ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

ТАҒАМ ӨНІМДЕРІ

ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӨЗГЕРТІЛГЕН АҒЗАЛАРДЫ ТАБУ ҮШІН САРАЛАУ ӘДІСТЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДАН АЛЫНҒАН ӨНІМДЕР

Жалпы талаптар мен анықтамалар

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ И ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ НИХ ПРОДУКТОВ

Общие требования и определения

ҚР СТ ИСО 24276-2010

(ИСО 24276-2006 «Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табу үшін саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Жалпы талаптар және анықтамалар»

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

ТАҒАМ ӨНІМДЕРІ

ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӨЗГЕРТІЛГЕН АҒЗАЛАРДЫ ТАБУ ҮШІН САРАЛАУ ӘДІСТЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДАН АЛЫНҒАН ӨНІМДЕР

Жалпы талаптар мен анықтамалар

ҚР СТ ИСО 24276-2010

(ИСО 24276-2006 «Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табу үшін саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Жалпы талаптар және анықтамалар»

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 «Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты» республикалық мемлекеттік кәсіпорны және №69 «Инфрақұрылымдардың инновациялық технологиялары» стандарттау жөніндегі техникалық комитеті **ӘЗІРЛЕП ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті төрағасының 2010 жылғы 4 қазандағы №439-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3 Осы стандарт ИСО 24276-2006 «Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табу үшін саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Жалпы талаптар және анықтамалар» қатынасы бойынша сәйкестендірілген болып табылады.

Сәйкестік дәрежесі - бірдейлендірілген, IDT

4 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ **2015 жыл**
ТЕКСЕРУДІҢ КЕЗЕҢДІЛІГІ **5 жыл**

5 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілген өзгертулер туралы ақпарат «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар» сілтемесінде, ал өзгертулер мәтіні - «Мемлекеттік стандарттар» ай сайынғы ақпараттық сілтемелерінде жарияланады. Осы стандартты қайта қараған (жойған) немесе ауыстырған жағдайда тиісті ақпарат «Мемлекеттік стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланады

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті рұқсатынсыз ресми басылым ретінде толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

Тағам өнімдері ГЕНЕТИКАЛЫҚ ӨЗГЕРТІЛГЕН АҒЗАЛАРДЫ ТАБУ ҮШІН САРАЛАУ ӘДІСТЕРІ ЖӘНЕ ОЛАРДАН АЛЫНҒАН ӨНІМДЕР Жалпы талаптар және анықтамалар

Енгізілген күні 2011-07-01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт үлгілерді іріктеу стратегиясына, нуклеинді қышқылдардың экстракциясына, нуклеинді қышқылдардың сапалық саралауына, нуклеинді қышқылдардың сандық саралауына және ақуыздарды анықтауға негізделген әдістеріне стандарттарды қолдану тәсілін белгілейді және тағам өнімдерінде генетикалық өзгертілген ағзаларды саралау кезінде олардың өзара байланысын түсіндіреді.

Стандарт жалпы талаптардан, анықтамалардан және зертхана ұйымдары үшін басшылық ететін нұсқаулардан, сенімділігін растау әдісіне талаптардан, әдістер сипатынан және сынақтар хаттамаларынан тұрады.

Стандарт тағам өнімдеріне қолданылады, алайда басқа нысандар (мысалы, қоршаған ортадан іріктелген тұқымдар, азықтар және өсімдік үлгілері үшін) үшін де қолданылуы мүмкін.

2 Нормативтік сілтемелер

Осы стандартты қолдану үшін мынадай сілтемелік нормативтік құжаттар қажет:

ҚР СТ 1.9- 2007 Қазақстан Республикасында шетел мемлекеттерінің халықаралық, аймақтық және ұлттық стандарттарын, стандарттау бойынша басқа нормативтік құжаттарын қолдану тәртібі;

ИСО 5725-1-2000* Өлшем және нәтиже әдістерінің дәлділігі (сенімділік және дәл нәзіктік). 1-бөлім. Жалпы принциптер және анықтамалар;

ИСО/МЭК 17025–2007* Сынау және мөлшерлеу зертханалары құзырлығына жалпы талаптар;

ИСО 21569-2005*Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Нуклеинді қышқылдарды сапалы анықтауға негізделген әдістер;

ҚР СТ 1.9. сәйкес қолданылады.

Ресми басылым

ИСО 21570-2005*Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Нуклеинді қышқылдарды сандық анықтауға негізделген әдістер;

ИСО 21571-2005* Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Нуклеинді қышқылдардың экстракциясы;

ИСО 21572-2005* Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Ақуыздарды анықтауға негізделген әдістер;

EN/TS 21568–2005* Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер. Үлгілерді іріктеу стратегиялары;

ЕСКЕРТПЕ: Осы стандартты қолдану кезінде сілтемелік стандарттар мен жіктеуіштердің қолданысын ағымдағы жылдың жай-күйі бойынша және ағымдағы жылы жарияланатын ай сайын басылып шығатын ақпараттық сілтемесіне сәйкес, жыл сайын басылып шығатын «Стандарттау бойынша нормативтік құжаттар» ақпараттық сілтемесі бойынша мақсатты тексерген дұрыс. Егер сілтеме құжат ауыстырылса, (өзгертілсе), онда осы стандартты қолданған кезде ауыстырылған (өзгертілген) стандартты басшылыққа алу керек. Егер сілтеме құжат ауыстырылмай жойылса, онда оған сілтеме берілген ереже осы сілтемені қозғамайтын бөлікте қолданылады.

3 Терминдер және анықтамалар

Осы стандартта ИСО 5725-1 бойынша терминдер, сондай-ақ келесі тиісті анықтамаларымен терминдер қолданылады.

3.1 Жалпы анықтамалар

3.1.1 **Таксон-нысана (мақсатты таксон) (**Target taxon**):** Генетикалық өзгертілген ағзаға жататын таксон

ЕСКЕРТПЕ Осы стандартта таксон биологиялық түрді білдіреді, алайда ол өте төмен сияқты, ең жоғарғы топтастыру дәрежесіне ие болуы мүмкін.

3.1.2 **Зертханалық үлгі (**Laboratory sample**):** Зертханаға жіберу үшін дайындалған және тексеруге немесе сынақтан өткізуге арналған үлгі

3.1.3 **Сынау үлгісі**/Үлгінің жұмыс бөлігі (Test sample/Test portion): Сынау және саралау үшін дайындалған барлық саны бір рет сарапталатын компонент экстракциясы үшін пайдаланылатын үлгі

---

* ҚР СТ 1.9. сәйкес қолданылады.

3.1.4 **Айрықшылығы (**Specificity**):** Әдістің сипаты зерттелетін параметрге немесе затқа ерекше үлгіде жауап береді.

3.1.5 **Сезімталдық (**Sensitivity**):** Стандартты (мөлшерлеу) қисық шоғырланудың тиісті өзгеруіне бөлінген жауап әсердің өзгеруі.

ЕСКЕРТПЕ Бұл қисық еңісті аналитикалық мөлшерлеу.

3.1.6 **Детекторлау шектігі (**Limit of detection LOD**):** Сенімді табыла алатын, бірақ санымен бағалануы міндетті емес сынау үлгісінде зерттелетін заттың шоғырлануы немесе ең төменгі саны зертхананың бірлескен сынақтарының немесе басқа ұқсас сенімділікті тексеру әдісінің көмегімен көрсетілуі мүмкін.

ЕСКЕРТПЕ бірлескен сынау зертханасын сипаттайтын [2] сілтемені және сенімділікті тексеру әдісін сипаттайтын [3] сілтемені қарау.

3.1.7 **Сандық анықтама шектігі (**Limit of quantitation LOQ**)** (аналитикалық процедурада**):** Дәлдік пен нақтылықтың тиімді деңгейімен сандық анықталуы мүмкін сынау үлгісінде зерттелетін заттың саны мен ең аз шоғырлануы бірлескен сынау зертханаларының немесе басқа ұқсас сенімділікті тексеру әдісінің көмегімен көрсетілуі мүмкін.

ЕСКЕРТПЕ бірлескен сынау зертханасын сипаттайтын [2] сілтемені және сенімділікті тексеру әдісін сипаттайтын [3] сілтемені қарау.

3.1.8 **Дәлдік** (Accuracy): Сынау нәтижесінің және эталонды белгісімен қабылданғанның арасындағы жақындық дәрежесі.

3.1.9 **Ақиқаттық**(Trueness**):** Сынаудың үлкен саны нәтижесінде алынған және эталонды белгісімен қабылданған орташа көлемнің арасындағы жақындық дәрежесі.

ЕСКЕРТПЕ Ақиқаттық өлшемі, әдетте ауытқулар (қателіктер) терминдерінде айтылады. Ақиқаттық «орташа дәлдік» сияқты анықталуы мүмкін.

3.1.10 **Дәл нәзіктік (**Precision**) :** Берілген жағдайда алынған сынақтардың тәуелсіз нәтижесі арасындағы жақындық дәрежесі.

1-ЕСКЕРТПЕ Дәл нәзіктік тек кездейсоқ қателіктерді бөлуге тәуелді және ақиқаттық белгісімен немесе белгіленген көлеммен байланысты емес.

2-ЕСКЕРТПЕ Дәл нәзіктік өлшемі кемшіліктер терминдерінде айтылады және сынау нәтижелерінің стандартты ауытқулары ретінде есептелінеді. Ең аз дәл нәзіктік көбірек стандарттық ауытқуларға сәйкес

келеді.

3-ЕСКЕРТПЕ «Тәуелсіз сынау нәтижелері» сынақтардың сол немесе ұқсас нысандарында бұрын алынған нәтижелердің әсеріне душар болмайтын осындай тәсілдермен алынған нәтижелерді білдіреді. Дәл нәзіктіктің сандық өзгеруі белгіленген жағдайымен тығыз тәуелді. Қайталану және жаңадан өндіру жағдайы төтенше жағдайдың дербес оқиғасы болып табылады.

3.1.11 **Қайталану** (Repeatability)**:** Қайталану жағдайындағы дәл нәзіктік.

3.1.12 **Жаңадан өндіру** (Reproducibility)**:** Жаңадан өндіру жағдайындағы дәл нәзіктік.

3.1.13 **Қайталану шарттары (**Repeatibility conditions**) :** Сынаудың тәуелсіз нәтижелері кезінде бір және сол жабдықты пайдаланатын, бір және сол оператормен бір және сол зертханада уақыттың қысқа интервалы ішінде алынатын шарттар.

3.1.14 **Жаңадан өндіру шарты (**Reproducibility conditions**):** Сынаудың нәтижелері кезінде әр жабдықтарды пайдаланатын, әр оператормен әр зертханада бір және сол ұқсас сынау үлгілері әдісімен алынатын шарттар.

ЕСКЕРТПЕ Егер әр түрлі әдістер азғантай ерекшеленетін сынау нәтижелерін берсе немесе егер әр түрлі әдістер тәжірибе жоспарымен рұқсат етілсе, (тәжірибелікті зерттеу кезі немесе эталонды материалға арналған келісілген көлемді орнату үшін материалдарды сертификаттауға зерттеу кезі сияқты), «жаңадан өндіру» термині қорытынды параметрлерге қолданылуы мүмкін. Шарттар айқын анықталған болуы тиіс.

3.1.15 **Қайталаудың стандартты ауытқулары (**Reproducibility standard deviation)**:** Сынау нәтижелерінің қайталау шартында алынған стандартты ауытқулары.

ЕСКЕРТПЕ Қайталаудың стандартты ауытқуы қайталау шартында сынау нәтижелерінің бөліну дисперсия шамасын береді. «Қайталау ауытқушылығы» және «қайталаудың түрлендірме коэффициенті» ұқсастығы қайталау шартында сынау нәтижелерінің дисперсия шамасы есебінде пайдаланылуы және анықталынуы мүмкін.

3.1.16 **Жаңадан өндірудің стандартты ауытқулары (**Reproducibility standard deviation)**:** Сынау нәтижелерінің жаңадан өндіру шартында алынған стандартты ауытқулары

ЕСКЕРТПЕ Жаңадан өндірудің стандартты ауытқулары жаңадан өндіру шартында сынау нәтижелерінің бөліну дисперсия шамасын береді. «Жаңадан өндіру ауытқушылығы» және «жаңадан өндірудің түрлендірме

коэффициенті» ұқсастығы жаңадан өндіру шартында сынау нәтижелерінің дисперсия шамасы есебінде пайдаланылуы және анықталынуы мүмкін

3.1.17 **Қайталау шектігі (**Repeatibility limit): Қайталау шартында алынған екі сынаудың нәтижелері арасындағы 95 % мүмкіндігімен күтілетін ең аз көлем немесе тең абсолюттік айырмасы.

1-ЕСКЕРТПЕ r белгілеуі қолданады.

2-ЕСКЕРТПЕ Қайталау шартында алынған екі жеке сынау нәтижелерін қарау кезінде салыстыру $r = 2{,}8\ s_r$ қайталау шектігімен жүргізілуі тиіс.

3.1.18 **Жаңадан өндіру шектігі** (Reproducibility limit): Жаңадан өндіру шартында алынған екі сынаудың нәтижелері арасындағы 95 % мүмкіндігімен күтілетін ең аз көлем немесе тең абсолюттік айырмасы.

1 –ЕСКЕРТПЕ R белгіленуі қолданылады.

2-ЕСКЕРТПЕ Жаңадан өндіру шартында алынған екі жеке сынау нәтижелерін қарау кезінде салыстыру $R = 2{,}8\ SR$ жаңадан өндіру шектігімен жүргізілуі тиіс.

