

Eurachem

**Akredytacja Laboratoriów
Mikrobiologicznych**

Wydanie drugie 2013

Wydanie Drugie

Niniejszy dokument został opracowany przez Eurachem. Podaje on stosowne informacje i wskazówki dla laboratoriów mikrobiologicznych dotyczące sposobu przygotowania się do spełnienia wymagań normy ISO/IEC 17025.

Wydawcy:

Mary Eleftheriadou, European University Cyprus
Kyriacos C. Tsimillis, Cyprus Accreditation Body

Skład utworzonej ad hoc Grupy Roboczej:

M. Eleftheriadou, European University Cyprus
K. C. Tsimillis, Cyprus Accreditation Body
G. T. Papageorgiou, State General Laboratory, Cyprus
N. Pissarides, State General Laboratory, Cyprus
A. Varnava-Tello, State General Laboratory, Cyprus

Zalecane cytowanie:

Zaleca się, aby niniejszy dokument był cytowany* w następujący sposób:

M. Eleftheriadou and K. C. Tsimillis (Eds), Eurachem guide: Accreditation for Microbiological Laboratories, Second edition (2013), ISBN: 978-91-87017-92-6.

Dostępne na stronie www.eurachem.org.

*Przedmiot wymagań czasopism

Podziękowania

Niniejszy dokument został opracowany głównie przez utworzoną ad hoc Grupę Roboczą Eurachem we współpracy z EA (Europejska Współpraca w dziedzinie Akredytacji) Komitetem ds. Laboratoriów.

Wydawcy wyrażają wdzięczność wszystkim poszczególnym osobom i organizacjom oraz innym, którzy przyczynili się do powstania tego dokumentu swymi komentarzami, poradą i pomocą.

Wprowadzenie do tłumaczenia

Oryginał publikacji: Eurachem, Accreditation for Microbiological Laboratories, second Edition 2013

Tłumaczenie wykonano w Polskim Centrum Akredytacji, 19.11.2018 r.; www.pca.gov.pl

Wersją oficjalną (rozstrzygającą) jest wersja w języku angielskim. Tekst tłumaczenia nie może być kopiowany w celu sprzedaży.

Akredytacja Laboratoriów Mikrobiologicznych

Wydanie w języku angielskim

Wydanie drugie 2013

ISBN: 978-91-87017-92-6.

Copyright © 2013

Zapytania dotyczące tłumaczenia, opracowania i rozpowszechniania nowych wydań niniejszego dokumentu należy kierować do Sekretariatu Eurachem. Tekst nie może być kopiowany do dalszej odsprzedaży.

SPIS TREŚCI

| | | |
|--------------|--|----|
| 1. | Wprowadzenie i zakres dokumentu | 5 |
| 2. | Normy dotyczące akredytacji laboratoriów mikrobiologicznych | 6 |
| 3. | Personel | 6 |
| 4. | Środowisko | 7 |
| | 4.1.Pomieszczenia..... | 7 |
| | 4.2.Monitorowanie środowiska | 8 |
| | 4.3.Higiena..... | 8 |
| 5. | Walidacja i weryfikacja metod badawczych..... | 9 |
| | 5.1.Dobór metod badawczych | 9 |
| | 5.2.Walidacja | 9 |
| | 5.3.Weryfikacja | 9 |
| 6. | Niepewność pomiaru..... | 10 |
| 7. | Wyposażenie – konserwacja, wzorcowanie i sprawdzanie parametrów | 11 |
| | 7.1.Konserwacja..... | 11 |
| | 7.2.Wzorcowanie i sprawdzanie parametrów | 11 |
| | 7.2.2.Wyposażenie do pomiaru temperatury | 11 |
| | 7.2.3.Cieplarki, łaźnie wodne, sterylizatory..... | 11 |
| | 7.2.4. Autoklawy wraz z urządzeniami do przygotowywania pożywek .. | 11 |
| | 7.2.5.Odważniki i wagi | 12 |
| | 7.2.6.Wyposażenie do pomiaru objętości | 12 |
| | 7.2.7.Termocyklery..... | 12 |
| | 7.2.8.Pozostałe wyposażenie | 12 |
| 8. | Odczynniki i pożywki..... | 13 |
| | 8.1.Odczynniki | 13 |
| | 8.2.Pożywki przygotowywane w laboratoriach | 13 |
| | 8.3.Pożywki gotowe..... | 13 |
| | 8.4.Znakowanie..... | 14 |
| 9. | Materiały odniesienia i kultury odniesienia | 15 |
| | 9.1. Materiały odniesienia | 15 |
| | 9.2.Kultury odniesienia | 15 |
| 10. | Pobieranie próbek | 16 |
| 11. | Postępowanie z próbkami i identyfikacja | 17 |
| 12. | Usuwanie zanieczyszczonych odpadów | 17 |
| 13. | Zapewnienie jakości wyników/kontrola jakości wykonania | 18 |
| | 13.1.Wewnętrzne sterowanie jakością | 18 |
| | 13.2.Zewnętrzna ocena jakości (badanie biegłości) | 18 |
| 14. | Sprawozdania z badań | 19 |
| | | |
| Załącznik A | Terminologia..... | 20 |
| Załącznik B | Ogólne zasady stosowania kultur odniesienia..... | 22 |
| Załącznik C | Wytyczne dotyczące wzorcowania i wzorcowań sprawdzających | 23 |
| Załącznik D | Wytyczne dotyczące walidacji wyposażenia i sprawdzania parametrów..... | 24 |
| Załącznik E | Wytyczne dotyczące konserwacji urządzeń..... | 26 |
| Bibliografia | | 27 |

1. Wprowadzenie i zakres dokumentu

1.1. Ogólne wymagania dla akredytacji podane są w normie międzynarodowej: *Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących* (ISO/IEC 17025 wyd.2., 2005), zwanej odtąd normą ISO/IEC 17025 [1]. Laboratoria zamierzające uzyskać akredytację, muszą spełniać wszystkie jej wymagania.

1.2. Niniejszy dokument dostarcza laboratoriom wykonującym badania mikrobiologiczne, odpowiednie informacje dotyczące spełnienia wymagań normy ISO/IEC 17025, podając szczegółowe wytyczne na temat takich wymagań dla podmiotów podejmujących badania materiałów, produktów i substancji. Niniejsze wytyczne dotyczą wykonywania wszystkich rodzajów pomiarów rutynowych, nierutynowych, lub w ramach badań i rozwoju. Mimo tego, że niniejsze wytyczne są napisane głównie z myślą o badaniach mikrobiologicznych żywności, wody i środowiska, ogólne zasady można zastosować do innych obszarów badań. Ponadto, mogą być one przydatne w laboratoriach medycznych, gdzie stosuje się normę ISO 15 189 [2] jak również w laboratoriach badawczo-rozwojowych. Norma ISO/IEC 17025 pozostaje wiążącym dokumentem, a w przypadkach spornych, jednostki akredytujące będą mieć głos rozstrzygający w odniesieniu do spraw nie rozwiązanych w niniejszym dokumencie. Zaleca się jednakże, aby zwrócić uwagę na dodatkowe wymagania dotyczące badań mikrobiologicznych w obszarze medycyny, t.j. wymagania dotyczące bezpieczeństwa, postępowania z próbkami, kwalifikacji personelu. Wytyczne zawarte w niniejszym dokumencie mogą być także przydatne dla podmiotów pracujących nad rejestracją w zakresie innych norm jakościowych takich jak Dobra Praktyka Laboratoryjna (GLP) [3], Dobra Praktyka Produkcyjna (GMP) [4] i Dobra Praktyka Kliniczna (GCP) [5].

