адгезию спор. Проведение оценки полного вида пробы, которая имеет смысл только для спор с ярко выраженной морфологической структурой (например, *Stachybotrys*, *Chaetomium*), позволяет определить одну спору на всей поверхности воздействия, т. е. во всем объеме пробы. Обнаружение одной спор, тем не менее, не позволяет провести количественную оценку.

[e] Основано на объеме пробы и расходе, которые рекомендуются изготовителем.

[f] Allergenco-D является примером подходящей серийно выпускаемой продукции, выпускаемой Environmental Monitoring Systems (EMS). Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ИСО данной продукции.

Приложение В
(обязательное)

Результаты испытаний при валидации метода

Для проверки пригодности метода отбора проб, установленного в настоящем стандарте, были проведены испытания в трех лабораториях. Параллельно было отобрано четыре пробы с использованием четырех разных пробоотборников (все PS 30 и MBASS30). Каждая проба была последовательно проанализирована двумя участвующими лабораториями. Результаты общего содержания спор, полученные разными пробоотборниками и подсчитанные в разных экспериментальных лабораториях, хорошо согласуются (см. таблицу В.1).

Таблица В.1 — Данные по обмену пробами

Номер лаборатории	Номер пробы и общее количество спор/м^3							
	1 А	1 В	2 А	2 В	3 А	3 В	4 А	4 В
1		$9{,}7 \cdot 10^4$		$1{,}2 \cdot 10^5$		$1{,}1 \cdot 10^5$		$8{,}8 \cdot 10^4$
2	$8{,}1 \cdot 10^4$	$9{,}7 \cdot 10^4$	$9{,}2 \cdot 10^4$	$8{,}6 \cdot 10^4$	$1{,}1 \cdot 10^5$	$7{,}1 \cdot 10^4$	$8{,}5 \cdot 10^4$	$7{,}4 \cdot 10^4$
3	$1{,}2 \cdot 10^5$		$1{,}6 \cdot 10^5$		$1{,}1 \cdot 10^5$		$1{,}1 \cdot 10^5$	

Библиография

[1] ISO 4225 Air quality. General aspects. Vocabulary

[2] ISO 16000-16:2008 Indoor air. Part 16: Detection and enumeration of moulds. Sampling by filtration

[3] ISO 16000-19 Indoor air. Part 19: Sampling strategy for moulds

[4] ISO/TS 10832:2009 Soil quality. Effects of pollutants on mycorrhizal fungi. Spore germination test

[5] EN 13098:2000 Workplace atmosphere. Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin

[6] VDI 4300 Part 10 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]

[7] Particle Cut-Size Evaluation of Air-O-Cell Sampler. Zefon International Analytical Accessoires. Internet, 1998

УДК 504.3:006.354 МКС 13.040.20 Т58

Ключевые слова: воздух, замкнутые помещения, мицелий, плесневые грибки, отбор проб, требования, осаждение, импактор

БЗ 6—2018/113

Редактор *В.Н. Шмельков*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Р.А. Ментова*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 16.05.2018. Подписано в печать 22.05.2018. Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,10.
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 123001 Москва, Гранатный пер., 4.

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

gost.e-ecolog.ru