3.1.19 **Бірлескен сынақтар, зертханааралық сынақтар**(Collaborative trial, Interlaboratory study): Бірнеше зертханалардағы сынақтар құжаттандыру шарты кезінде гомогенді тұрақты материалдардың бір немесе бірнеше «ұқсас» өлшемдерінің қандай да бір компоненттерді анықтайды және/немесе табады

ЕСКЕРТПЕ Бірлескен сынақтар бойынша басшылық етуші көрсетулер ИСО 5725-2 [8] үйлестірілген хаттамада егжей-тегжейлі жасалған

3.1.20 **Мақсаттар сәйкестігі, қолданылуы** (Fitness for purpose, applicability)**:** Зерттелетін матрикс, компонент немесе биологиялық түр анықтайтын әдісті қолдану саласы, шоғырлану диапазоны және зерттеу/бақылау сынағының типі оның жұмыс сипаттамасынан жорамалдайтын процедурасы сәйкес келеді.

ЕСКЕРТПЕ Ол, сондай-ақ [3] әдісінің белгілі шектеулерімен сипатталады.

3.1.21 **Жүзеге асырылуы** (Practicability)**:** Қойылған мақсат түріне жету және жұмыс параметрлерінің қажетті критерийлеріне жету үшін өткізу қабілеттілігі және үлгілер бағасы терминдеріндегі пайдалану жеңілдігі.

3.1.22 **Қолдану диапазоны/**сандық бағалау диапазоны/сызықтық/ динамикалық диапазоны **(**Applicability range /range of quantitation/linearity/dynamic range)**:** Ішінде бірлескен сынақтармен немесе басқа ұқсас сенімділікті тексеру процедураларымен көрсетілгендей сандық

интервал, дәлдік пен дәл нәзіктіктің жеткілікті деңгейі бар талдау процедурасы.

ЕСКЕРТПЕ Бірлескен сынақтарды сипаттайтын [2] сілтемені және сенімділікті тексеру әдісін сипаттайтын [3] сілтемені қарау.

3.1.23 **Өлшем кемшіліктері** (Measurement uncertainty)**:** Компонентке жүйелі қосылатын көлем дисперсиясын сипаттайтын өлшем нәтижелерімен байланысты параметр.

3.1.24 **Скрининг әдісі**(Screening method)**:** Дәлдік әдісін қолдану үшін талап етілетін сынау үлгілерінің санын шектейтін және теріс (немесе оң) сынау үлгілерінің үлкен санын тез және сенімді алып тастауға (шығарып тастау) мүмкіндік беретін әдіс.

1 - ЕСКЕРТПЕ [4] сілтемені қарау.

2- ЕСКЕРТПЕ Осы стандартта скрининг әдісі генді өнімдерді (ақуыздар сияқты) және/немесе бірнеше GMO үшін генетикалық элементтер (промоторлар, терминаторлар немесе басқа мүдделі генетикалық элементтер сияқты) табу әдісін береді.

3.1.25 **Өзіндік құрастырылым әдісі (**Construct-specific method): Тек GMO-дан алынатын материалда табылатын, DNA бірізділігімен қойылатын комбинацияны ұстанатын әдіс.

3.1.26 **Өзіндік жағдайдағы әдіс** (Event-specific method)**:** Сол немесе басқа нақты түрлендірмелі жағдайда қатысатын өзіндік бірізділікпен табатын әдіс.

ЕСКЕРТПЕ Ол әдетте шеттік интеграция саласына жіберіледі.

3.2 DNA тазартуына және экстракциясына жататын терминдер

3.2.1 **DNA экстракциясы (**DNA extraction): Зерттелетін үлгінің басқа компоненттерінен DNA бөлінуі.

3.2.2 **DNA тазартуы (**DNA purification**) :** Ең таза DNA алынуына әкелетін әдіс.

ЕСКЕРТПЕ Осы мән мәтіндегі тазалық PCR басытқыларының қадағаланатын және өлшенетін тиімділіктердің азаюына жатады.

3.2.3 **DNA PCR–сапасы (**PCR quality DNA**):** PCR әдісі амплификациясына арналған жеткілікті ұзындықты, химиялық тазалықты және құрылымдық тұтастықты DNA үлгісі.

3.3 DNA және PCR амплификациясына жататын терминдер

3.3.1 **Нуклеинді қышқылдардың бірізділік ұқсастығы /** Нуклеинді қышқылдардың бірізділік ұқсастығы **(**Identification of nucleic acid

sequences/identity of nucleic acid sequences): Эталонды нуклеинді қышқылдың бірізділік фрагментімен салыстыру жолымен ұқсастықты белгілеу.

ЕСКЕРТПЕ Мысалы, рестрикциялық гидролизаттар профилімен салыстыру немесе нуклеинді қышқылдардың бірізділігін салыстыру үлгісімен өзіндік будандастыру.

3.3.2 **Біріктіру саласы(**Junction region**):** Промотор және геннің кодталатын бөлігі сияқты келесі екі бірізділік элементін қоршаған DNA бірізділігі.

3.3.3 **Интеграцияның шекаралық саласы (**Integration-border region): Ағза - реципиенттен болатын бір элементті, ал трансформация барысында қойылған DNA-дан болатын басқа элементті біріктіру саласы.

3.3.4**. Таксоннан (эндогендік) тәуелді мақсатты бірізділік** (Taxon-specific (endogenous) target sequence/ sequence known to be specific for the target taxon)**:** Оның белгілі мақсатты таксон үшін ерекшелігі туралы бірізділік.

1-ЕСКЕРТПЕ Ол мақсатты таксонда үнемі қатыса алады және басқа таксондарда жоқ бола алады.

2-ЕСКЕРТПЕ Мақсатты таксон үшін қалай болғанда да, ерекше бірізділіктің екі түрі бар:

- мысалы мақсатты таксоннан нуклеинді қышқылдың болуына жеткізетіндей пайдалана алатын бірізділіктің ауыспалы саны немесе мульти көшірмесі;
- мысалы, сандық саралау кезінде мақсатты таксонның балама геномының базалық деңгейінде белгіленуі үшін эталонды бірізділік есебінде пайдалана алатын бірізділіктің жалғыз көшірмесі немесе көшірмелердің шамалы саны.

3.3.5 **Тура ток**(Forward flow): Шала немесе дайындалған жұмыс бөлігі (амплифициялық DNA қосқанда) барлық саралау кезінде физикалық оқшаулау болып қалатын зертханалық үлгіні қамтамасыз ету үшін үлгіні/материалдарды өңдеу принципі.

3.4 DNA және PCR бақылауларына жататын анықтамалар

ЕСКЕРТПЕ Ақуызды анықтауға негізделген әдістерге қолданылатын бақылаулар ISO 21572 сипатталған. Келесі анықтамалар DNA анықтауға негізделген әдістер үшін қолданылады.

3.4.1 **Мақсатты DNA оң бақылауы (**Positive DNA target control): Сертификатталған эталондық материалдан немесе белгілі типтік оң үлгіде зерттелетін бірізділіктің немесе ағзаның айқындалған DNA немесе эталондық DNA.

ЕСКЕРТПЕ Бұл бақылау PCR үшін реактивтер ойдағыдай жұмыс істейтінін көрсету үшін қолданылады.

3.4.2 **Мақсатты DNA теріс бақылауы (Negative DNA target control):** Сертификатталған эталондық материалдан немесе белгілі типтік теріс үлгіде зерттелетін бірізділігі жоқ, айқындалған DNA немесе эталондық DNA

ЕСКЕРТПЕ Бұл бақылау құрамында мақсатты бірізділігі жоқ зерттелетін үлгілердің саралауының нәтижелері теріс болатындығын көрсетеді.

3.4.3 **PCR тежеу бақылауы** (PCR inhibition control): Мақсатты компоненттің ерекше үлгісін сынау кезінде **PCR** тежеу бақылауының құралын қамтамасыз ететін реакциялық қоспа.

1-ЕСКЕРТПЕ Бұл бақылау PCR еритін басытқыларының барын анықтауға мүмкіндік береді және ол әсіресе теріс амплификация жағдайында және сандық PCR кезінде қажетті.

2-ЕСКЕРТПЕ Әсіресе мақсатты DNA белгілі саны бақылануы тиіс реакцияға қосылады. Бұл түпнұсқалық мақсатты бірізділік немесе оған ұқсас біреу болуы мүмкін, мысалы, бәсекелестің плазмидасы (бәсекелестік плазмида) сияқты сәл өзгертілген мақсатты бірізділік.

3.4.4 **PCR реагенттердің бақылауы (**PCR reagent control): Сынау үлгісінің экстрленген эталонды **DNA** басқа амплификациясы үшін барлық реактивтері бар бақылау

ЕСКЕРТПЕ Бұл бақылау реактивтерде ластанған нуклеинді қышқылдардың жоқтығын көрсету үшін қолданылады. Эталонды DNA орнына реакциялық қоспаға, мысалы, тазартылған судың балама көлемі қосылады.

3.4.5 **Экстракцияның бос бақылауы (Extraction blank control):** Үлгінің жұмыс бөлігін қосудан басқа экстракция процедураларының барлық сатысында тектендірілген жолмен жүргізілетін бақылау.

1-ЕСКЕРТПЕ Мысалы, үлгінің жұмыс бөлігін сумен ауыстыру жолы.

2-ЕСКЕРТПЕ Бұл бақылау экстракция барысында ластанған нуклеинді қышқылдардың жоқтығын көрсету үшін қолданылады.

3.4.6 **Экстракцияның оң бақылауы (**Positive extraction control): Мақсатты **DNA** айқындауға мүмкіндік беретін жолмен жүргізілетін **DNA** экстракциясының процедурасын көрсету үшін қолданылады.

ЕСКЕРТПЕ Мысалы, біле тұра мақсатты DNA бар үлгі материалын қолдану жолымен.

3.4.7 **Қоршаған ортаны бақылау (Environment control):** Бақылау, мысалы, зертханалардағы ауаларда ластанған нуклеинді қышқылдардың жоқтығын анықтау үшін қолданылады.

ЕСКЕРТПЕ Бақылау өзімен барлық процесс ішінде ауа бару үшін ашық қалдыратын судың нуклеинді қышқылдардан сәйкесті еркін көлемі бар түтігін береді.

3.5 Эталонды үлгілерге жататын терминдер

3.5.1 **Эталонды материал (**Rreference material**):** Материал немесе зат, бір немесе бірнеше, қайсысының сипаты жеткілікті біртекті және сенімді белгіленсе, онда ол түтікті мөлшерлеу, өлшеу әдісінің дәлдік бағалауы үшін немесе [ISO Guide 30] материалдарына арналған көрсеткіштерді белгілеу үшін қолданыла алады.

3.5.2 **Сертификатталған эталонды материал (**Certified reference material): Сертификаттау органымен берілген басқа құжаттамалар немесе қадағаланатын сертификаты немесе сертификаты бар процедуралармен техникалық жүргізу көмегімен бір немесе бірнеше сипаты сертификатталған, сертификатпен жабдықталған эталонды материал.

3.6 Сандық анықтамаларға жататын терминдер

ЕСКЕРТПЕ Ақуыздарды анықтауға негізделген әдістерге қолданылған ИСО 21572 сипатталған. Келесі анықтамалар DNA негізделген әдістерге қолданылады.

3.6.1 **DNA эндогендік бірізділік (**Endogenous DNA sequence): Тиісті таксон үшін табиғи болып табылатын нақты DNA эталонды бірізділігі.

ЕСКЕРТПЕ DNA эндогендік бірізділік, егер бірізділік көшірмелердің тұрақты санында болатын болса және мақсатты таксон сорттарының арасында аллельдік вариация тудырмаса, мақсатты таксонның балама геномдық санын анықтау үшін қолданыла алады.

3.7 GMO жататын терминдер

3.7.1 **GMO мазмұны** (GMO content): Өнімде GMO алынған материалдар немесе GMO саны және бірдейлілігі.

ЕСКЕРТПЕ Әдетте GMO мазмұны сараланатын компонентті детекторлеу жолымен бағаланады (сандық анықтама және теңдестіру).