1.3. Niniejszy dokument można traktować jako dokument zawierający wytyczne dla badań mikrobiologicznych zgodnie z Załącznikiem B normy ISO/IEC 17025, uwzględniającym wymagania Porozumienia o Wzajemnym Uznawaniu EA (EA MLA). Dokument został opracowany przez Eurachem we współpracy z Komitetem ds. Laboratoriów EA (EA LC) jako pomoc, ułatwiająca laboratoriom mikrobiologicznym spełnienie wymagań akredytacji poprzez lepsze zrozumienie postanowień zarówno norm dotyczących akredytacji jak i określonych norm branżowych tam gdzie mają zastosowanie.

1.4. Przyjmuje się, że badania mikrobiologiczne obejmują: badania jakości, wykrywanie, izolację, liczenie i identyfikację mikroorganizmów (wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki) oraz ich metabolitów w różnych substancjach i produktach, lub wszelkiego rodzaju próby wykorzystujące mikroorganizmy jako element systemów wykrywania, jak również wykorzystywania mikroorganizmów do badań ekologicznych. Wynika z tego, że niektóre wytyczne podane w niniejszym dokumencie, takie jak dotyczące środowiska laboratorium, będą wymagać stosownej interpretacji. Niniejszy dokument może także dostarczyć wytyczne dla laboratoriów posługujących się takimi technikami w dziedzinach pokrewnych mikrobiologii jak biochemia, biologia molekularna i hodowla tkanek, chociaż dla takich laboratoriów mogą istnieć dodatkowe wymagania.

1.5. Niniejszy dokument dotyczy jakości wyników badań, a nie odnosi się w szczególności do zagadnień zdrowia i bezpieczeństwa. Zaleca się jednakże, aby praktyka laboratoryjna była zgodna z krajowymi regulacjami dotyczącymi zdrowia i bezpieczeństwa. Warto zaznaczyć, że w niektórych przypadkach, zagadnienia dotyczące zdrowia i bezpieczeństwa mogą mieć wpływ na jakość badań, co laboratoria będą musiały wziąć pod uwagę. Niniejsza wersja dokumentu uwzględnia najnowsze trendy w mikrobiologii np. technikę PCR w Czasie Rzeczywistym (Reakcja Łańcuchowa Polimerazy – *Real -Time PCR*) stosowaną do wykrywania obecności mikroorganizmów. Metody molekularne odgrywają obecnie bardzo ważną rolę w analizach mikrobiologicznych, albo jako etapy potwierdzenia/identyfikacji, albo jako alternatywne metody wykrywania.

1.6. Definicje terminów stosowanych w dokumencie podano w Załączniku A.

2. Normy dotyczące akredytacji laboratoriów mikrobiologicznych

Główne normy stosowane w akredytacji laboratoriów

ISO/IEC 17025, Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących [1]

ISO 15189. Laboratoria medyczne – Wymagania dotyczące jakości i kompetencji [2]

Terminologia

ISO 9000, Systemy zarządzania jakością – Podstawy i terminologia [6]

Poradnik ISO/IEC 99:2010 Międzynarodowy słownik metrologii. Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM 3) (dostępny jako JCGM 200 na stronie www.bipm.org) [7]

Normy podstawowe

ISO 7218 - Mikrobiologia żywności i pasz – Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych [8]

ISO/TS 19036 - Mikrobiologia żywności i pasz - Wytyczne do szacowania niepewności pomiaru w metodach ilościowych (łącznie z poprawką 1: Niepewność pomiaru przy niskiej liczbie drobnoustrojów) [9]

ISO 29201 - Jakość wody – Zmienność wyników badań i niepewność pomiaru mikrobiologicznych metod oznaczania liczby drobnoustrojów [10]

ISO 8199 – Jakość wody – Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli [11]

Szczegółowa lista dokumentów do uwzględnienia znajduje się w pozycji Bibliografia.

3. Personel

ISO/IEC 17025, punkt 5.2.

3.1. Zaleca się, aby badania mikrobiologiczne były wykonywane lub nadzorowane przez osobę, posiadającą wyższe wykształcenie w dziedzinie mikrobiologii lub równoważne. Alternatywne kwalifikacje mogą spełniać te wymagania, jeśli pracownicy laboratorium posiadają odpowiednie duże doświadczenie związane z zakresem akredytacji. Zaleca się, aby personel posiadał odpowiednie doświadczenie praktyczne, zanim uzyska prawo wykonywania bez nadzoru pracy objętej zakresem akredytacji, lub zanim zostanie uznany za dostatecznie doświadczony do nadzorowania prac, podlegających akredytacji. Określone przepisy krajowe mogą nie uwzględniać wytycznych podanych w niniejszym dokumencie.

3.2. Jeżeli laboratorium włącza opinie i interpretacje wyników badań do sprawozdań, powinno to być wykonane przez upoważniony personel, posiadający właściwe doświadczenie i odpowiednią wiedzę dotyczącą określonego zastosowania, jak również prawnych i technologicznych wymagań oraz kryteriów akceptowalności wyników.

3.3. Kierownictwo laboratorium powinno zapewnić, aby cały personel otrzymał właściwe szkolenie w zakresie kompetentnego przeprowadzania badań i obsługi wyposażenia. Zaleca się, aby program obejmował szkolenie w zakresie podstawowych technik, np. zalewanie płytek, liczenie kolonii, techniki aseptyczne itp. oraz sprawdzian dopuszczalności do przeprowadzania badań w oparciu o obiektywne kryteria. Personel może wykonywać badania na próbkach tylko wtedy, kiedy zostanie uznane, że posiada on odpowiednie do tego kompetencje, albo gdy będzie wykonywać te prace pod odpowiednim nadzorem. Zaleca się stałe obiektywne monitorowanie kompetencji personelu, z przewidzianym ponownym przeszkoleniem w razie konieczności. W przypadku, kiedy określona metoda lub technika nie jest stale stosowana, może zachodzić konieczność sprawdzenia kwalifikacji personelu przed przeprowadzeniem badań. Zaleca się ustalenie i udokumentowanie dopuszczalnego odstępu czasu pomiędzy wykonywaniem badań. Interpretacja wyników badań pod kątem identyfikacji i weryfikacji mikroorganizmów jest ściśle powiązana z doświadczeniem każdego z wykonujących analityków i zaleca się regularne monitorowanie każdego z nich.

3.4. W niektórych przypadkach bardziej właściwe może być odwołanie się do konkretnej techniki lub urządzenia, niż do metod.

3.5. Kompetencje personelu do wykonywania badań powinny być udokumentowane w odniesieniu do wyników wewnętrznej i zewnętrznej kontroli jakości. Zaleca się, aby skuteczność programu szkoleniowego jak również identyfikacja dalszych potrzeb szkoleniowych była oceniana na podstawie tych wyników.

4. Środowisko

ISO/IEC 17025, punkt 5.3.

Patrz także ISO 7218 [8] punkt 3.

4.1. Pomieszczenia

4.1.1. Typowe laboratorium mikrobiologiczne składa się z pomieszczeń badawczych (tam gdzie wykonuje się określone badania mikrobiologiczne i związane z nimi czynności) oraz pomieszczeń pomocniczych (wejścia, korytarze, pomieszczenia administracyjne, szatnie i toalety, magazyny, archiwa itp.). Ogólnie mówiąc, istnieją określone wymagania środowiskowe dotyczące warunków przeprowadzania badań. Zaleca się, aby zależnie od rodzaju przeprowadzanych badań, ograniczyć dostęp do laboratoriów mikrobiologicznych tylko dla uprawnionego personelu. Tam gdzie takie ograniczenia obowiązują, zaleca się poinformowanie personelu o:

- zamierzonym przeznaczeniu danego obszaru;
- ograniczeniach obowiązujących podczas pracy w takim obszarze;
- przyczynach wprowadzenia takich ograniczeń;
- właściwych stopniach izolacji.

4.1.2. Zaleca się, aby laboratorium było zorganizowane tak, aby zminimalizować ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego, tam gdzie jest ono istotne dla rodzaju przeprowadzanych badań. Cele te można osiągnąć, na przykład, w następujący sposób:

- budowa laboratorium zgodnie z zasadą „drogi jednokierunkowej”;
- wykonywanie procedur w określonej sekwencji z zachowaniem odpowiednich środków ostrożności, zapewniających integralność badań i próbek (np. stosowanie szczelnie zamykanych pojemników)
- rozdzielenie wykonywanych czynności w czasie lub przestrzeni

4.1.3. Powszechnie uważa się, że dobrą praktyką jest posiadanie odrębnych pomieszczeń lub wyraźnie oznaczonych obszarów, przeznaczonych do:

- przyjmowania i przechowywania próbek;
- przygotowywania próbek (np. zaleca się wykorzystywanie wydzielonego miejsca do przygotowywania próbek produktów sproszkowanych, prawdopodobnie silnie zanieczyszczonych);
- badania próbek, w tym inkubacji;
- utrzymywania kultur odniesienia;
- postępowania z przypuszczalnie chorobotwórczymi bakteriami (patogenami);
- przechowywania pożywek i odczynników;
- przygotowania pożywek i sprzętu wraz z ich sterylizacją;
- oceny jałowości;
- odkażania;

- mycia szkła i innego wyposażenia;
- przechowywania niebezpiecznych środków chemicznych.

Zmywalnie (po odkażeniu) można łączyć z innymi częściami laboratorium pod warunkiem zachowania niezbędnych środków ostrożności, zapobiegających przenoszeniu śladowych ilości substancji, które mogłyby ujemnie wpłynąć na wzrost drobnoustrojów. Zaleca się ocenienie potrzeby fizycznego oddzielenia obszarów, biorąc pod uwagę czynności specyficzne dla danego laboratorium (np. liczba i rodzaj przeprowadzanych badań).

Zaleca się, aby nie stosować praktyki przemieszczania wyposażenia laboratoryjnego pomiędzy obszarami pracy, aby uniknąć przypadkowego zanieczyszczenia krzyżowego.

Zaleca się, aby w laboratorium biologii molekularnej, w każdym z obszarów pracy (t.j. w obszarach roboczych o niskim- średnim- wysokim obciążeniu DNA) stosować - tylko dla tego obszaru - pipety, końcówki, wirówki, probówki, odpowiednią odzież ochronną, bloki grzejne itp. Zaleca się, aby tam gdzie przygotowuje się primery i sondy do przeprowadzania reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR), zapewnić odpowiednie oddzielenie przestrzeni do wykonywania tych zadań, tak aby zminimalizować zanieczyszczenia krzyżowe DNA. Zaleca się, aby amplifikacja DNA była przeprowadzana w przeznaczony do tego części laboratorium.

4.1.4. Zaleca się, aby przestrzeń robocza była dostatecznie duża i utrzymywana w czystości i porządku. Zaleca się, aby wymagana przestrzeń była proporcjonalna do ilości przeprowadzanych analiz oraz ogólnej wewnętrznej organizacji laboratorium. Zaleca się, aby przestrzeń ta spełniała wymagania, określone w przepisach krajowych, o ile takowe istnieją.

4.1.5. Zaleca się, aby pracownice posiadały odpowiednią wentylację i temperaturę. Można to zapewnić poprzez wentylację naturalną lub wymuszoną, albo przez zastosowanie urządzeń klimatyzacyjnych. W przypadku stosowania urządzeń klimatyzacyjnych, zaleca się stosowanie odpowiedniego typu filtrów, które będą podlegać kontroli, konserwacji i wymianie zgodnie z rodzajami wykonywanej pracy. Nie zaleca się systemu naturalnej wentylacji w czystych pomieszczeniach lub w pracowniach, gdzie pracuje się z bakteriami chorobotwórczymi

4.1.6. Zanieczyszczenie można ograniczyć poprzez:

- stosowanie gładkich powierzchni ścian, sufitów i podłóg oraz stołów (gładkość powierzchni ocenia się na podstawie łatwości jej mycia). Nie zaleca się płytek ceramicznych jako materiału do pokrycia blatów stołów;

- połączenia wklęsłe (przejścia łukiem – przypis PCA) pomiędzy podłogą, ścianami i sufitem;
- minimalizację otwierania okien i drzwi podczas przeprowadzania badań;
- instalację urządzeń chroniących przed promieniowaniem słonecznym na zewnątrz okien;
- łatwy dostęp do wewnętrznych urządzeń chroniących przed promieniowaniem słonecznym, w celu ich umycia, jeśli nie ma możliwości zamocowania ich na zewnątrz okien;
- nie umieszczanie rur instalacji wodno-kanalizacyjnej ponad powierzchniami roboczymi chyba, że znajdują się one w hermetycznej obudowie;
- zabezpieczenie wlotów powietrza do systemów wentylacyjnych filtrami przeciwpyłowymi;
- odrębne stanowiska do mycia rąk; najlepiej nie sterowane ręcznie;
- zawieszanie szafek tak, aby sięgały do sufitu;
- niestosowanie nieobrobionego, surowego drewna;
- odpowiednio pokryte drewniane powierzchnie zabudowy i wyposażenia;
- zorganizowanie przechowywania sprzętu i urządzeń w sposób ułatwiający czyszczenie;
- nieużywanie mebli, dokumentów lub żadnych innych rzeczy poza absolutnie niezbędnymi do przeprowadzenia badań.

Powyższa lista nie jest kompletna i nie wszystkie przykłady stosują się do każdej sytuacji. Zaleca się, aby sufity posiadały gładką powierzchnię, z oświetleniem zamontowanym w równej linii z sufitem, co byłoby optymalnym rozwiązaniem. Gdy nie jest to możliwe (jak w przypadku podwieszanych sufitów i lamp wiszących), zaleca się, aby laboratorium posiadało udokumentowane dowody, potwierdzające, że nadzoruje wynikające z tego tytułu zagrożenia dla higieny, oraz posiada skuteczne środki pozwalające na ich opanowanie np. program czyszczenia i kontroli powierzchni.

4.1.7. W przypadku, gdy laboratorium jest zlokalizowane na terenie obiektu produkcyjnego, personel musi być świadomy możliwości zanieczyszczenia obszarów produkcyjnych; zaleca się wykazanie, że podjęto odpowiednie środki zapobiegające takim zdarzeniom.

4.1.8. Przy przygotowywaniu pramerów i sond do analizy PCR zaleca się, aby było zapewnione odpowiednie oddzielenie przestrzeni do wykonywania tych prac, co zminimalizuje zanieczyszczenie krzyżowe DNA. Zaleca się, aby amplifikacja DNA była przeprowadzana w przeznaczonych do tego części laboratoriów, w pomieszczeniu z nadciśnieniem.

4.1.9. Pomieszczenia z podciśnieniem wymagane są przy pracach z mikroorganizmami o wysokim stopniu ryzyka.

4.2. Monitorowanie środowiska

4.2.1. Należy opracować odpowiedni program monitorowania środowiska, uwzględniający, na przykład, częste stosowanie płytek w metodzie sedymentacyjnej do oznaczania zanieczyszczeń bakteriami i grzybami, jak również przeprowadzanie okresowych wymazów z powierzchni dla oznaczenia różnych istotnych mikroorganizmów, szczególnie bakterii chorobotwórczych. Zaleca się ustalenie dopuszczalnego poziomu tła oraz prowadzenie udokumentowanej procedury dotyczącej postępowania w sytuacjach przekroczenia tych poziomów. Zaleca się, aby analiza danych umożliwiała określenie trendów w zakresie poziomów zanieczyszczenia.

4.2.2. W przypadku gdy stosowane są techniki molekularne, zaleca się monitorowanie zanieczyszczeń DNA, przy zastosowaniu do reakcji kontroli ujemnej bez matrycowego DNA (No Template Control).