4 Лайықты халықаралық стандарттарға қолдану

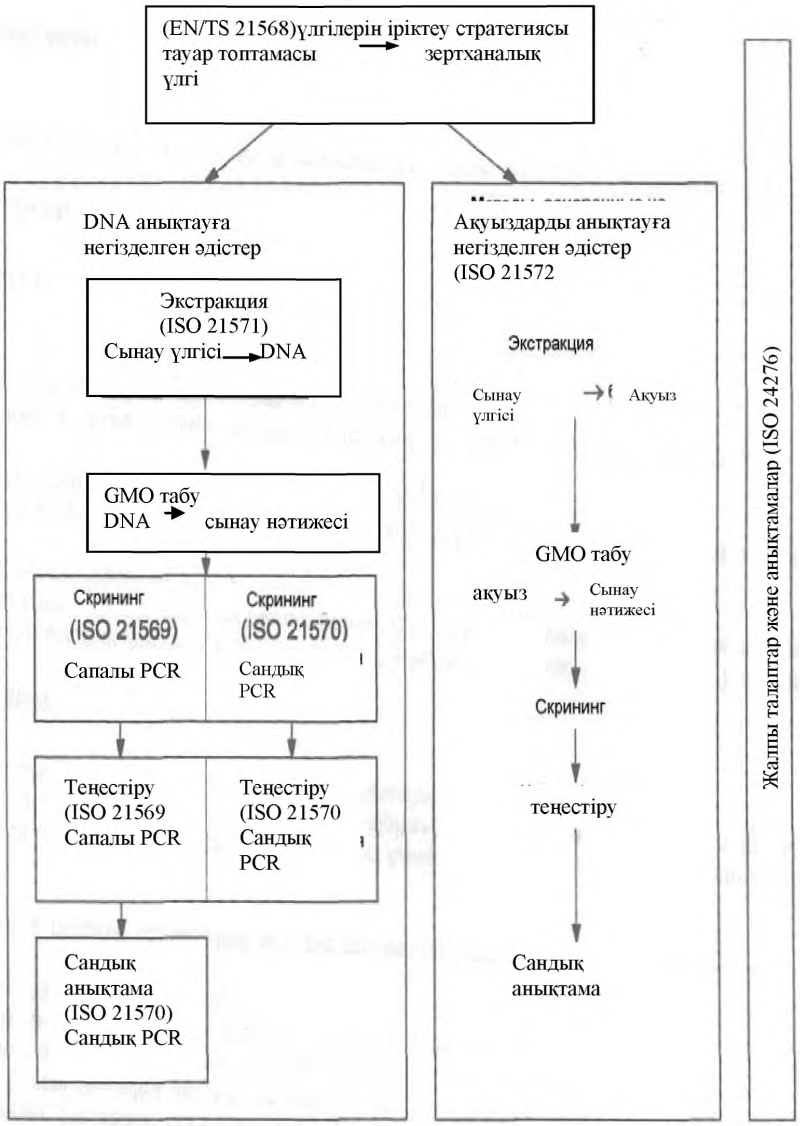
4.1 Жалпы ережелер

ИСО ISO 21569, ИСО 21570, ИСО 21571 и ИСО 21572 қосымшаларында келтірілген сенімділікті тексеру әдістері [2,8] зертханаларында бірлескен сынақтарда немесе басқа ұқсас [6] сенімділікті тексерудің процедураларында жүргізілген. Сенімділікті тексеру нәтижелері және әдістердің жұмыс сипаттамасы әр әдісте сипатталған.

Жоғарыда көрсетілген стандарттар тағам өнімдерінде GMO материалдарынан алынғанын табу үшін лайықты деп саналатын жеке әдістердің қатарын қосады. Әдістің(тердің) нақты таңдауы мақсат сәйкестігінен тәуелді және осы стандарттарды кім қолданады, соларға ары қарай егжей-тегжейін алу үшін әр қосымшаны қолдану саласына көңіл аударуы қажет.

Генетикалық өзгертілген ағзаларды табу үшін стандарттар және тағам өнімдерінде олардан алынған өнімдер Кіріспеде келтірілген. Осы стандарттар арасындағы өзара байланыс бірізділік операциясының схемасымен 1-суретте сипатталған.

ЕСКЕРТПЕ ИСО 21569, ИСО 21570 және ИСО 21571 қосымшаларында келтірілген әдістер үшін ИСО/ТС 21098 [12] жалпы талаптар береді.



1-сурет — Бірізділік операцияларының және өзара байланысты стандарттардың арасындағы өзара қатынас схемасы

4.2 Әдістерді таңдау үшін қолданушы үшін басшылық

4.2.1 Жалпы ереже

Нақты мақсатты компоненттер ерекшелігі және детекторлау әдістері біршама түрлендіруі мүмкін. Сондықтан таңдалған әдіс(тер) қалаған

ерекшелікті қамтамасыз ететініне сенімді болуы маңызды 4.2.2. және 4.2.3. келтірілген басшылық пайдалы болуы мүмкін.

4.2.2 Ақуызды саралау мақсаты есебінде қолданатын әдістер

Ақуыздар нақты қарама - қарсы денелерді қолдану көмегімен табылуы мүмкін. Мұндай жағдайда сол немесе басқа ақуызды табу үшін әдетте нақты қарама-қарсы денелерді алады. Ақуызға қарама-қарсы дененің туыстық дәрежесі экстракциядан кейін ақуыз конформациясынан тәуелді. Қолданылатын қарама-қарсы дененің ерекшелігі көрсетілуі тиіс (мысалы, тоғыспалы реактивтік болмауы тиіс). Ақуызды сандық анықтау көмегімен, егер бір және сол ақуыз айқындайтын GMO бір оқиғасынан көп орны бар болса, GMO ерекше оқиғасын табу тиянақты жүзеге асырыла алмауы мүмкін.

Айқындалған ақуыздың барына негізделген скрининг әдісі GMO өндіретін болып табылатын материал құрауы мүмкін трансген өнім жоғын немесе құрамында барын бағалайтындай пайдалы болып шығуы мүмкін.

Кейбір матрикстерде GMO бар болуын сандық анықтау ELISA сияқты ақуыздарды анықтауға негізделген әдістердің көмегімен жүзеге асуы мүмкін. Әдіс саралауға тұратын матрикс үшін сенімділікке тексерілуі тиіс және сынау үлгілерінде ақуыз санын есептеуді жүзеге асыратын қисық мөлшерлеудің құрылуы үшін стандарттар қолжетімді болуы тиіс.

4.2.3 Саралау мақсаты есебінде DNA қолданатын әдістер

GMO өндіруші болып табылатын материалдың барын анықтау үшін нысана есебінде DNA пайдаланатын аналитикалық әдістер ерекшелігі DNA мақсатты бірізділігінің өзіндік сипатынан тәуелді. Төменде қолданылуы және ерекшелікті жіктегіші келтірілген.

a) Таксон - әдетте түрде, жалғыз таксонда табылған DNA мақсатты бірізділігінің ерекше әдістері, бірақ өте төмен немесе өте жоғары таксономикалық жағдайы бар болуы мүмкін. Таксон-ерекше әдістері сол немесе басқа таксоннан шығатын DNA санының және сапасының барын анықтау кезінде пайдалы болуы мүмкін және кейде GMO өндіруші болып табылатын материалдың біршама мазмұнын анықтау кезінде бастапқы нүкте есебінде қолданылады. Ерекшелік сараптамалық мәліметтің көмегімен белгіленуі тиіс.

b) Әр түрлі жағдайда табылған, бірақ барлық өзгеру жағдайында табылуы міндетті емес DNA мақсатты бірізділігінің скрининг әдістері. Бұл бірізділіктер, сондай-ақ GM болып табылмайтын материалдарда табылуы мүмкін, мысалы, табиғи вирустар немесе бактериялардың бар болуы салдары. Скрининг әдістері GMO өндіретін болып табылатын материал құрауы мүмкін трансген өнім жоғын немесе құрамында барын бағалайтындай пайдалы болып шығуы мүмкін. Скрининг әдістерінің мысалдары сапалы ПЦР болып табылады, соның көмегімен гүлді қырыққабаттың мозаика вирусынан 35S промотор табылады.

c) Ерекше құрастырылым әдістері тек GMO өндіруші болып табылатын материалында, яғни гендік инженерияның көмегімен құрастырылған DNA

бірізділігі элементтерінің комбинациясында табылады. Нақты гендік құрастырылымды табу DNA шығатын түрлендірмелік оқиғасының теңестірілуі үшін жеткілікті болуы мүмкін, алайда сол гендік құрастырылым бірден көп түрлендірмелі оқиғада қолданылуы мүмкін және әр оқиғада бір гаплоидті GM-геномда толық және/немесе қиылған гендік құрастырылымдар көшірмелерінің енгізілген саны түрлендіріле алады.

d) Ерекше оқиға әдістері тек бірыңғай түрлендірмелік оқиғаны өндіруші болып табылатын материалында, әдетте енгізілген DNA мен иесіне тән геноммен (интеграция шекаралық саласы) арасындағы біріктіру саласын қамтитын DNA бірізділігінде табылады. Ерекше оқиғалы DNA бірізділігінің көшірмелер саны - әрқашан бір гаплоидті GM-геном. Ерекше оқиға әдістері әсіресе ерекше оқиғаларды теңестіру үшін жарамды және нақты уақытта PCR сенімділікті тексеру әдістерінде қолданылса, сондай-ақ нақты GMO шығатын DNA санын бағалауы мүмкін.

4.3 Жұмыс сипаттамалары

4.3.1 Жалпы ереже

Тиімді жұмыс сипаттамасы және әдістер деңгейі тиісті стандарттардың қосымшаларында көрсетілгендей.

4.3.2 Детекторлеу шектігі(LOD)

ИСО 21569, ИСО 21570 және ИСО 21572 қосымшаларында көрсетілгендей әр аналитикалық әдіс үшін LOD көлемдері әдістерді әзірлеушінің мәлімдемесімен және/немесе зертхананың бірлескен сынауларымен жүргізілетін сенімділікті тексеру деректеріне негізделген және ақпараттық мақсат үшін енгізілген. Бірлескен зертханалық сынаулар деректерінен алынған LOD көлемдері әдетте төмен немесе жаңадан өндірудің > 33 % біршама стандартты ауытқуларымен < 5 % жалған теріс нәтиже беретін компоненттің ең төменгі санына сілтенеді. Алайда, бұл көлемнен асатын немесе оған жетпейтін компоненттің кейбір деңгейлері жаңадан өндірудің біршама стандарттық ауытқулары > 33 % болуы мүмкін, тиісті қосымшадан толығырақ танысуға болады. Сандық LOD әдістері үшін жаңадан өндірудің біршама стандартты ауытқулары 33 % болуы үшін компоненттің өте төменгі деңгейіне сәйкес келеді.

Нақты LOD – мақсатты таксонның геномының көшірмесінің белгілі санын беретін (анықталған/есептелінген), табылуы мүмкін мақсатты DNA ең аз біршама саны. Тиісті түрдегі геномның молекулярлық массасына негізделген көшірмелер санын есептеу үшін [7] сілтемесінде келтірілген өлшемдер пайдаланылуы тиіс. Нақты LOD үлгінің жұмыс бөлігімен, матрицалық DNA сапасымен/санымен және абсолютті LOD әдісімен байланысты.

Сенімділікке тексерілген әдісі жоқ немесе LOD сәйкес өзара мәндес болатын матрицалар үшін зертханалар ішкі жұмыс тәжірибесіне негізделген

нақты LOD хабарлауы немесе осы матрицалар үшін ол белгісіз екендігі жөнінде атап өтуі және ерекше матрицаға сенімділікке тексерілген LOD сілтемесін жасауы тиіс.

4.3.3 Сандық анықтамалар шектігі (LOQ)

ИСО 21569, ИСО 21570 және ИСО 21572 қосымшаларында көрсетілгендей әр аналитикалық әдіс үшін LOQ көлемдері әдістерді әзірлеушінің мәлімдемесімен және/немесе зертхананың бірлескен сынауларымен жүргізілетін сенімділікті тексеру деректеріне негізделген және ақпараттық мақсат үшін енгізілген. Бірлескен зертханалық сынаулар деректерінен алынған LOQ көлемдері әдетте төмен немесе жаңадан өндірудің 25 % біршама стандартты ауытқуларын беретін компоненттің ең төменгі санына сілтенеді. Алайда, осы көлемді асыратын немесе оған жетпейтін компоненттердің кейбір деңгейлері жаңадан өндірудің > 25 % біршама стандартты ауытқулары болуы мүмкін; толығырақ тиісті қосымшалармен танысуға болады және [2] және [6] сілтемелерін қарау.

Нақты LOQ – мақсатты таксон көшірмелер белгілі санын беретін (анықталған/есептелінген), сенімді сандық анықталуы мүмкін мақсатты DNA ең аз біршама саны. Тиісті түрдегі геномның молекулярлық массасына негізделген көшірмелер санын есептеу үшін [7] сілтемесінде келтірілген геном өлшемдер пайдаланылуы тиіс. Нақты LOQ үлгінің жұмыс бөлігімен, матрицалық DNA сапасымен/санымен және абсолютті LOQ әдісімен байланысты.

Сенімділікке тексерілген әдісі жоқ немесе LOQ сәйкес өзара мәндес болатын матрицалар үшін зертханалар ішкі жұмыс тәжірибесіне негізделген нақты LOQ хабарлауы немесе осы матрицалар үшін ол белгісіз екендігі жөнінде атап өтуі және ерекше матрицаға сенімділікке тексерілген LOQ сілтемесін жасауы тиіс.

5 Зертханаға және процедураларға жалпы талаптар

5.1. Жалпы ереже

Процедура мынадай сатыны қосады:

- көрнекі үлгіні алу;
- зертханалық үлгінің гомогенизациясы;
- сынау үлгінің өлшемдеріне дейін зертханалық үлгіні азайту;
- үлгіні дайындау және ұсақтау;
- сараланатын компоненттің экстракциясы;
- сынау, интерпретация және нәтижелер туралы есеп.

Сол немесе басқа процедуралар үшін ерекше нұсқаулар негізгі мәтінде және ИСО 21569, ИСО 21570, ИСО 21571 және ИСО 21572 жеке қосымшаларда мазмұндалады.

5.2 Бақылауларды пайдалану

Бақылаулар 1-кестеге сәйкес пайдаланылуы тиіс. Бұл кесте тек DNA анықтауға негізделген әдістерге қолданылады. Ақуызды анықтауға негізделген әдістерге қолданылатын бақылаулар ИСО 21572 сипатталған.