4.3. Higiena

4.3.1. W laboratorium powinien istnieć udokumentowany program czyszczenia sprzętu, wyposażenia i powierzchni. Zaleca się, aby program ten uwzględniał wyniki monitorowania środowiska i możliwość wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego. Zaleca się opracowanie procedury postępowania z wyciekami materiałów biologicznych.

4.3.2. Zaleca się podjęcie środków zapobiegających gromadzeniu się kurzu, poprzez zapewnienie wystarczającej powierzchni magazynowej, minimalizację pracy z dokumentacją papierową w laboratorium oraz zakaz posiadania roślin i rzeczy osobistych w obszarze roboczym laboratorium.

4.3.3. Zaleca się noszenie odzieży odpowiedniej do rodzaju wykonywanych badań (uwzględniając, w miarę potrzeby, ochronę włosów, brody, rąk, obuwia itp.) oraz zdejmowania odzieży przed opuszczeniem obszaru laboratorium. Jest to szczególnie ważne w przypadku laboratoriów biologii molekularnej, gdzie np. przemieszczanie się z obszaru o wysokim obciążeniu DNA do obszaru o niskim obciążeniu DNA może mimowolnie spowodować zanieczyszczenie krzyżowe. W wielu laboratoriach przy przechodzeniu z jednego obszaru do drugiego może wystarczyć zmiana zwykłego fartucha laboratoryjnego.

4.3.4. Zaleca się zapewnienie odpowiednich urządzeń do mycia rąk oraz posiadanie procedury odnośnie właściwego używania rękawiczek ochronnych w laboratorium, aby uniknąć rozprzestrzeniania się mikroorganizmów.

5. Walidacja i weryfikacja metod badawczych

ISO/IEC 17025, punkt 5.4.5

Patrz także ISO/TS 12869 [12], ISO 7218 [8], ISO 17994 [13], ISO/TR 13843 [14], ISO 16 140 [15].

5.1. Dobór metod badawczych

W każdym przypadku, laboratorium powinno stosować odpowiednie metody badawcze, pozwalające na spełnienie określonych potrzeb. W tym celu, najlepiej stosować metody znormalizowane tj. opublikowane w normach międzynarodowych, regionalnych lub krajowych, albo w podręcznikach naukowych, albo publikowanych przez szeroko uznane i cenione organizacje. Metody niniejsze są zazwyczaj zwalidowane. Jednakże można stosować inne metody, pod warunkiem, że zostaną one zwalidowane w danym laboratorium zgodnie z opisem w punkcie 5.2.1 i 5.2.2. Jest to przypadek metod zaprojektowanych/opracowanych w laboratorium i metod podanych w normach, stosowanych poza ich zamierzonym zakresem i zmodyfikowanych w taki sposób, że należy założyć ich wpływ na wyniki badań. Ponadto, w każdym przypadku, szczegółowa procedura, która ma być wykonywana, różni się w zależności od rodzaju metody tj. jakościowej, pół-ilościowej i ilościowej. Zastosowana metoda/technika określi aspekty walidacji, które mają być wzięte pod uwagę.

W uzyskaniu danych dotyczących walidacji metody, mogą być pomocne następujące normy: ISO/TR 13843, ISO 16140 i ISO 17994.

5.2. Walidacja

Zaleca się, aby walidacja metod badań mikrobiologicznych odzwierciedlała rzeczywiste warunki badania. Można to osiągnąć stosując produkty naturalnie zanieczyszczone lub produkty sztucznie zanieczyszczone wstępnie określoną liczbą mikroorganizmów. Zaleca się, aby analityk miał świadomość, że dodanie do matrycy mikroorganizmów zanieczyszczających imituje jedynie w sztuczny sposób obecność naturalnie występujących zanieczyszczeń. Tym niemniej jest to często najlepsze i jedyne dostępne rozwiązanie. Zakres koniecznej walidacji zależy i tak od metody i zastosowania. Laboratorium powinno wykonywać walidację metod znormalizowanych, gdy stosuje się matryce, nie wyszczególnione w znormalizowanej procedurze.

5.2.1. Zaleca się, aby jakościowe mikrobiologiczne metody badawcze, takie w których wynik wyraża się jako wykryto/nie wykryto, oraz procedury potwierdzenia/identyfikacji były walidowane poprzez określenie, w stosownych przypadkach, specyficzności, czułości, względnej poprawności, odchylenia dodatniego, odchylenia ujemnego, granicy wykrywalności, efektu wpływu

matrycy, powtarzalności i odtwarzalności (patrz: Załącznik A – Terminologia).

5.2.2. W przypadku ilościowych metod badań mikrobiologicznych, zaleca się, i jeśli to konieczne, uwzględnienie specyficzności, czułości, względnej poprawności, odchylenia dodatniego, odchylenia ujemnego, powtarzalności, odtwarzalności i granicy oznaczalności ilościowej w zakresie określonej zmienności oraz, w stosownych przypadkach, określenia wyniku ilościowego. Podczas badania różnych rodzajów próbek, należy wziąć pod uwagę różnice powodowane przez rodzaj matrycy. Zaleca się oceniać wyniki przy zastosowaniu odpowiednich metod statystycznych.

5.2.3. Laboratoria powinny zachowywać dane z walidacji stosowanych w laboratorium systemów testowych (zestawy) dostępnych w handlu. Powyższe dane z walidacji można uzyskać poprzez badania międzylaboratoryjne, oraz z danych z walidacji, przedstawianych przez producentów i poddawanych ocenie strony trzeciej (np. AFNOR, NordVal, Microval, AOAC). Jeżeli dane z walidacji nie są dostępne lub nie znajdują w pełni przewidywanego zastosowania, laboratorium ponosi odpowiedzialność za uzupełnienie walidacji metody.

5.2.4. Jeśli wymaga się, aby zmodyfikowana wersja metody spełniała taką samą specyfikację jak jej oryginalna wersja, to wówczas zmodyfikowana metoda musi być zwalidowana dla tych parametrów, na które prawdopodobnie modyfikacja ma wpływ. Układ doświadczenia i analiza wyników muszą być statystycznie poprawne.

5.2.5. Nawet kiedy walidacja zostanie zakończona, może okazać się, że przeprowadzenie dalszych odpowiednich sprawdzeń jest potrzebne (np. kiedy ma miejsce zmiana czynników krytycznych) aby potwierdzić, że udokumentowane wyniki są nadal osiągane. Można to uzyskać poprzez zastosowanie sztucznie zanieczyszczonych próbek lub materiałów odniesienia, uwzględniając odpowiednie matryce.

5.3. Weryfikacja

W przypadku stosowania znormalizowanych i zwalidowanych metod, jest wciąż wymagane od laboratorium, aby udowodniło, że może je wykonywać w wiarygodny sposób. Nazywa się to weryfikacją – patrz dalej „Terminologia Eurachem w Pomiarach Analitycznych”. W celu weryfikacji metod ilościowych, laboratorium musi, w większości przypadków, określić powtarzalność, niepewność pomiaru (patrz punkt 6) oraz granicę oznaczalności, a dla metod jakościowych – granicę wykrywalności.

6. Niepewność pomiaru

ISO/IEC 17025, punkt 5.4.6

Patrz także ISO/TS 19036 [9], EA-4/16 [16], ISO 29201 [10] i HPA (UK) QSOP4 [17]

6.1. Międzynarodową definicję niepewności pomiaru podaje Międzynarodowy Słownik Podstawowych i Ogólnych Terminów Metrologii ISO (VIM 3) [7], a ogólna koncepcja niepewności zawarta jest w Przewodniku Eurachem [28]. Obie normy: ISO/IEC 7025 i ISO 15 189 stwierdzają potrzebę szacowania przez laboratoria niepewności pomiaru, biorąc pod uwagę wszystkie składniki, które mogą wpływać na jej wynik. Niepewność pomiaru można określić tylko dla wyników metod ilościowych. Ogólne podejście do oceny i wyrażania niepewności pomiaru w mikrobiologicznych badaniach żywności i wody oparto na normie ISO/TS 19036 (dla żywności) lub ISO 29201 i HPA (UK) QSOP4 (dla wody). Norma ISO 29201 ma bardziej uniwersalny charakter, obejmuje wyniki dotyczące liczby kolonii jak i Najbardziej Prawdopodobnej Liczby (NPL) oraz dwa różne podejścia do szacowania niepewności (podejście uwzględniające poszczególne składniki i podejście globalne), które można stosować do różnych matryc.

6.2. Badania mikrobiologiczne należą, ogólnie biorąc, do kategorii, która wyklucza stosowanie ścisłego metrologicznie i statystycznie uzasadnionego obliczania pomiaru niepewności zgodnie z opisem w Przewodniku ISO odnośnie wyrażania niepewności pomiaru [18]. Ogólnie przyjmuje się, że szacowanie niepewności pomiaru oparte jest na danych powtarzalności i pośredniej precyzji (odtworzalność w obrębie laboratorium). Zaleca się zidentyfikowanie poszczególnych składników niepewności i wykazanie, że są one nadzorowane, a ich wpływ na zmienność wyników został oceniony. Niektóre składniki (np. efekty pipetowania, ważenia, rozcieńczania i ciepłarki) można łatwo zmierzyć i łatwo ocenić dla wykazania ich niewielkiego wpływu na ogólną niepewność pomiaru. Inne składniki (np. stabilność próbki i przygotowanie próbki) nie dają się bezpośrednio zmierzyć, a ich wpływu nie można ocenić w sposób statystyczny, ale zaleca się uwzględniać ich znaczenie dla zmienności wyników.

6.3. Oczekuje się, że akredytowane laboratoria, prowadzące badania mikrobiologiczne będą posiadać wiedzę na temat rozkładu mikroorganizmów w badanych matrycach, oraz wezmą to pod uwagę, kiedy przy przygotowywaniu podpróbek będą przestrzegać dobrej praktyki laboratoryjnej i /lub wymagania przepisów, tam gdzie się to stosuje. Nie zawsze jest praktyczne włączenie niniejszego składnika niepewności pomiaru do oszacowań, chyba, że potrzeby klienta tego wymagają.

Podstawowe przyczyny takiego podejścia są następujące:

- niepewność z powodu rozkładu mikroorganizmów w matrycy nie jest zależna od działania laboratorium i może być właściwa dla poszczególnych badanych próbek
- **zaleca się, aby w metodach badawczych określać wielkość badanej próbki**, uwzględniając jej niejednorodność.

6.4. Pojęcia niepewności pomiaru nie można stosować bezpośrednio do wyników badań jakościowych takich jak badanie obecności lub określanie cech w celu identyfikacji. Tym niemniej, zaleca się, aby zidentyfikować poszczególne źródła zmienności np. stałość reakcji odczynnika i interpretacja analityka, oraz wykazać, że są one nadzorowane. Ponadto, dla badań, w których granica wykrywalności jest istotnym wskaźnikiem decydującym o przydatności, zaleca się, aby niepewność pomiaru związana z inokulum stosowanym do określania tej granicy była oszacowana, a jej znaczenie ocenione. Zaleca się, aby laboratoria były także świadome możliwości wystąpienia wyników fałszywie dodatnich i fałszywie ujemnych, związanych ze stosowaniem przez nie metod jakościowych.

6.5. W przypadku laboratoriów mikrobiologicznych wykonujących badania z zakresu biologii molekularnej do wykrywania i ilościowego oznaczania genetycznie modyfikowanych organizmów (GMO), niepewność pomiaru szacuje się zgodnie z Wytocznymi EUR 22756 EN JRC/RMM [19].

7. Wyposażenie – konserwacja, wzorcowanie i sprawdzanie parametrów

ISO/IEC 17025, punkt 5.5

Patrz także ISO 7218 [8], punkt 5 i ILAC P 10 [20]

7.1. Konserwacja

7.1.1. Konserwacja podstawowego wyposażenia powinna być przeprowadzana w określonych odstępach czasu, wynikających z takich czynników jak częstotliwość użytkowania. Należy przechowywać szczegółowe zapisy. Przykłady konserwacji wyposażenia podano w Załączniku E.

7.1.2. Zaleca się zwrócenie uwagi na unikanie zanieczyszczeń krzyżowych, pochodzących z wyposażenia, na przykład:

- sprzęt jednorazowego użytku powinien być czysty i jałowy, gdy to niezbędne;
- szkło laboratoryjne wielokrotnego użytku powinno być czyszczone i sterylizowane, gdy to niezbędne;
- optymalnym rozwiązaniem byłoby, gdyby laboratorium posiadało oddzielny autoklaw do odkażania. Tym niemniej, stosowanie tylko jednego autoklawu jest do przyjęcia tylko pod warunkiem podjęcia odpowiednich środków ostrożności w celu oddzielenia czynności odkażania i sterylizacji, oraz posiadania udokumentowanego programu czyszczenia, obejmującego środowisko wewnętrzne i zewnętrzne autoklawu.

7.1.3. Następujące rodzaje wyposażenia konserwuje się zazwyczaj poprzez czyszczenie i serwisowanie, sprawdzanie pod kątem wystąpienia uszkodzeń, ogólną weryfikację przydatności oraz – tam gdzie istotne – sterylizację:

- wyposażenie ogólnego zastosowania – urządzenia filtracyjne, pojemniki ze szkła lub z tworzywa sztucznego (butelki, probówki), szklane lub plastikowe płytki Petriego, urządzenia do pobierania próbek, druciki lub ezy (platynowe, niklowo-chromowe lub z tworzywa sztucznego, jednorazowego użytku);
- łaźnie wodne, cieplarki, komory mikrobiologiczne (z laminarnym przepływem i komory bezpieczeństwa), autoklawy, homogenizatory, lodówki, zamrażarki;
- urządzenia do pomiarów objętości – pipety, automatyczne dozowniki, aparaty do posiewu spiralnego;
- wyposażenie pomiarowe: termometry, mierniki czasu, wagi, pH-metry, liczniki kolonii.

7.2. Wzorcowanie i sprawdzanie parametrów

7.2.1. Laboratorium musi utworzyć program wzorcowania i sprawdzania parametrów wyposażenia, które ma bezpośredni wpływ na wyniki badań. Częstotliwość takiego wzorcowania i sprawdzania parametrów będzie określana na

podstawie udokumentowanego doświadczenia i będzie wynikać z potrzeby, rodzaju i wcześniejszej pracy urządzenia. Odstępy czasu pomiędzy wzorcowaniem a sprawdzaniem parametrów powinny być krótsze niż czas jaki upłynąłby do chwili stwierdzenia, że odchylenia parametrów i wskazań wyposażenia przekroczyły dopuszczalne granice. Przykłady odstępów czasu pomiędzy wzorcowaniem i typowymi sprawdzianami działania różnego wyposażenia laboratorium podano w Załączniku C i Załączniku D.

7.2.2. Wyposażenie do pomiaru temperatury

(a) W przypadkach, gdy temperatura ma bezpośredni wpływ na wynik analizy lub ma zasadnicze znaczenie dla prawidłowej pracy wyposażenia, przyrządy do pomiaru temperatury (na przykład, termopary i platynowe termometry oporowe (PRT), stosowane w cieplarkach i autoklawach) powinny być takiej jakości, aby osiągnąć wymaganą dokładność. Byłoby najlepiej, aby ze względów zdrowotnych i bezpieczeństwa, nie stosować w laboratorium szklanych termometrów cieczowych, z rtęcią i z toluenem.