1-кесте– Бірізділік сатысы және бақылауды қосу арасындағы қиылысты көрсететін схема[a]

Бақылау сатысы	Қоршаған ортаны бақылау[b)]	Экстракцияның бос бақылауы[c)]	Экстракцияның оң бақылауы[d)]	Мақсатты DNA оң бақылауы[e)]	Мақсатты DNA теріс бақылауы[f)]	Амплификация реагенттерін бақылау[g)]	PCRтежеуін бақылау[h)]
Гомогендеу	Ұсынылады						
Нуклеинді қышқылдардың шайғыны	↓[a]	Серияға біреу	Тұрақты интервалдарымен міндетті				
Нуклеинді қышқылдардың сапасын бағалау	↓	↓	↓				
Нуклеинді қышқылдардың амплификациясы	↓	↓	↓	Міндетті	Ұсынылады	Міндетті	Ұсынылады, бірақ кейбір жағдайларда міндетті[i)]
Нукле							

инді қышқылдардың амплификациясы нәтижелерін бағалау	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
Интерпретация		↓	↓	↓	↓	↓	↓
Зертеу туралы есеп		↓	↓	↓	↓	↓	↓

[a] Нұсқаулар бұл бақылауды келесі сатыда да қолдануға болатындығын көрсетеді

[b] Қоршаған ортаны бақылауын қолдану зертхананы бұрынғы сатыда контаминация көздеріне теңестіруге және теңестіру үшін қай жұмыс үй-жайында контаминация барына көмектеседі.

[c] Қалай болғанда да бір бос бақылауы, ДНК бір немесе одан көп үлгіден айқындалатын болса, әрқашан қосылуы тиіс. Түтік әрқашан әр серияда соңғысы болуы тиіс. Бір бос экстракциясын лайықты араластыруы мүмкін, мысалы, автоматты экстракция үшін сегіз түтіктен немесе 96 ойықтан микроплашкадан таянышқа.

[d] Экстракцияның оң бақылауы экстракция үшін реактивтердің жаңа топтамасы қолданғанда барлық жағдайларда жүйелі түрде қосылуы тиіс. Егер реактивтермен немесе экстракция хаттамасын жүргізумен бірдеңе болса, онда бұл бақылау оны табады.

[e] Мақсатты DNA оң бақылауы мақсатты таксон немесе GMO нуклеинді қышқылдардың үлгісін табатын нуклеинді қышқылдардың амплификация процедуралар қабілеттілігін көрсетеді. Бұл шарт экстракцияның тиісті оң бақылауының көмегімен орындалуы мүмкін.

[f] Мақсатты DNA теріс бақылауы мақсатты таксон немесе GMO нуклеинді қышқылдарының үлгісінде жалған оң амплификациясының жоғынан қашатын нуклеинді қышқылдардың амплификация процедураларының қабілеттілігін көрсетеді.

[g] Амплификация реагенттерінің бақылауы PCR үшін реактивтер топтамасында пайдаланылатын ластанған нуклеинді қышқылдардың жоғын

көрсетеді. Амплификация реагенттерінің бақылауы экстракцияның бос бақылауы пайдаланылған кезде төмен түсірілуі мүмкін.
[h] PCR тежеуді бақылауын ерітілген ингибиторлардың жоғын көрсету үшін пайдаланыла алады. Бұл сондай-ақ, матрицалық нуклеинді қышқылдарды сериялық көбейту жолымен көрсетілуі мүмкін. Алайда үлгіні саралау нәтижесіне ерітілген ингибиторлардың тиімділігін бағалаудың кейбір типтері жасалуы тиіс.
[i] PCR тежеуді бақылау, егер үлгілердің барлық зерттеулері PCR көмегімен теріс болса және өнімдер үшін амплифициряльық DNA шығу үшін белгісіз болса, міндетті болып табылады.

5.3 Зертхананы ұйымдастыру

5.3.1 Жалпы ереже

Қауіпсіздік ережесіне және қауіпсіздік жөніндегі өндірушінің ұсыныстарына қатысты тиісті талаптарды сақтаған жөн және ISO/МЭК 17025 айтылған басшылық принциптерімен сәйкес солай істелінуі қажет.

5.3.2 Зертхананы жобалау

DNA кездейсоқ контаминациясы шаң-тозаңнан немесе шашыраңқы аэрозольдан шығуы мүмкін. Осының салдарынан, зертханада жұмыс үй-жайын ұйымдастыру мыналарға қисынды негізделген:

- нәтижелерді алу үшін пайдаланылатын барлық әдістемелік сатыларды жүйелі қорғау;
- үлгімен жұмыс кезінде «тура ток» принципінде.

DNA анықтауға негізделген әдістер үшін төмендегі зертхана құрастырылымы қолданылады.

Ең кем дегенде төрт жеке жобаланған өзінің жеке жабдықтарымен ұсталынған/мамандандырылған жұмыс үй-жайы қажет, атап айтқанда:

a) ұсату және гамогенизация үшін жұмыс аймағы

b) зерттелетін материалдан нуклеинді қышқылдардың экстракциясы үшін жұмыс аймағы;

c) PCR/амплификациясының реакциясын қоюға арналған жұмыс аймағы;

d) егер бұл қарастырылмаса, DNA бірізділігінің амплифициряльық сипаттамасын және саралауын қоса келесі өңдеуге арналған жұмыс аймағы.

Егер ұсақтау үшін шаң бөлшектерін тудыратын жабдықтарды пайдаланылса, бұл жұмыс қосымша жұмыс аймағында жүргізілуі тиіс.

Алуан бөлмені пайдалану жолымен физикалық бөлу бөлек жұмыс аймақтарын қамтамасыз ету аса тиімді және ұнамды жолы болып табылады, алайда олардың тиімділігі салыстырмалы болған жағдайы кезінде контаминациядан қорғау үшін басқа да әдістер пайдаланылуы мүмкін.

5.3.3 Қызметкер

Зертхана қызметкерлері ұсақтауға арналған аймақ немесе PCR-лік аймақ бекеті сияқты әр түрлі жұмыс аймақтарында әр түрлі зертханалық киім киюі тиіс. Олар, сондай-ақ бір рет пайдаланатын бес саусақты қолғаптарды пайдалануы тиіс. Егер бұл мүмкін болса, ұнтақпен себілген бес саусақты қолғаптарды PCR қоюға дейінгі реакция операциялары үшін алынып тасталуы тиіс, сондықтан бұл ұнтақ ол өндіріліп жатқанда PCR реакциясын тежеуі немесе оны контаминациялануы мүмкін, мысалы, жүгері крахмалынан материалмен. Бес саусақты қолғап және зертханалық киім тиісті кезеңдікпен ауыстырылуы тиіс. Барлық PCR- процедуралар контаминацияны алып тастайтын жағдайларда жүргізілуі тиіс.

Сынау процедураларының барлық сатысын жүргізетін барлық қызметкер тиісті әдістермен жұмыс үшін оқытылуы тиіс.

5.3.4 Құралдар және басқа жабдықтар

Зертхана, жабдығы бар, қолданылатын әдістер үшін жарамды тиісті түрде пайдаланылуы тиіс.

Құралдар және басқа жабдықтар әзірлеушінің нұсқауларымен сәйкес ұсталынуы тиіс.

5.3.5 Материалдар және реактивтер

Егер басқаша белгіленбесе, саралау үшін тек молекулярлық биология үшін жарамды және DNA-дан және DNA- лардан бос «аналитикалық мақсат үшін» біліктілігі бар реактивтер пайдаланылады. Реактивтер және ерітінділер, егер басқаша анықталмаған болса, бөлме температурасы кезінде сақталуы тиіс. PCR үшін реактивтер контаминация қаупін мейлінше азайту үшін шағын аликвот түрінде сақталуы тиіс. Пайдаланылатын су би тазартылған немесе салыстырмалы сапада болуы тиіс. Ерітінділерді, егер басқаша анықталмаған болса, келесі автоклавтаумен тиісті реактивтерді суда ерітумен дайындаған жөн. Егер автоклавтау мүмкін болмаса, онда стерильді фильтрацияға арналған жабдықты пайдалануға болады (тесіктердің мүмкін болатын өлшемі 0,22 мкм).

PCR қою аймағында контаминацияның алдын - алу үшін стерильді әдістеме қабылдануы тиіс, көбінесе, микро тамызғыштар үшін ұштықтар аэрозольдан қорғалған ұнтақпен себілмеген саусақты қолғаптар, стерильденген пластикті ыдыс, автоклавтанған реактивтер, бір рет пайдаланатын пластикті ыдыс пайдалануы тиіс.

Құрамында реактивтері бар материалдар және барлық контейнерлер, сондай-ақ барлық бір рет пайдаланатын буып-түюлер кез-келген контаминациялайтын агенттен сақталуы тиіс (мысалы, шаңнан).

Реактивтерді қолдану бойынша өндірушінің ұсыныстарымен көңіл қойған жөн. Реактивтердің жұмысқа қабілеттілігін және оларда DNA жоғын бағалау үшін тиісті бақылаулар қолданылуы мүмкін.

Препараттарда PCR кедергі келтіруі мүмкін ешқандай қарастырылмаған ыдырату белсенділігі (мысалы, экзонуклеазды) болмауы

тиіс. Реакциялық буфер пайдаланылатын полипрезаның сауда таңбасына сәйкес келуі тиіс.

6 Нәтижелерді беру және интерпретациясы

6.1 Жалпы ереже

Сандық әдістер үшін нәтижелерді есептеу және беру ISO 21570 и ISO 21572 келтірілген. Бірде бір мәндегі немесе нәтиже берілмеуі тиіс.

6.2 Бақылаулардың интерпретациясы

Әр бақылаудың даусыз мәні бар және кез-келген бақылау үшін қадағаланатын нәтиже осы мәннен ерекшеленетін болса, саралау қайталануы тиіс. Қоршаған ортаны бақылау оң (күтілген көлемде амплификация өнімі табылды) немесе теріс (амплификация өнімі табылмады) болуы тиіс, бірақ оң нәтиже зертханалық үй-жайлар контаминациясын болдырмау немесе жою бойынша шараларды әрқашан ынтагерлік білдіруі тиіс. Егер кез келген басқа бақылаулар үшін негізделмеген нәтижелер қайталанып алынған жағдайында қатеге жауапты көзді(дерді) жою/ауыстыру бойынша шаралар қабылданған болуы тиіс, содан кейін саралау қайталануы тиіс. Аралау нәтижелері тек барлық бақылаулар даусыз нәтиже берген жағдайда ғана ұсынылады. Даусыз нәтижелер бақылау үшін мынадай:

- реакцияның оң бақылаулары әрқашан оң болуы тиіс;
- экстракцияның бос бақылаулары әрқашан теріс болуы тиіс;
- мақсатты DNA оң бақылауы әрқашан оң болуы тиіс;
- мақсатты DNA теріс бақылауы әрқашан теріс болуы тиіс;
- амплификация реактивтерінің бақылаулары әрқашан теріс болуы тиіс.

PCR тежеу бақылауы реакцияға қатысты айрықша басытқылық тиімділікті тудырмауы тиіс (саралау сапасы үшін тежеу тиімділігі сандық саралаудан қарағанда кем дегенде айтылуы тиіс).

Бақылаулар үшін PCR мүмкін нәтижелері 2-кестеде тізбектелген. Олар сынау үлгісіне арналған нәтижелерге интерпретация/есептерді беру үшін қолданылады.

2-кесте—PCR нәтижелерінің мысалдары

Сынау үлгісі	Экстракцияның оң бақылауы	Экстракцияның бос бақылауы	Мақсатты DNA ДНК теріс бақылау	Мақсатты DNA PCR оң бақылауы	Нәтиженің интерпретациясы
+[a]	+	—	—[b]	+	Оң
—	+	—	—	+	Теріс

+	+	+	—	+	Шешім қабылдау үшін жеткіліксіз [c]
—	—	+	—	—	Шешім қабылдау үшін жеткіліксіз [c]
—	—	—	—	—	Шешім қабылдау үшін жеткіліксіз [d]

[a] PCR өнімі табылады

[b] PCR өнімі табылмайды

[c] процедура экстракция сатысынан бастап қайталануы тиіс (мүмкін контаминация).

[d] процедура экстракцияның басқа әдісін немесе тазартудың қосымша сатысын пайдаланумен қайталануы тиіс (мүмкін контаминация).

Сынаулардың барлық сатылары және алынған нәтижелер хаттандырылған болуы тиіс.

6.3 Теріс нәтиженің айтылуы

Теріс нәтиже ешқашан «нөл» немесе «GMO жоқ» сияқты айтылмауы тиіс.

Келесі фраза сынау хаттамасында мазмұндалуы тиіс: «Х мақсатты компонентіне байланысты GMO өндіруші болып табылатын материал табылмады».

Бұдан басқа, сынау хаттамасы мынадай ақпаратты қосуы тиіс:

- ерекше матриксте сенімділікті тексеру LOD әдісі,
- зертхана тәжірибесіне немесе сараланған үлгілерде негізделген матрикс үшін нақты LOD (немесе оның белгісіздігі туралы бекіту).

Нақты LOD сенімділікті тексеру LOD әдісінен жоғары немесе тең болуы тиіс.

6.4 Оң нәтиженің айтылуы

Оған келесі немесе балама фраза сынау хаттамасында мазмұндалуы тиіс: «Х мақсатты компонентіне байланысты өндіруші болып табылатын материалдардың (ерекше мақсатты бірізділіктi көрсету) бары табылды».

GMO бірдейлілігі, егер ол белгілі болса, хаттамаға енгізілуі мүмкін.

6.5 Бір мағыналы емес нәтижелердің айтылуы

Үлгінің жұмыс бөлігін сынау нәтижесі қайшылықсыз болуы тиіс. Егер, тым болмаса үлгінің бір жұмыс бөлігі оң нәтижесін берсе, және мейлінше біреуі теріс нәтиже берсе, саралау сол зертханалық сынауда қайталануы тиіс.