(b) Wzorcowanie wyposażenia powinno zapewniać spójność pomiarową z krajowymi lub międzynarodowymi wzorcami jednostek miar temperatury. Jednakże, jeśli wymagania dotyczące dokładności na to pozwalają, można także korzystać z urządzeń pomiarowych, których zgodność można wykazać z odpowiednimi specyfikacjami producenta, akceptowanymi na poziomie krajowym lub międzynarodowym. Wyposażenie takie można stosować np. do monitorowania temperatury w lodówkach do przechowywania i w zamrażarkach, a także w cieplarkach i łaźniach wodnych, tam gdzie na to pozwala dopuszczalna tolerancja w pobliżu docelowej temperatury. Niezbędne jest sprawdzenie parametrów tego rodzaju wyposażenia.

7.2.3. Cieplarki, łaźnie wodne, sterylizatory

Przed rozpoczęciem użytkowania, należy ustalić stabilność temperatury, jednorodność rozkładu temperatury i czas wymagany do osiągnięcia warunków równowagi w cieplarkach, łaźniach wodnych, sterylizatorach i pomieszczeniach o kontrolowanej temperaturze, a następnie, przeprowadzać te czynności okresowo, z udokumentowaną częstotliwością, w szczególności w odniesieniu do typowych zastosowań (na przykład, ułożenie, odstęp i wysokość stosów płytek Petriego). Stałość tych właściwości zapisanych podczas walidacji wstępnej wyposażenia, należy kontrolować i zapisywać po każdej poważniejszej naprawie lub modyfikacji. Laboratoria powinny codziennie monitorować temperaturę pracy tego typu wyposażenia i przechowywać stosowne zapisy.

7.2.4. Autoklawy, wraz z urządzeniami do przygotowywania pożywek

Poniżej przedstawiono ogólnie zaakceptowane podejście do wzorcowania, oraz ustalania i monitorowania działania urządzeń. Tym nie mniej, uznaje się, że ilościowe oznaczanie drobnoustrojów w badanym materiale i sprzęcie, poddanym sterylizacji w autoklawie może także stanowić równoważne zapewnienie jakości.

(a) Zaleca się, aby autoklawy były zdolne do zapewnienia określonych tolerancji czasu i temperatury. Autoklawy wyposażone tylko w miernik ciśnienia są niedopuszczalne. Czujniki służące do nadzorowania lub monitorowania cykli pracy wymagają wzorcowania oraz zaleca się weryfikację parametrów regulatorów czasu.

(b) Przed rozpoczęciem użytkowania autoklawu zaleca się, aby walidacja wstępna obejmowała badanie parametrów działania (badanie przestrzennego rozkładu temperatur) dla każdego cyklu pracy i dla każdej konfiguracji wsadu, stosowanych w praktyce. Proces ten musi być powtarzany po poważniejszych naprawach lub modyfikacjach (np. wymiana sondy termoregulatora lub wymiana programatora, zmiana sposobu ułożenia wsadu, lub modyfikacja cyklu pracy) lub gdy wskazują na to wyniki kontroli jakości pożywek. Zaleca się umieszczenie we wsadzie dostatecznej ilości czujników temperatury np. w pojemnikach wypełnionych płynem/pożywką), aby umożliwić wykazanie różnic temperatury zależnie od miejsca. W przypadku urządzeń do przygotowywania pożywek, tam gdzie nie można wykazać jednorodnego ogrzewania innymi sposobami, uważa się powszechnie za właściwe zastosowanie dwóch czujników, jednego przy sondzie kontrolnej, a drugiego w dalszej odległości od tej sondy. Zaleca się, aby walidacja i re-walidacja uwzględniała, czy są zachowane odpowiednie czasy: osiągnięcia temperatury sterylizacji, utrzymywania temperatury sterylizacji i temperatury stygnięcia.

(c) Zaleca się również zapewnienie jasnej instrukcji obsługi, opracowanej na podstawie charakterystyk grzania, określonych dla typowych zastosowań podczas walidacji/re-walidacji. Zaleca się ustalenie kryteriów przyjęcia/odrzućenia oraz prowadzenie zapisów pracy autoklawu, w tym temperatury i czasu każdego cyklu pracy.

(d) Monitorowanie można realizować jedną z poniższych metod:

- (i) zastosowanie termopary i rejestratora do sporządzania wykresu lub wydruku;
- (ii) bezpośrednia obserwacja oraz rejestrowanie maksymalnej osiągniętej temperatury i czasu utrzymywania tej temperatury.

Ponadto, oprócz bezpośredniego monitorowania temperatury w autoklawie, skuteczność jego pracy podczas każdego cyklu, można sprawdzać za pomocą chemicznych lub biologicznych wskaźników sterylizacji / odkażania.

Zaleca się, aby taśma lub paski wskaźnikowe do autoklawu były używane tylko do pokazania, że wsad został poddany procesowi, a nie do potwierdzenia prawidłowego cyklu pracy.

7.2.5. Odważniki i wagi

Odważniki i wagi należy wzorcować z zapewnieniem spójności pomiarowej, w regularnych odstępach czasu (zależnie od ich przeznaczenia).

7.2.6. Wyposażenie do pomiarów objętości

(a) W laboratorium mikrobiologicznym można stosować wyposażenie do pomiaru objętości, takie jak automatyczne dozowniki, dozowniki / rozcieńczalniki, ręczne pipety automatyczne i pipety jednorazowego użytku. Zaleca się, aby przez rozpoczęciem użytkowania, laboratoria przeprowadzały wstępne sprawdzenia przyrządów do badania objętości, a następnie dokonywały regularnych sprawdzeń w celu zapewnienia, że urządzenia te działają zgodnie z określonymi wymaganiami. Sprawdzanie nie jest konieczne dla naczyń szklanych, które posiadają certyfikat określający ich tolerancję dokładności. Zaleca się, aby sprawdzać wyposażenie pod kątem dokładności pomiaru uzyskanej objętości w stosunku do objętości zadanej (przy kilku różnych ustawieniach w przypadku sprzętu o zmiennej objętości) oraz precyzji powtórzeń uzyskiwanych objętości.

(b) W przypadku sprzętu jednorazowego użytku, służących do pomiaru objętości, zaleca się, aby laboratoria nabywały je od firm, posiadających uznany i odpowiedni system jakości. Zaleca się, aby po walidacji wstępnej tego sprzętu, przeprowadzać losowe sprawdzenia dokładności. Zaleca się, aby laboratoria sprawdzały przydatność każdej partii sprzętu w przypadku, gdy dostawca nie posiada uznanego systemu jakości.

7.2.7. Termocyklery

Zaleca się, aby laboratoria przeprowadzały okresową weryfikację temperatur, szybkości narastania temperatury i przekraczania / nieosiągania temperatury i czasu przetrzymywania w określonej temperaturze.

7.2.8. Pozostałe wyposażenie

Zaleca się, aby przed użyciem sprawdzać regularnie lub każdorazowo: mierniki przewodności, tlenomierze, pehametry i inne podobne urządzenia. Zaleca się, aby bufony stosowane dla celów sprawdzeń były przechowywane w odpowiednich warunkach i znakowane datą ważności. Zaleca się, aby w przypadkach, gdzie wilgotność ma znaczenie dla wyników badań, higrometry były wzorcowane, a wzorcowanie zapewniało spójność pomiarową z normami krajowymi lub międzynarodowymi. Zaleca się, aby mierniki czasu, w tym regulatory czasu w autoklawach były sprawdzane przy użyciu wzorcowanego miernika czasu lub krajowego sygnału czasu. Jeżeli w procedurach badawczych stosuje się wirówki, zaleca się dokonanie oceny

znaczenia siły odśrodkowej dla jakości wyniku badania,. Tam gdzie jest to istotne, wirówka wymaga wzorcowania.