Мынадай жағдайда, егер, тым болмаса, сынау екі рет қайталанса (нуклеинді қышқылдардың экстракциясынан бастап) оң нәтиже және теріс нәтиже сияқты бір мағыналы нәтижелер береді, сынау хаттамасы үлгі ISO 21569 и ISO 21570 сәйкес детекторлеу шектігінде теріс болып табылатыны жөнінде атап өтуі тиіс.

6.6 Сапа кепілділігіне талаптар

Сапа кепілділігінің жалпы аспектілері ISO/IEC 17025 айтылуы тиіс.

Олар жеке матрикске жарамды болып, әдістер сенімділікке тексерілсе және көрсетілсе, бұл әдістер осы қосымша матрикстер үшін қолданылатыны белгіленгенге дейін ұқсас немесе басқа матрикстерге қолданылмауы тиіс.

7 Сынау хаттамасы

Сынау хаттамасы тым болмаса мынадай ақпаратта мазмұнданууы тиіс:

a) зертханалық үлгідегі теңестірілу үшін қажетті барлық ақпаратты;

b) зертханалық үлгіге қатысы бар кез-келген ерекше ақпаратты (мысалы, жеткіліксіз өлшем, кері кету жағдайы);

c) осы стандартқа және тиісті қосымшаға сілтеме;

d) үлгілерді іріктеуге қолданылатын процедурасының(ларының) типі және күні туралы есеп;

e) алған күні;

f) егер қолдануға жарайтын болса, сақтау шарты

g) егер қолдануға жарайтын болса,саралаудың басталған /аяқталған күні;

h) саралауға жауапты тұлға;

i) зертханалық үлгінің және сынау үлгісінің өлшемі;

j) нәтижелер туралы есеп үшін қолданылған, сондай-ақ реттеу құралдарын және есептеу әдістерін қолданған өзіндік әдіс және өлшем бірліктері талаптарына сәйкес нәтижелер;

k) зерттеу барысында жасалған барлық ерекше бақылаулар;

l) сынаудың техникалық шарттарынан алып тастаудан немесе сынаудың техникалық шарттарын қосудан кез-келген ауытқулар

m) ISO 21569 немесе ISO 21570 сынау хаттамаларына арналған белгіленген тармақтағы талаптар;

n) 6-тарауда анықталған барлық қажетті тұжырымдар.

Ақпарат өлшем бірліктері қатынасына берілуі тиіс.

Өлшем кемшіліктері және олардың сенімді интервалдары қолданушы үшін оның сұрауы бойынша нәтижелерге қолжетімді болуы тиіс.

А қосымшасы
(ақпараттық)

Қазақстан Республикасының мемлекеттік стандарттарының халықаралық стандарттарының сілтемелік стандарттарына сәйкестігі туралы мәлімет

Халықаралық стандарттың белгіленуі және атауы	Сәйкестік дәрежесі	Қазақстан Республикасының мемлекеттік стандартының және халықаралық стандарттың белгіленуі және атауы
ISO 5725-1-2000 Өлшем әдістерінің дәлділігі (сенімділік және дәл нәзіктік) және нәтижелері. 1-бөлім.Жалпы принциптер және анықтамалар;	IDN	ГОСТ ИСО 5725-1-2002* Өлшем әдістерінің дәлділігі (сенімділік және дәл нәзіктік) және нәтижелері. 1-бөлім.Жалпы принциптер және анықтамалар;
ISO/IEC 17025–2006 Сынау және мөлшерлеу зертханаларының құзырлығына жалпы талаптар;	IDN	СТ РК ISO/IEC 17025–2007 Сынау және мөлшерлеу зертханаларының құзырлығына жалпы талаптар;
ISO 21569-2005 Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдардың сапалы анықтауына негізделген әдістер;	IDN	ГОСТ ИСО 21569-2009* Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдардың сапалы анықтауына негізделген әдістер;
ISO 21570-2005 Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдардың сандық анықтауына негізделген әдістер;	IDN	ГОСТ ИСО 21570-2009 * Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдардың сандық анықтауына негізделген әдістер;
ISO 21571-2005 Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға	IDN	ГОСТ ИСО 21571-2009 * Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға

арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдар экстракциясы;		арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Нуклеинді қышқылдар экстракциясы;
ISO 21572-2005 Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Ақуыздарды анықтауға негізделген әдістер;	IDN	ГОСТ ИСО 21572-2009* Тағам өнімдері. Генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер.Ақуыздарды анықтауға негізделген әдістер;

* жариялануға жатады

Библиография

[1] Codex Alimentarius Commission, Procedural Manual, Twelfth Edition for Principles for the Establishment of Codex Methods of Analysis, Guidelinesof the Criteria Approach, 2001, p. 64 (см. CX/MAS 01/4)

[2] Horwitz, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies. Pure and Applied Chemistry, 67, 1995, pp. 331-343

[3] Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, In House Method validation. In House validated methods and their role in methods of analysis for Codex purposes. Codex Alimentarius Commission (CX/MAS 98/8), 1998, Budapest, Hungary, 23-27 November 1998

[4] Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, In House Method validation. In House validated methods and their role in methods of analysis for Codex purposes. Codex Alimentarius Commission (CX/MAS 98/8), 1998, Budapest, Hungary, 23-27 November 1998

[5] Inhorn, S.L. Quality Assurance Practices for Health Laboratories, APHA, Washington DC, 1978, p. 588 [5] gost.e-ecolog.ru , ISBN 0-948926-12-0

[6] Thompson, M., Ellison, S.L. and Wood, R. Harmonised guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. Pure and Applied Chemistry, 47, No. 5, 2002, pp. 835-855

[7] Arumuganathan, K. And Earle, E.D. Nuclear content of some important plant species. Plant Mol. Biol. Rep., 9(3), 1991, pp. 208-218

[8] ISO 5725-2, Өлшеулер нәтижелерінің және әдістерінің дәлділігі (сенімділігі және дәл нәзіктігі) 2- бөлім. Өлшеулердің стандартты әдістерінің жаңадан өндіруін және қайталануын анықтаудың базалық әдістері

[9] ISO 7002; 1986, Ауыл шаруашылық тағам өнімдері – топтамалардан үлгілерді іріктеудің стандартты әдістері схемасы

[10] ISO/I EC 17025, Сынау және мөлшерлеу зертханалары құзырлығына жалпы талаптар

[11] ИСО Басшылық 30:1992* Стандартты үлгілер саласында қолданылатын терминдер және анықтамалар

[12] ISO/TS 21098 Тағам өнімдері. Нуклеинді қышқылдарды анықтауға негізделген олардың өндірушісі болып табылатын генетикалық өзгертілген ағзаларды және өнімдерді зерттеу әдістері. ИСО 21569, ИСО 21570 немесе ИСО 21571 әдістерін қосу процедурасы және ақпарат ұсынылуы тиіс.

ӘӨЖ 579.672:637.065:006.354 **МСЖ 67.050**

Түйінді сөздер: тағам өнімдері, генетикалық өзгертілген ағзаларды табуға арналған саралау әдістері және олардан алынған өнімдер, малға арналған азықтар, тұқымдар, жалпы талаптар мен анықтамалар

Ескертулер үшін

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ПРОДУКТЫ ПИЩЕВЫЕ

МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ И ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ НИХ ПРОДУКТОВ

Общие требования и определения

СТ РК ИСО 24276-2010

(ИСО 24276-2006 «Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Общие требования и определения» (ISO 24276:2006 «Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — General requirements and definitions»), IDN)

Издание официальное

Комитет технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан (Госстандарт)

Астана

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН И ВНЕСЕН республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Техническим комитетом по стандартизации «Инновационные технологии инфраструктуры», ТК 69

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан от 04.10.2010 г. № 439 - од

3 Настоящий проект стандарта является идентичным по отношению к ИСО 24276-2006 «Продукты пищевые. Методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Общие требования и определения» (ISO 24276:2006 «Foodstuffs — Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products — General requirements and definitions»).

Степень соответствия – идентичный, IDN

4 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ **2015 год**
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ **5 лет**

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений - в ежемесячных информационных указателях «Государственные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Государственные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без решения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Продукты пищевые
МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОРГАНИЗМОВ И ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ НИХ ПРОДУКТОВ
Общие требования и определения

Дата введения 2011-07-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает способ использования стандартов на

стратегии отбора образцов, экстракцию нуклеиновых кислот, качественный анализ нуклеиновых кислот, количественный анализ нуклеиновых кислот и методы, основанные на определении белков, и объясняет их взаимосвязь при анализе генетически модифицированных организмов в продуктах питания.

Стандарт содержит общие требования, определения и руководящие указания для организации лабораторий, требования к методу подтверждения достоверности, описание методов и протоколов испытаний.

Стандарт применяется для продуктов питания, но может быть применен также и для других объектов (например, для семян, кормов и растительных образцов, отобранных из окружающей среды).

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

СТ РК 1.9- 2007 Государственная система технического регулирования Республики Казахстан. Порядок применения международных, региональных и национальных стандартов иностранных государств, других нормативных документов по стандартизации в Республике Казахстан;

ISO 5725-1-2000* Точность (достоверность и прецизионность) методов измерения и результатов. Часть 1. Общие принципы и определения;

ISO/IEC 17025–2007* Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий;

ISO 21569-2005* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организ-

---

применяется в соответствии с СТ РК 1.9

Издание официальное

мов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на качественном определении нуклеиновых кислот;

ISO 21570-2005* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот;

ISO 21571-2005* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот;

ISO 21572-2005* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на определении белков;

EN/TS 21568–2005* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Стратегии отбора образцов;

ПРИМЕЧАНИЕ При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по ежегодно издаваемому информационному указателю «Указатель нормативных документов по стандартизации» по состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются термины по ISO 5725-1, а также следующие термины с соответствующими определениями.

3.1 Общие определения

3.1.1 **Таксон-мишень (целевой таксон)** (Target taxon)**:** Таксон, к которому принадлежит генетически модифицированный организм

ПРИМЕЧАНИЕ В настоящем стандарте таксон обычно означает биологический вид, однако он может иметь как более низкий, так и более высокий таксономический ранг.

3.1.2 **Лабораторный образец** (Laboratory sample)**:** Образец, подготовленный для отправки в лабораторию и предназначенный для обследования или тестирования

* применяется в соответствии с СТ РК 1.9

3.1.3 **Испытательный образец**/Рабочая часть образца (Test sample/Test portion): Образец, подготовленный для испытания или анализа, всё количество которого будет использовано для экстракции анализируемого компонента за один раз

3.1.4 **Специфичность** (Specificity)**:** Свойство метода исключительным образом отвечать на исследуемый параметр или вещество.

3.1.5 **Чувствительность** (Sensitivity)**:** Изменение ответной реакции, деленное на соответствующее изменение концентрации стандартной (калибровочной) кривой.

ПРИМЕЧАНИЕ Это наклон аналитической калибровочной кривой.

3.1.6 **Предел детектирования** (Limit of detection LOD)**:** Минимальное количество или концентрация исследуемого вещества в испытательном образце, которое может быть достоверно обнаружено, но необязательно оценено количественно, что может быть продемонстрировано с помощью совместных испытаний лабораторий или другого подходящего метода валидации

ПРИМЕЧАНИЕ См. ссылку [2], описывающую совместные испытания лабораторий, и ссылку [3], описывающую метод валидации..

3.1.7 **Предел количественного определения** (Limit of quantitation LOQ) (в аналитических процедурах)**:** Наименьшая концентрация или количество исследуемого вещества в испытательном образце, которая может быть количественно определена с приемлемым уровнем точности и достоверности, что может быть продемонстрировано с помощью совместных испытаний лабораторий или другого подходящего метода валидации.

ПРИМЕЧАНИЕ См. ссылку [2], описывающую совместные испытания лабораторий, и ссылку [3], описывающую метод валидации

3.1.8 **Точность** (Accuracy): Степень близости между результатом испытания и принятым эталонным значением.

3.1.9 **Истинность** (Trueness)**:** Степень близости между средней величиной, полученной в результате большого числа испытаний, и принятым эталонным значением.

ПРИМЕЧАНИЕ Мера истинности обычно выражается в терминах отклонений (ошибок). Истинность может быть определена как «точность среднего».

3.1.10 **Прецизионность** (Precision)**:** Степень близости между независимыми результатами испытаний, полученными при заданных условиях.

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

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Мера прецизионности обычно выражается в терминах погрешности и рассчитывается как стандартное отклонение результатов испытаний. Меньшей прецизионности соответствует большее стандартное отклонение.

ПРИМЕЧАНИЕ 3 «Независимые результаты испытаний» означает результаты, полученные таким способом, который не подвергается влиянию полученных ранее результатов на тех же или аналогичных объектах испытаний. Количественные изменения прецизионности критически зависят от установленных условий. Условия повторяемости и воспроизводимости являются частными случаями экстремальных условий.

3.1.11 **Повторяемость** (Repeatability)**:** Прецизионность в условиях повторяемости.

3.1.12 **Воспроизводимость** (Reproducibility)**:** Прецизионность в условиях воспроизводимости.

3.1.13 **Условия повторяемости** (Repeatibility conditions) **:** Условия, при которых независимые результаты испытаний получаются в течение короткого интервала времени одним и тем же методом на идентичных испытательных образцах в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором, использующим одно и то же оборудование.

3.1.14 **Условия воспроизводимости** (Reproducibility conditions)**:** Условия, при которых результаты испытаний получаются одним и тем же методом на идентичных испытательных образцах в разных лабораториях разными операторами, использующими разное оборудование.