8. Odczynniki i pożywki

ISO/IEC 17025, punkt 4.6 i 5.5

Patrz także ISO/TS 11133 – 1 [21] i ISO/TS 11133 2 [22].

8.1. Odczynniki

Zaleca się, aby laboratoria zagwarantowały, że stosowane odczynniki są odpowiedniej jakości. Zaleca się, aby przed pierwszym zastosowaniem, oraz przez cały czas przydatności do użycia, sprawdzano przydatność każdej partii odczynników, mających kluczowe znaczenie dla badania, stosując dodatnie i ujemne organizmy kontrolne, które są spójne z uznanymi krajowymi lub międzynarodowymi kolekcjami kultur.

8.2. Pożywki przygotowywane w laboratoriach

8.2.1. Tam gdzie to istotne, zaleca się sprawdzanie odpowiedniej jakości pożywek, rozcieńczalników i innych zawiesin przygotowywanych w laboratorium, pod kątem:

- odzysku lub przeżywalności mikroorganizmów docelowych;
- hamowania rozwoju lub eliminowania niepożądanych mikroorganizmów;
- właściwości biochemicznych (różnicujących i diagnostycznych);
- właściwości fizycznych (np. pH, objętość, jałowość)

Zaleca się stosowanie ilościowych procedur oceny odzysku lub przeżywalności mikroorganizmów zgodnie z normą ISO 11133.

8.2.2. Zaleca się, aby surowce (zarówno dostępne w handlu w postaci suchej jak i poszczególne składniki) były przechowywane w odpowiednich warunkach np. w pomieszczeniach chłodnych, suchych i ciemnych. Zaleca się, aby wszystkie pojemniki, szczególnie na pożywki suche, były szczelnie zamykane. Nie zaleca się stosowania suchych pożywek, które uległy zlepianiu lub zbryleniu, lub wykazują zmiany barwy. O ile metoda badawcza nie stanowi inaczej, do przygotowywania pożywek zaleca się stosowanie destylowanej, dejonizowanej wody lub wody uzyskanej z procesu odwróconej osmozy, wolnej od substancji bakteriobójczych, hamujących lub zakłócających.

8.2.3. Należy określić i sprawdzić termin przydatności pożywek przygotowanych do stosowania, przechowywanych w określonych warunkach.

8.3. Pożywki gotowe

8.3.1. Wszystkie pożywki, w tym rozcieńczalniki i inne zawiesiny nabyte w postaci gotowej do stosowania lub częściowo gotowe, wymagają także sprawdzenia przed stosowaniem zgodnie z punktem 8.2.1. Zaleca się, aby ocena odzysku lub przeżywalności pożądanym organizmów oraz hamowania wzrostu lub eliminowania niepożądanych organizmów była w pełni ilościowa. Zaleca się oceniać cechy (np. właściwości fizyczne i biochemiczne) przy zastosowaniu obiektywnych kryteriów.

8.3.2. W przypadku, gdy producent dostarczanych gotowych lub częściowo przygotowanych pożywek posiada uznany system jakości (tj. seria ISO 9000) a pożywki są kontrolowane pod kątem jakości zgodnie z ISO 11133, zachodzi potrzeba przeglądu istotnych informacji (certyfikatów) pod kątem ich akceptowalności, ale nie ma potrzeby powtórnej kontroli jakości. Kontrola wykonywana przez laboratorium – użytkownika może tylko obejmować wstępną kontrolę dla każdego nowego producenta, oraz pośrednią ocenę poprzez wewnętrzne procedury kontroli jakości. W innych okolicznościach, kontrola jakości zgodnie z ISO 11133 musi być w pełni przeprowadzona dla każdej otrzymanej partii.

8.3.3. W trakcie oceny działania, laboratorium-użytkownik powinno posiadać dostateczną znajomość systemu jakości producenta, w tym przynajmniej następujących elementów:

- nazwa pożywki i wykaz składników wraz z ewentualnymi dodatkami;
- termin przydatności do użycia i stosowane kryteria akceptacji;
- warunki przechowywania;
- sprawdzanie jałowości;
- sprawdzanie wzrostu docelowych i niedocelowych mikroorganizmów kontrolnych (z podaniem odniesienia do kolekcji kultur) oraz kryteria akceptacji;
- sprawdzanie fizyczne i stosowane kryteria akceptacji;
- data wydania specyfikacji.

Zaleca się, aby wszystkie podane powyżej pozycje, w tym przeprowadzenie walidacji było uwzględnione przez laboratorium w celu ustalenia kryterium akceptacji dla przychodzących partii pożywek, odpowiednich dla potrzeb badań laboratorium.

8.3.4. Zaleca się, aby partie pożywek były identyfikowalne. Zaleca się, aby każdej otrzymanej partii towarzyszył dowód zgodności ze specyfikacją jakościową. Zaleca się, aby laboratorium-użytkownik zapewniło, że będzie informowane przez producenta o wszelkich zmianach w specyfikacji jakości produktu.

Uwaga:

Partia: jednorodna i całkowicie identyfikowalna jednostka pożywki lub odczynnika, odnosząca się do określonej ilości masy, półgotowego produktu lub produktu gotowego, która jest zgodna pod względem typu i jakości i spełniła wymagania produkcyjne (kontrola w trakcie procesu) oraz badania parametrów, oraz która została wyprodukowana w obrębie jednego określonego cyklu produkcji, i posiada ten sam przypisany numer.

8.4. Znakowanie

Laboratoria powinny zapewnić, aby wszystkie odczynniki (łącznie z roztworami zapasowymi), pożywki, rozcieńczalniki i inne płyny do sporządzania zawiesin były właściwie oznakowane w celu wskazania, stosownie do potrzeb, nazwy, stężenia, warunków przechowywania, daty otwarcia opakowania, daty przygotowania, sprawdzonej daty ważności oraz/lub zalecanego okresu przechowywania; zaleca się, aby zapisy umożliwiały identyfikację osoby odpowiedzialnej za przygotowanie pożywki.

9. Materiały odniesienia i kultury odniesienia

ISO/IEC 17025, punkt 5.6.3
Patrz także ISO /TS 11133

9.1. Materiały odniesienia

Materiały odniesienia i certyfikowane materiały odniesienia (patrz definicja w Załączniku A) zapewniają niezbędną spójność pomiarową i są stosowane, na przykład, do:

- wykazania dokładności wyników;
- wzorcowania urządzeń;
- monitorowania pracy laboratorium;
- walidacji metod;
- umożliwienia porównania metod;
- wykazania jakości pożywek;
- wykazania stałej jakości zestawów.

Zaleca się, aby w miarę możliwości, stosować materiały odniesienia w odpowiednich matrycach.

9.2. Kultury odniesienia

9.2.1. Kultury odniesienia dające się zidentyfikować są wymagane do ustalenia parametrów akceptacji pożywek (łącznie z zestawami testowymi) do walidacji metod i do stałej oceny /oszacowania bieżącej pracy. W celu wykazania spójności pomiarowej, laboratoria powinny korzystać ze szczepów odniesienia, uzyskanych bezpośrednio z uznanej kolekcji krajowej lub międzynarodowej, jeśli są dostępne. W przypadku, gdy dające się zidentyfikować kultury odniesienia nie są łatwo dostępne, można alternatywnie wykorzystać dostępne w handlu dające się zidentyfikować pochodne, pod warunkiem, że laboratorium wykaże równorzędność istotnych właściwości dla określonego zastosowania w miejscu użytkowania.