ПРИМЕЧАНИЕ Когда разные методы дают результаты испытаний, различающиеся незначительно, или когда разные методы разрешены планом эксперимента, (как при исследовании опытности, либо при исследовании на сертификацию материалов для установления согласованной величины для эталонного материала), термин «воспроизводимость» может быть применён к итоговым параметрам. Условия должны быть ясно определены.

3.1.15 **Стандартное отклонение повторяемости** (Reproducibility standard deviation)**:** Стандартное отклонение результатов испытаний, полученных в условиях повторяемости.

ПРИМЕЧАНИЕ Стандартное отклонение повторяемости представляет собой меру дисперсии распределения результатов испытаний в условиях повторяемости. Аналогично «отклонение повторяемости» и «коэффициент вариации повторяемости» могут быть определены и использованы в качестве меры дисперсии результатов испытаний в условиях повторяемости.

3.1.16 **Стандартное отклонение воспроизводимости** (Reproducibility standard deviation)**:** Стандартное отклонение результатов испытаний, полученных в условиях воспроизводимости

ПРИМЕЧАНИЕ Стандартное отклонение повторяемости представляет собой меру дисперсии распределения результатов испытаний в условиях воспроизводимости.

Аналогично «отклонение воспроизводимости» и «коэффициент вариации воспроизводимости» могут быть определены и использованы в качестве меры дисперсии результатов испытаний в условиях воспроизводимости.

3.1.17 **Предел повторяемости (**Repeatibility limit): Величина меньшая или равная абсолютной разнице между двумя результатами испытаний, полученных в условиях повторяемости, ожидаемая с вероятностью 95 %.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Используется обозначение r.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 При рассмотрении двух единичных результатов испытаний, полученных в условиях повторяемости, сравнение должно производиться с пределом повторяемости $r = 2{,}8\ s_r$.

3.1.18 **Предел воспроизводимости** (Reproducibility limit): Величина меньшая или равная абсолютной разнице между двумя результатами испытаний, полученных в условиях воспроизводимости, ожидаемая с вероятностью 95 %

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Используется обозначение R.

ПРИМЕЧАНИЯ 2 При рассмотрении двух единичных результатов испытаний, полученных в условиях воспроизводимости, сравнение должно производиться с пределом воспроизводимости $R = 2{,}8\ SR$

3.1.19 **Совместные испытания, межлабораторные испытания** (Collaborative trial, Interlaboratory study): Испытания, в которых несколько лабораторий обнаруживают и/или опряют какой-либо компонент в одной или нескольких «идентичных» порциях гомогенных стабильных материалов при условиях документирования

ПРИМЕЧАНИЕ Руководящие указания по проведению совместных испытаний детально разработаны в гармонизированном протоколе ISO 5725-2 [8]

3.1.20 **Соответствие цели,** применимость (Fitness for purpose, applicability)**:** Область применения метода, которая определяет матрикс, компонент или биологический вид, которые будут исследоваться, диапазон концентраций и тип исследования/контрольного испытания, которому процедура, как можно судить из ее рабочих характеристик, соответствует.

ПРИМЕЧАНИЕ Она также описывает известные ограничения метода [3].

3.1.21 **Осуществимость** (Practicability)**:** Легкость эксплуатации, в терминах пропускной способности и стоимости образцов, для достижения необходимых критериев рабочих параметров и достижения, таким образом, поставленной цели.

3.1.22 **Диапазон применимости**/диапазон количественной оценки/линейность/динамический диапазон **(**Applicability range /range of

quantitation/linearity/dynamic range): Количественный интервал, внутри которого, как показано совместными испытаниями или другой подходящей процедурой валидации, аналитическая процедура имеет достаточный уровень точности и прецизионности.

ПРИМЕЧАНИЕ См. ссылку [2], где описаны совместные испытания, и ссылку [3], описывающие метод валидации.

3.1.23 **Погрешность измерения** (Measurement uncertainty): Параметр, связанный с результатом измерения, который характеризует дисперсию величин, которые обоснованно могут быть приписаны компоненту.

3.1.24 **Метод скрининга** (Screening method): Метод, который позволит быстро и достоверно исключить (отсеять) большое число отрицательных (или положительных) испытательных образцов и ограничить число испытательных образцов, требующихся для применения точного метода.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 См. ссылку [4].

ПРИМЕЧАНИЕ 2 В этом стандарте метод скрининга представляет собой метод обнаружения генных продуктов (таких как белки) и/или генетических элементов, общих для нескольких GMO (таких как промоторы, терминаторы или другие интересующие генетические элементы).

3.1.25 **Метод специфической конструкции** (Construct-specific method): Метод, который позиционирует комбинацию вставленных последовательностей DNA, которые обнаруживаются только в материале, полученном из GMO.

3.1.26 **Метод, специфического события** (Event-specific method): Метод, с помощью которого обнаруживают специфическую последовательность, которая присутствует только в том или ином конкретном трансформационном событии.

ПРИМЕЧАНИЕ Он обычно направлен на граничную область интеграции.

3.2 Термины, относящиеся к экстракции и очистке DNA

3.2.1 **Экстракция DNA** (DNA extraction): Отделение DNA от других компонентов исследуемого образца..

3.2.2 **Очистка DNA** (DNA purification) : Метод, приводящий к получению более чистой DNA.

ПРИМЕЧАНИЕ В этом контексте чистота относится к уменьшению наблюдаемых и измеряемых эффектов ингибиторов PCR.

3.2.3 **DNA PCR–качества** (PCR quality DNA): образец DNA достаточной длины, химической чистоты и структурной целостности, предназначенный для амплификации методом PCR.

3.3 Термины, относящиеся к амплификации DNA и PCR

3.3.1 **Идентификация последовательностей нуклеиновых кислот/** идентичность последовательностей нуклеиновых кислот **(**Identification of nucleic acid sequences/identity of nucleic acid sequences)**:** Установление идентичности путем сравнения с фрагментом/последовательностью эталонной нуклеиновой кислоты.

ПРИМЕЧАНИЕ Например, специфическая гибридизация с образцом, сопоставление профилей рестрикционных гидролизатов или сопоставление последовательностей нуклеиновых кислот.

3.3.2 **Область соединения (**Junction region)**:** Последовательность DNA, окружающая два следующих элемента последовательности, таких как промотор и кодирующий участок гена.

3.3.3 **Граничная область интеграции (**Integration-border region): Область соединения, в которой один элемент происходит из организма-реципиента, а другой элемент происходит из DNA, вставленной в ходе трансформации.

3.3.4 **Зависящая от таксона (эндогенная) целевая последовательность** (Taxon-specific (endogenous) target sequence/ sequence known to be specific for the target taxon)**:** Последовательность, о которой известно, что она специфична для целевого таксона.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Она постоянно присутствует в целевом таксоне и отсутствует в других таксонах.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Имеется, по крайней мере два типа последовательностей, специфических для целевого таксона:

- переменное число или мультикопийность последовательностей, которые также могут быть использованы, например, для того, чтобы достичь присутствия нуклеиновой кислоты из целевого таксона;
- небольшое число копий или единственная копия последовательности, которые также могут быть использованы, например, в качестве эталонной последовательности для установления базового (фонового) уровня эквивалентов генома целевого таксона при количественном анализе.

3.3.5 **Прямоток** (Forward flow): Принцип обработки материалов/образца, применяемый для обеспечения того, чтобы лабораторный образец, сырая или приготовленная рабочая часть (включая амплифицированную DNA) оставалась физически изолированными на протяжении всего анализа.

3.4 Определения, относящиеся к контролям DNA и PCR

ПРИМЕЧАНИЕ Контроли, применимые к методам, основанным на определении белка, описаны в ISO 21572. Следующие определения применяются для методов, основанных на определении DNA.

3.4.1 **Положительный контроль целевой DNA (**Positive DNA target control): Эталонная DNA или DNA, экстрагированная из сертифицированного эталонного материала, или известного типичного положительного образца исследуемой последовательности или организма.

ПРИМЕЧАНИЕ Этот контроль применяется, чтобы продемонстрировать, что реактивы для PCR работают как положено.

3.4.2 **Отрицательный контроль целевой DNA (Negative DNA target control):** Эталонная **DNA** или DNA, экстрагированная из сертифицированного эталонного материала или известного отрицательного образца, не содержащая исследуемой последовательности.

ПРИМЕЧАНИЕ Этот контроль демонстрирует, что результаты анализов исследуемых образцов, не содержащих целевой последовательности, будут отрицательными.

3.4.3 **Контроль ингибирования PCR** (PCR inhibition control): Реакционная смесь, которая обеспечивает средство контроля ингибирования **PCR** при испытании специфического образца целевого компонента.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Этот контроль позволяет определение присутствия растворимых ингибиторов PCR, и он особенно необходим в случае отрицательной амплификации и при количественной PCR.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Обычно известное количество целевой DNA добавляется к реакции, которая должна быть проконтролирована. Это может быть оригинальная целевая последовательность или некий ее аналог, например, слегка модифицированная целевая последовательность, такая как плазмида конкурента (конкурентная плазмида).

3.4.4 **Контроль реагентов PCR (**PCR reagent control): Контроль, содержащий все реактивы для амплификации, за исключением экстрагированной эталонной **DNA** испытательного образца.

ПРИМЕЧАНИЕ Этот контроль применяется, чтобы продемонстрировать отсутствие загрязняющих нуклеиновых кислот в реактивах. Вместо эталонной DNA к реакционной смеси добавляется, например, эквивалентный объем дистиллированной воды.

3.4.5 **Пустой контроль экстракции (Extraction blank control):** Контроль, генерируемый путем проведения всех стадий процедуры экстракции, за исключением добавления рабочей части образца.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Например, путем замены рабочей части образца водой.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Этот контроль применяется, чтобы продемонстрировать отсутствие загрязняющих нуклеиновых кислот в ходе экстракции.

3.4.6 **Положительный контроль экстракции** (Positive extraction control): Контроль применяется, чтобы продемонстрировать, что процедура экстракции **DNA** проводилась путем, который позволяет экстрагировать целевую **DNA**.

ПРИМЕЧАНИЕ Например, путем использования материала образца, который заведомо содержит целевую DNA.

3.4.7 **Контроль окружающей среды (Environment control):** Контроль применяется, чтобы определить, что отсутствует загрязнение нуклеиновыми кислотами, например, из воздуха в лаборатории.

ПРИМЕЧАНИЕ Контроль представляет собой пробирку, содержащую соответствующий объем свободной от нуклеиновых кислот воды, которую оставляют открытой для доступа воздуха в течение всего процесса.

3.5 Термины, относящиеся к эталонным образцам

3.5.1 **Эталонный материал** (Rreference material)**:** Материал или вещество, один или несколько, чьи свойства достаточно однородны, и достоверно установлено, что он может использоваться для калибровки прибора, оценки точности метода измерения или для установления показателей для материалов

[ISO Guide 30]

3.5.2 **Сертифицированный эталонный материал** (Certified reference material): Эталонный материал, снабженный сертификатом, одно или несколько свойств которого сертифицированы с помощью надлежаще технически проведенной процедуры, имеющей сертификат или прослеживаемый сертификат, или другую документацию, выданную сертифицирующим(ованным) органом.

3.6 Термины, относящиеся к количественному определению

ПРИМЕЧАНИЕ Контроли, применимые к методам, основанным на определении белка, описаны в ISO 21572. Следующие определения применяются к методам, основанным на DNA.

3.6.1 **Эндогенная последовательность DNA** (Endogenous DNA sequence): Определенная эталонная последовательность DNA, являющаяся природной для соответствующего таксона.

ПРИМЕЧАНИЕ Эндогенная последовательность DNA может использоваться для определения количеств геномных эквивалентов целевого таксона, если последовательность присутствует в постоянном числе копий и не проявляет аллельных вариаций между сортами целевого таксона.

3.7 Термины, относящиеся к GMO

3.7.1 **Содержание GMO** (GMO content): Идентичность и количество GMO или материалов, полученных из GMO в продукте.

ПРИМЕЧАНИЕ Обычно содержание GMO оценивается путем детектирования анализируемого компонента (идентификации и количественного определения).

4 Применение к подходящим международным стандартам

4.1 Общие положения

Валидация методов,приведенных в приложениях к ISO 21569, ISO 21570, ISO 21571 и ISO 21572, была проведена совместными испытаниями лабораторий [2,8] или другими аналогичными процедурами валидации [6]. Результаты валидации и рабочие характеристики методов описаны в каждом методе.

Вышеуказанные стандарты включают ряд индивидуальных методов, считающихся подходящими для обнаружения полученных из GMO материалов в пищевых продуктах. Конкретный выбор метода(ов) зависит от соответствия цели и тому, кто пользуется этими стандартами, следует обратиться к области применения каждого приложения для получения дальнейших подробностей.

Стандарты для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов в пищевой продукции приведены во Введении. Взаимосвязь между этими стандартами описана схемой последовательности операций на Рисунке 1.

ПРИМЕЧАНИЕ ISO/TC 21098 [12] дает общие требования для методов, приведенных в приложениях к ISO 21569 , ISO 21570 и ISO 21571.

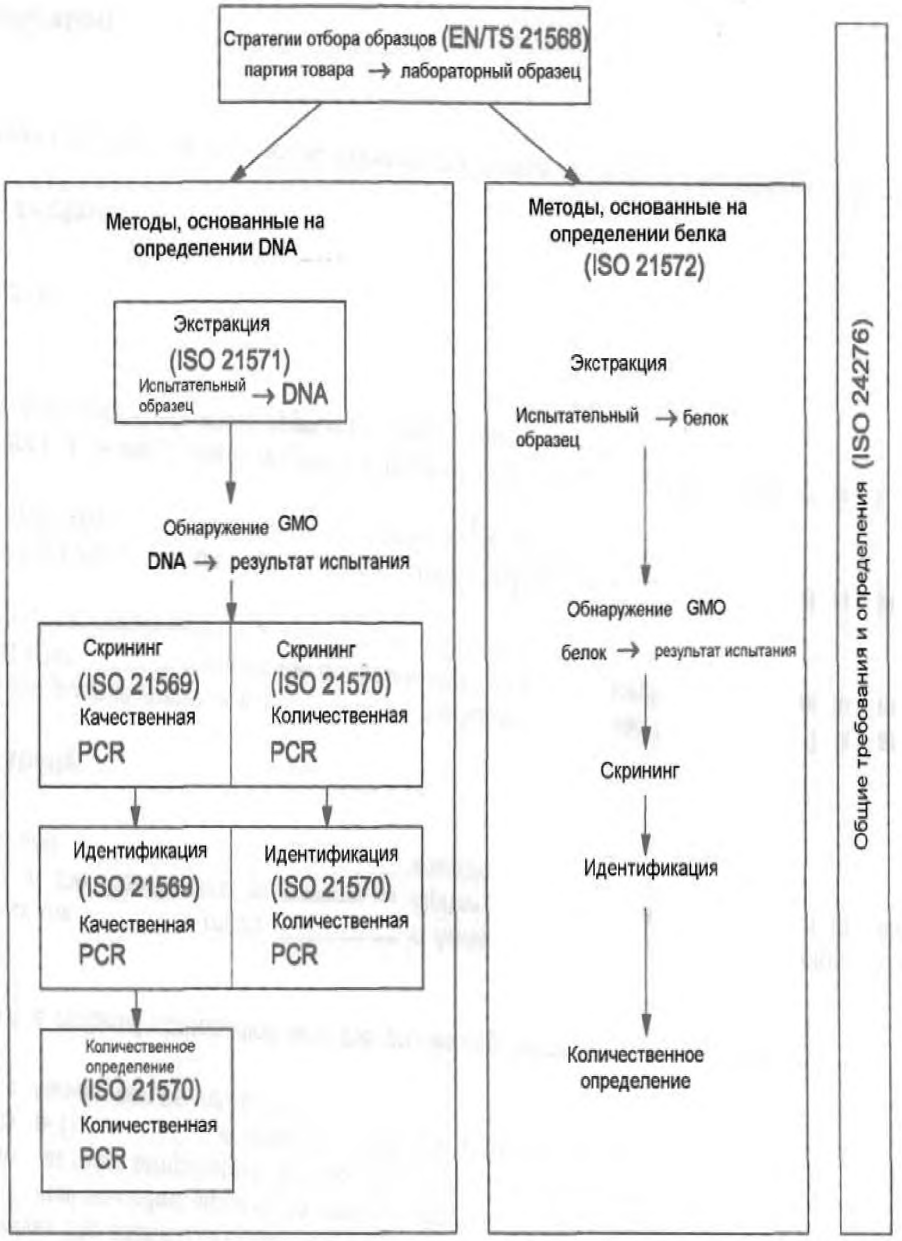


Рисунок 1 — Схема последовательности операций и взаимоотношений между взаимосвязанными стандартами

4.2 Руководство для пользователей по выбору методов

4.2.1 Общие положения

Специфика конкретных целевых компонентов и методы детектирования могут значительно варьировать. И именно поэтому важно быть уверенным в том, что выбранный метод(ы) обеспечивает желаемую

специфичность. Руководство, приведенное в 4.2.2 и 4.2.3, может быть полезным.

4.2.2 Методы, использующие белок в качестве цели анализа

Белки могут быть обнаружены с помощью применения конкретных антител. В этом случае для обнаружения того или иного белка обычно получают конкретное антитело. Степень сродства антител к белку зависит от конформации белка после экстракции. Специфичность используемого антитела должна быть продемонстрирована (например, не должно быть перекрестной реактивности). Обнаружение специфического события GMO с помощью количественного определения белка не может быть аккуратно осуществлено, если имеет место более чем одно событие GMO, экспрессирующее один и тот же белок.

Методы скрининга, основанные на присутствии экспрессируемого белка, могут оказаться полезными, чтобы оценить, содержит или нет трансген продукт, вероятно содержащий материал, являющийся производным GMO.

Количественное определение содержания GMO в некоторых матриксах может быть осуществлено с помощью методов, основанных на определении белка, таких как ELISA. Метод должен быть валидирован для матрикса, который предстоит анализировать, и должны быть доступными стандарты для построения калибровочной кривой, по которой осуществляется расчет количества белка в испытательных образцах.

4.2.3 Методы, использующие DNA в качестве цели анализа

Специфичность аналитических методов, использующих DNA как мишень для определения присутствия материала, являющегося производным GMO, зависит от специфических свойств целевой последовательности DNA. Ниже приведены применения и классификации специфичности.

a) Таксон - специфические методы целевых последовательностей DNA, обнаруженных у единичного таксона, обычно у вида, но возможно имеющего более низкое или более высокое таксономическое положение. Таксон-специфические методы могут быть полезными при определении присутствия, качества и количества DNA, происходящей из того или иного таксона, и иногда используются в качестве исходной точки при определении относительного содержания материала, являющегося производным GMO. Специфичность должна быть установлена с помощью экспериментальных данных.

b) Методы скрининга целевых последовательностей DNA, найденных в различных, но необязательно во всех трансформационных событиях. Эти последовательности могут также быть найдены и в неявляющемся GM материале, например, вследствие присутствия природных вирусов или бактерий. Методы скрининга могут быть полезны, чтобы оценить, содержит или нет трансген продукт, вероятно содержащий материал, являющийся производным GMO. Примером методов скрининга является качественная

ПЦР, с помощью которой обнаруживается 35S промотор из вируса мозаики цветной капусты.

c) Методы специфической конструкции обнаруживают последовательности DNA, которые найдены только в материале, являющемся производным GMO, т.е в комбинациях элементов последовательности DNA, сконструированных с помощью генной инженерии. Обнаружение конкретной генной конструкции может оказаться достаточным для идентификации трансформационного события, из которого происходит DNA, однако та же самая генная конструкция может быть использована в более, чем одном трансформационном событии и число внедрившихся копий полной и/или усеченных генных конструкций на один гаплоидный GM-геном у разных событий может варьировать.

d) Методы специфического события обнаруживают последовательности DNA, которые найдены только в материале, являющемся производным единичного трансформационного события, обычно последовательность DNA, охватывающую область соединения между введенной DNA и хозяйским геномом (граничная область интеграции). Число копий последовательности DNA специфического события - всегда одна на гаплоидный GM-геном. Методы специфического события особенно пригодны для идентификации специфических событий и, когда используются в валидированном методе PCR в реальном времени, могут также оценить количество DNA, происходящей из конкретного GMO.

4.3 Рабочие характеристики

4.3.1 Общие положения

Приемлемые рабочие характеристики и уровни методов таковы, как приведены в приложениях к соответствующим стандартам.

4.3.2 Предел детектирования (LOD)

Величины LOD для каждого аналитического метода, как указано в приложениях к ISO 21569, ISO 21570 и ISO 21572, основаны на данных валидации, проведенной совместными испытаниями лабораторий и/или заявлений разработчиков методов и включены только для информационных целей. Величины LOD, полученные из данных совместных испытаний лабораторий, обычно ссылаются на наиболее низкое количество компонента, которое дает ложноотрицательный результат < 5 % с относительным стандартным отклонением воспроизводимости > 33 % или ниже. Однако, некоторые уровни компонента, превышающие эту величину или не достигающие ее, могут иметь относительное стандартное отклонение воспроизводимости > 33 %; с подробностями можно ознакомиться в соответствующем приложении. Для количественных методов LOD соответствует наиболее низкому уровню компонента, для которого

относительное стандартное отклонение воспроизводимости должно быть 33 %

Фактический LOD - наименьшее относительное количество целевой DNA, которое может быть обнаружено, дающий известное (определенное/рассчитанное) число копий генома целевого таксона. Для расчета числа копий, основанного на молекулярной массе генома соответствующего вида, должны использоваться размеры генома, приведенные в ссылке [7]. Фактический LOD связан с рабочей частью образца, качеством/количеством матричной DNA и абсолютным LOD метода.

Для тех матриц, для которых отсутствуют валидированный метод или находящийся во взаимно однозначном соответствии LOD, лаборатории должны сообщать фактический LOD, основанный на внутреннем опыте работы, или констатировать, что для этих матриц он неизвестен и сделать ссылку на валидированный LOD на специфической матрице.

4.3.3 Предел количественного определения (LOQ)

Величины LOQ для каждого аналитического метода, как указано в приложениях к ISO 21569, ISO 21570 и ISO 21572, основаны на данных валидации, проведенной совместными испытаниями лабораторий и/или заявлений разработчиков методов и включены только для информационных целей. Величины LOQ, полученные из данных совместных испытаний лабораторий, обычно ссылаются на наиболее низкое количество компонента, которое дает относительное стандартное отклонение воспроизводимости 25 % или ниже. Однако, некоторые уровни компонента, превышающие эту величину или не достигающие ее, могут иметь относительное стандартное отклонение воспроизводимости > 25 %; с подробностями можно ознакомиться в соответствующем приложении и см. ссылки [2] и [6].

Фактический LOQ - наименьшее относительное количество целевой DNA, которое может быть достоверно количественно определено, дающий известное (определенное/рассчитанное) число копий генома целевого таксона. Для расчета числа копий, основанного на молекулярной массе генома соответствующего вида, должны использоваться размеры генома, приведенные в ссылке [7]. Фактический LOQ связан с рабочей частью образца, качеством/количеством матричной DNA и абсолютным LOQ метода.

Для тех матриц, для которых отсутствуют валидированный метод или находящийся во взаимно однозначном соответствии LOQ, лаборатории должны сообщать фактический LOQ, основанный на внутреннем опыте работы, или констатировать, что для этих матриц он неизвестен и сделать ссылку на валидированный LOQ на специфической матрице.

5 Общие требования к лаборатории и процедурам

5.1. Общие положения

Процедура включает следующие стадии:

- получение репрезентативного образца;
- гомогенизация лабораторного образца;
- уменьшение лабораторного образца до размеров испытательного образца;
- подготовка и измельчение образца;
- экстракция анализируемого компонента;
- испытание, интерпретация и отчет о результатах.

Инструкции, специфические для той или иной процедуры, содержатся в основном тексте и в индивидуальных приложениях к ISO 21569, ISO 21570, ISO 21571 и ISO 21572.

5.2 Использование контролей

Должны быть использованы контроли в соответствии с Таблицей 1. Эта таблица применима только к методам, основанным на определении DNA. Контроли, применимые к методам, основанным на определении белка, описаны в ISO 21572.

Таблица 1 Схема, иллюстрирующая пересечение между последовательными стадиями и включением контролей[a]

Контрольная стадия	Контроль окружающей среды[b)]	Пустой контроль экстракции[c)]	Положительный контроль экстракции[d)]	Положительный контроль целевой DNA[e)]	Отрицательный контроль целевой DNA[f)]	Контроль реагентов амплификации[g)]	Контроль ингибирования PCR[h)]
Гомогенизация	Рекомендуется						
Экстракция нуклеиновых кислот	↓[a]	Один на серию	Обязательный с регулярными интервалами				
Оценка качества нуклеиновых кислот	↓	↓	↓				
Амплификация нуклеиновых кислот	↓	↓	↓	Обязательный	Рекомендуется	Обязательный	Реком-ся, но в некоторых случаях обязательный[i)]
Оценка результа-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓

тов амплификации нуклеиновых кислот							
Интерпретация		↓	↓	↓	↓	↓	↓
Отчет об исследовании		↓	↓	↓	↓	↓	↓

[a] Стрелки указывают, что этот контроль следует применять и на последующих стадия

[b] Использование контроля окружающей среды поможет лаборатории идентифицировать источники контаминации на ранней стадии и для идентификации, в каком рабочем помещении присутствует контаминация.

[c] По крайней мере один пустой контроль должен быть включен каждый раз, когда ДНК экстрагируется из одного или более образцов. Пробирка должна всегда быть последней в каждой серии. Может быть подходящим помещать одну пустую экстракцию, например, в штатив из восьми пробирок или на микроплашку из 96 лунок для автоматической экстракции.

[d] Положительный контроль экстракции должен регулярно включаться и во всех случаях, когда используется новая партия реактивов для экстракции. Если что-то не так с реактивами или с проведением протокола экстракции, то этот контроль это выявит.

[e] Положительный контроль целевой DNA демонстрирует способность процедуры амплификации нуклеиновой кислоты обнаружить образец нуклеиновой кислоты GMO или целевого таксона. Это условие может также быть выполнено с помощью соответствующего положительного контроля экстракции.

[f] Отрицательный контроль целевой DNA демонстрирует способность процедуры амплификации нуклеиновой кислоты избежать ложноположительной амплификации в отсутствие образца нуклеиновой кислоты GMO или целевого таксона.

[g] Контроль реагентов амплификации демонстрирует отсутствие загрязняющей нуклеиновой кислоты в используемой партии реактивов для PCR. Контроль реагентов амплификации может быть опущен, когда используется пустой контроль экстракции.

[h] Контроль ингибирования PCR может использоваться для демонстрации отсутствия растворимых ингибиторов. Это также может быть продемонстрировано путем серийных разведений матричной нуклеиновой кислоты. Однако должны быть сделаны некоторые типы оценки эффекта растворимых ингибиторов на результаты анализа образца.

[i] Контроль ингибирования PCR является обязательным, если все исследования образца с помощью PCR были отрицательными и для продуктов, для которых выход амплифицируемой DNA неизвестен.

5.3 Организация лаборатории

5.3.1 Общие положения

Следует соблюдать надлежащие требования в отношении правил безопасности и рекомендаций производителя по безопасности и необходимо поступать в соответствии с руководящими принципами, изложенными в ISO/МЭК 17025.

5.3.2 Проектирование лаборатории

Случайная контаминация DNA может происходить из-за пыли или распыленных аэрозолей. Как следствие, организация рабочих помещений в лаборатории логически основана на:

- систематической защите всех методологических стадий, используемых для получения результатов;

- принципе «прямотока» при работе с образцом.

Для методов, основанных на определении DNA, применяется следующая конструкция лаборатории.

Необходимы минимум четыре отдельно спроектированных содержащих/специализированных рабочих помещения со своим собственным оборудованием, а именно:

a) рабочая зона для измельчения и гомогенизации;

b) рабочая зона для экстракции нуклеиновых кислот из исследуемого материала;

c) рабочая зона, предназначенная для постановки реакций PCR/амплификации;

d) рабочая зона, предназначенная для последующей обработки, включая анализ и характеризацию амплифицированных последовательностей DNA, если это предусмотрено.

Если используется оборудование для измельчения, продуцирующее частицы пыли, эта работа должна производиться в дополнительной рабочей зоне.

Физическое разделение путем использования разных комнат является наиболее эффективным и предпочтительным путем обеспечения раздельных рабочих зон, однако могут быть использованы и другие методы для защиты от контаминации, при условии, что их эффективность сопоставима.

5.3.3 Персонал

Сотрудники лаборатории должны носить разную лабораторную одежду в разных рабочих зонах, таких как зона для измельчения или пост-PCRная зона. Они также должны использовать одноразовые перчатки. Когда это возможно, использование посыпанных пудрой перчаток должно быть исключено для операций реакций до постановки PCR, поскольку эта пудра может ингибировать реакцию PCR или контаминировать ее, когда она производится, например, с материалом из кукурузного крахмала. Перчатки и лабораторная одежда должна заменяться с соответствующей периодичностью. Все PCR-процедуры должны производиться в условиях, исключающих контаминацию, насколько это возможно.

Весь персонал, производящий все стадии испытательной процедуры, должен быть обучен для работы соответствующими методами.

5.3.4 Приборы и другое оборудование

Лаборатория должна использовать должным образом содержащееся оборудование, пригодное для применяемых методов.

Приборы и другое оборудование должно содержаться в соответствии с инструкциями изготовителя.

5.3.5 Материалы и реактивы

Для анализа, если это не установлено иначе, используются только реактивы, имеющие квалификацию «для аналитических целей», пригодные для молекулярной биологии и свободные от DNA и DNAов. Реактивы и

растворы должны храниться при комнатной температуре, если это не определено иначе. Реактивы для PCR должны храниться в виде небольших аликвот для минимизации риска контаминации. Используемая вода должна быть бидистиллированной или сопоставимого качества. Растворы следует готовить растворением соответствующих реактивов в воде с последующим автоклавированием, если не определено иначе. Если автоклавирование невозможно, можно использовать оборудование для стерильной фильтрации (возможный размер пор 0,22 мкм).

Для того чтобы предотвратить контаминацию, в зоне постановки PCR должна быть принята стерильная методика, в частности, должны использоваться не посыпанные пудрой перчатки, стерилизованная пластиковая посуда, автоклавированные реактивы, одноразовая пластиковая посуда, защищенные от аэрозолей наконечники для микропипеток.

Материалы и все контейнеры, а также все одноразовые упаковки, содержащие реактивы, должны предохраняться от любого контаминирующего агента (например, от пыли).

Необходимо следовать рекомендациям производителя по применению реактивов. Для оценки работоспособности реактивов и отсутствия в них DNA могут использоваться соответствующие контроли.

В препаратах не должно присутствовать никакой непредусмотренной ферментативной активности (например, экзонуклеазной), которая может препятствовать PCR. Реакционный буфер должен соответствовать торговой марке используемой полимеразы.

6 Интерпретация и представление результатов

6.1 Общие положения

Для количественных методов расчет и представление результатов приведены в ISO 21570 и ISO 21572. Ни один неоднозначный результат не должен быть представлен.

6.2 Интерпретация контролей

Каждый контроль имеет неоспоримое значение и, если наблюдаемый результат для любого контроля отличается от этого значения, анализ должен быть повторен. Контроль окружающей среды может быть положительным (обнаружен продукт амплификации ожидаемой величины) или отрицательным (продукта амплификации не обнаружено), но положительный результат должен всегда инициировать меры по удалению и предотвращению контаминации лабораторных помещений. В том случае, если необоснованный результат для любого из других контролей получен повторно, должны быть предприняты меры по удалению/замещению источника(ов), ответственного за ошибку, после чего анализ должен быть повторен. Результаты анализа могут быть представлены только в том случае,

когда все контроли дадут неоспоримые результаты. Неоспоримые результаты для контролей таковы:

- положительные контроли реакции всегда должны быть положительными;
- пустые контроли экстракции всегда должны быть отрицательными;
- положительные контроли целевой DNA всегда должны быть положительными;
- отрицательные контроли целевой DNA всегда должны быть отрицательными;
- контроли реактивов амплификации всегда должны быть отрицательными.

Контроли ингибирования PCR не должны проявлять значительных ингибиторных эффектов в отношении реакции (для качественного анализа эффекты ингибирования могут быть менее выраженными, чем для количественного анализа).

Возможные результаты PCR для контролей перечислены в Таблице 2. Они используются для интерпретации/представления отчетов для результатов для испытательного образца.

Таблица 2 Примеры результатов PCR

Испытательный образец	Положительный контроль	Пустой контроль экстракции	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Интерпретация результата
+[a]	+	—	—[b]	+	Положительн
—	+	—	—	+	Отрицательны
+	+	+	—	+	Недостаточен для принятияреше ния [c]
—	—	+	—	—	Недостаточен для принятия решения [c]
—	—	—	—	—	Недостаточен для принятия решения[d]

[a]обнаруживается продукт PCR
[b] продукт PCR не обнаруживается
[c] процедура должна быть повторена, начиная со стадии экстракции (возможна контаминация).
[d] процедура должна быть повторена, с использованием другого метода экстракции или дополнительной стадии очистки (возможна контаминация).

Все стадии испытаний и полученные результаты должны быть запротоколированы.

6.3 Выражение отрицательного результата

Отрицательный результат никогда не должен выражаться как «нуль» или «GMO отсутствует».

Следующая фраза должна содержаться в протоколе испытаний: «В отношении целевого компонента X материал, являющийся производным GMO, не обнаружен».

Кроме того, протокол испытаний должен включать следующую информацию:

- LOD метода, валидированного на специфическом матриксе,
- фактический LOD для матрикса, основанный на опыте лаборатории или на проанализированных образцах (или утверждение, что он неизвестен).

Фактический LOD должен быть выше или равен LOD валидированного метода.

6.4 Выражение положительного результата

Следующая или эквивалентная ей фраза должна содержаться в протоколе испытаний: «В отношении целевого компонента X присутствие материала, являющегося производным (указать специфическую целевую последовательность) обнаружено».

Идентичность GMO может быть включена в протокол, если известна.

6.5 Выражение неоднозначного результата

Результаты испытания рабочей части образца должны быть непротиворечивыми. Если, по крайней мере, одна рабочая часть образца даст положительный результат и, как минимум, одна даст отрицательный результат - анализ должен быть повторен на той же лабораторной пробе.

В том случае, если, по крайней мере, две повторности испытания (начиная с экстракции нуклеиновых кислот) дают неоднозначные результаты, такие как положительный результат и отрицательный результат, протокол испытаний должен констатировать, что образец является отрицательный на пределе детектирования, в соответствии с ISO 21569 и ISO 21570

6.6 Требования гарантии качества

Общие аспекты гарантии качества изложены в ISO/IEC 17025.

Когда методы валидированы и показано, что они пригодны для единичного матрикса, эти методы не должны применяться к подобным или другим матриксам до того, как будет установлена их применимость для этих дополнительных матриксов.

7. Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать, по крайней мере, следующую информацию:

a) всю информацию, необходимую для идентификации лабораторного образца;

b) любую особую информацию, имеющую отношение к лабораторному образцу (например, недостаточный размер, деградированное состояние);

c) ссылку на настоящий стандарт и на соответствующее(ие) приложение(ия);

d) отчет о дате и типе использовавшихся процедур(ы) отбора образцов;

e) дату получения;

f) условия хранения, если применимо;

g) дату начала/окончания анализа, если применимо;

h) лицо, ответственное за анализ;

i) размер лабораторного образца и испытательного образца;

j) результаты в соответствии с требованиями специфического метода и единицы измерений, использовавшиеся для отчета о результатах, а также применявшиеся юстировочные приборы и методы расчета;

k) все особые наблюдения, сделанные в ходе исследования;

l) любые отклонения от добавления к или исключения из технических условий испытаний;

m) требования, определенные в пункте, посвященном протоколу испытаний, в ISO 21569 или в ISO 21570;

n) все необходимые формулировки, как это определено в Разделе 6.

Информация должна быть дана в отношении единиц измерений.

Погрешности измерений и их доверительные интервалы должны быть доступными для пользователя результатами по его запросу.

Приложение А
(информационное)

Сведения о соответствии государственных стандартов Республики Казахстан ссылочным международным стандартам

Обозначение и наименование международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта и государственного стандарта Республики Казахстан
ISO 5725-1-2000 Точность (достоверность и прецизионность) методов измерения и результатов. Часть 1. Общие принципы и определения;	IDN	ГОСТ ИСО 5725-1-2002* Точность (достоверность и прецизионность) методов измерения и результатов. Часть 1. Общие принципы и определения;
ISO/IEC 17025–2006 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий;	IDN	СТ РК ISO/IEC 17025–2007 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий;
ISO 21569-2005 Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на качественном определении нуклеиновых кислот;	IDN	ГОСТ ИСО 21569-2009* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на качественном определении нуклеиновых кислот;
ISO 21570-2005 Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот;	IDN	ГОСТ ИСО 21570-2009 *Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на количественном определении нуклеиновых кислот;
ISO 21571-2005 Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот;	IDN	ГОСТ ИСО 21571-2009 *Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Экстракция нуклеиновых кислот;
ISO 21572-2005 Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на определении белков;	IDN	ГОСТ ИСО 21572-2009* Продукты пищевые. Методы анализа, предназначенные для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов. Методы, основанные на определении белков;

* подлежит публикации

Библиография

[1] Codex Alimentarius Commission, Procedural Manual, Twelfth Edition for Principles for the Establishment of Codex Methods of Analysis, Guidelinesof the Criteria Approach, 2001, p. 64 (см. CX/MAS 01/4)

[2] Horwitz, W. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies. Pure and Applied Chemistry, 67, 1995, pp. 331-343

[3] Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, In House Method validation. In House validated methods and their role in methods of analysis for Codex purposes. Codex Alimentarius Commission (CX/MAS 98/8), 1998, Budapest, Hungary, 23-27 November 1998

[4] Codex Committee on Methods of Analysis and Sampling, In House Method validation. In House validated methods and their role in methods of analysis for Codex purposes. Codex Alimentarius Commission (CX/MAS 98/8), 1998, Budapest, Hungary, 23-27 November 1998

[5] Inhorn, S.L. Quality Assurance Practices for Health Laboratories, APHA, Washington DC, 1978, p. 588 [5] gost.e-ecolog.ru , ISBN 0-948926-12-0

[6] Thompson, M., Ellison, S.L. and Wood, R. Harmonised guidelines for single laboratory validation of methods of analysis. Pure and Applied Chemistry, 47, No. 5, 2002, pp. 835-855

[7] Arumuganathan, K. And Earle, E.D. Nuclear content of some important plant species. Plant Mol. Biol. Rep., 9(3), 1991, pp. 208-218

[8] ISO 5725-2, Точность (достоверность и прецизионность) методов и результатов измерений -Часть 2. Базовые методы определения повторяемости и воспроизводимости стандартных методов измерений

[9] ISO 7002; 1986, Сельскохозяйственные продукты питания - схема стандартных методов отбора образцов из партии

[10] ISO/I ЕС 17025, Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий

[11] ИСО Руководство 30:1992* Термины и определения, применяемые в области стандартных образцов

[12] ISO/TS 21098 Продукты пищевые. Методы исследования генетически модифицированных организмов и продуктов, являющихся их производными, основанные на определении нуклеиновых кислот. Информация, которая должна быть предоставлена, и процедура добавления методов к ИСО 21569, ИСО 21570 или ИСО 21571

УДК 579.672:637.065:006.354 **МКС 67.050**

Ключевые слова: пищевые продукты, методы анализа для обнаружения генетически модифицированных организмов и полученных из них продуктов, корма для животных, семена, общие требования и определения

Басуға _____ж. қол қойылды. Пішімі 60х84 1/16 Қағазы офсеттік.
Қаріп түрі «Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана.
Тапсырыс ____ _____
«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты» республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы Орынбор көшесі, 11 үй
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8(7172) 240074, 793324

gost.e-ecolog.ru