9.2.2. Szczepy odniesienia można przesiewać jednorazowo, aby zapewnić sobie szczepy macierzyste. Zaleca się, kiedy jest to stosowne, równoległe sprawdzanie czystości i cech biochemicznych. Zaleca się przechowywanie szczepów macierzystych głęboko zamrożonych lub w postaci liofilizowanych porcji. Zaleca się, aby kultury robocze do codziennego stosowania były pierwszymi przesiewami ze szczepu macierzystego (patrz Załącznik B dotyczący przygotowywania kultur roboczych). Jeśli szczepy macierzyste uległy rozmrożeniu, nie wolno ich ponownie zamrażać i stosować.

9.2.3. Nie zaleca się przesiewania kultur roboczych, chyba, że jest to wymagane i określone w znormalizowanej metodzie, lub jeżeli laboratorium może przedstawić udokumentowane dowody, że nie wystąpiła żadna zmiana istotnych

właściwości. Niedopuszczalne jest przesiewanie kultur roboczych w celu zastąpienia szczepów macierzystych. Dostępne w handlu pochodne szczepów odniesienia mogą być tylko wykorzystywane jako kultury robocze.

10. Pobieranie próbek

ISO/IEC 17025, punkt 5.7

Patrz także ISO 7218 [8], punkt 8 i ISO 19458[23]

10.1. W wielu przypadkach, laboratoria badawcze nie są odpowiedzialne za pobieranie próbek do badań. W sytuacji, gdy ponoszą taką odpowiedzialność, usilnie zaleca się, aby takie pobieranie próbek było objęte zapewnieniem jakości, a byłoby idealnie, żeby było także objęte akredytacją.

10.2. Zaleca się, aby transport i przechowywanie odbywały się w warunkach, gwarantujących zachowanie integralności próbki (np. schłodzonej lub zamrożonej, stosownie do okoliczności). Zaleca się, aby warunki te były monitorowane, a zapisy przechowywane. Zaleca się, aby tam gdzie stosowne, jasno udokumentować odpowiedzialność za transport i przechowywanie próbek od momentu ich pobrania do odbioru w laboratorium badawczym. Zaleca się aby badanie próbek było przeprowadzane jak najszybciej po pobraniu, oraz aby było ono zgodne z właściwymi normami oraz krajowymi/międzynarodowymi regulacjami.

10.3. Zaleca się, aby pobieranie próbek było przeprowadzane wyłącznie przez przeszkolony personel. W każdych okolicznościach, jeśli laboratorium jest odpowiedzialne za pobieranie próbek, zaangażowany w tę czynność personel powinien być także upoważniony do ich pobierania. Zaleca się pobieranie próbek w sposób aseptyczny, z zastosowaniem jałowego wyposażenia. Zaleca się monitorowanie i zapisywanie warunków środowiskowych, na przykład, zanieczyszczenie powietrza i temperatura w miejscu pobierania próbek. Zaleca się zapisywanie godziny pobierania próbek.

11. Postępowanie z próbkami i ich identyfikacja

ISO/IEC 17025, punkty 5.7 i 5.8

Patrz także ISO 7218 [8], punkt 8, ISO 6887 [24] i ISO 19458 [23]

11.1. Drobnoustroje mogą być wrażliwe na takie czynniki jak temperatura lub czas transportu i przechowywania, i dlatego istotne jest sprawdzenie i zanotowanie stanu próbki w momencie otrzymania jej przez laboratorium.

11.2. Laboratorium powinno posiadać procedury, obejmujące dostarczenie próbek oraz ich identyfikację. W przypadku, gdy wielkość próbki jest niewystarczająca lub próbka znajduje się w złym stanie z powodu pogorszenia się jej stanu fizycznego, niewłaściwej temperatury lub niewystarczającego oznakowania, zaleca się, aby laboratorium porozumiało się z klientem przed podjęciem decyzji o realizacji badania lub odmowie badania próbki. Zaleca się, aby w każdym przypadku prowadzić zapisy, a w sprawozdaniu z badań umieścić informację o stanie próbki.

11.3. Laboratorium powinno zapisywać wszelkie istotne informacje, a w szczególności następujące:

- (a) datę i, tam gdzie istotne, czas odbioru próbki;
- (b) stan próbki przy odbiorze i, kiedy to konieczne, temperaturę;
- (c) charakterystykę czynności pobierania próbki (data pobrania, warunki pobierania itd.).

11.4. Próbki oczekujące na badanie powinny być przechowywane w odpowiednich warunkach celem zminimalizowania zmian w występującej populacji drobnoustrojów. Zaleca się określenie i zanotowanie warunków przechowywania próbek.

11.5. Opakowanie i znakowanie próbek mogą być znacznie zanieczyszczone i zaleca się zachowanie ostrożności w postępowaniu z próbkami i ich przechowywaniu, aby uniknąć rozprzestrzenienia się zanieczyszczeń.

11.6. Pobieranie przez laboratorium podpróbki bezpośrednio przed badaniem traktuje się, jako część metody badawczej. Powinno być ono przeprowadzane zgodnie z krajowymi lub międzynarodowymi normami o ile istnieją, lub zgodnie z własnymi metodami zwalidowanymi przez laboratorium. Zaleca się, aby procedury przygotowywania podpróbek uwzględniały nierównomierny rozkład drobnoustrojów w próbce (ogólne wytyczne podano w ISO 6887 i ISO 7218).

11.7. Należy opracować procedurę przechowywania i usuwania pozostałości próbek. Zaleca się przechowywanie próbek do czasu uzyskania wyników badań lub dłużej, jeśli jest to wymagane i o ile ma to zastosowanie w danej sytuacji, na podstawie wymagań prawnych lub na

życzenie klienta. Zaleca się, aby pozostałości i próbki analityczne, o których wiadomo, że są silnie zanieczyszczone, były odkażone przed ich usunięciem (patrz punkt 12).

12. Usuwanie zanieczyszczonych odpadów

ISO/IEC 17025, punkt 5.8

Patrz także ISO 7218 [8].

Prawidłowe usuwanie zanieczyszczonych odpadów może bezpośrednio nie mieć wpływu na jakość analizy próbek, niemniej jednak, zaleca się opracowanie procedur w celu zminimalizowania możliwości zanieczyszczenia środowiska badawczego lub materiałów. Jest to sprawa dobrego zarządzania laboratorium i zaleca się spełnienie przepisów krajowych/międzynarodowych dotyczących ochrony środowiska lub zdrowia i bezpieczeństwa.

13. Zapewnienie jakości wyników / kontrola jakości wykonania

ISO/IEC 17025, punkt 5.9

Patrz także EA-4/18 [25], Poradnik badania biegłości EURACHEM [26]

13.1. Wewnętrzne zapewnienie jakości

13.1.1. Wewnętrzne sterowanie jakością obejmuje wszystkie procedury przeprowadzone przez laboratorium w celu stałej oceny swojej pracy. Podstawowym celem jest zapewnienie codziennej spójności wyników oraz ich zgodności z określonymi kryteriami.

13.1.2. Konieczne jest posiadanie programu okresowych sprawdzeń do wykazania, że zmienność (tj. pomiędzy analitykami, i pomiędzy przyrządami lub materiałami itp.) znajduje się pod nadzorem. Sprawdzeniem powinny być objęte wszystkie badania wchodzące w zakres akredytacji laboratorium. Program może obejmować:

- wykorzystywanie próbek sztucznie zanieczyszczonych, o zmiennym poziomie zanieczyszczenia, w tym mikroflorą celową i drobnoustrojami tła;
- wykorzystywanie sztucznie/naturalnie kontaminowanych próbek spośród różnych matryc
- wykorzystywanie materiałów odniesienia (w tym materiały stosowane w badaniu biegłości);
- powtarzanie badań;
- powtórzenie oceny wyników badań, tj. liczenie kolonii na płytkach Petriego przez dwóch analityków.

Program wewnętrznej kontroli jakości musi być dostosowany do rzeczywistej częstotliwości badań, przeprowadzanych przez laboratorium. Zaleca się, aby tam gdzie jest to możliwe, badania obejmowały nadzór nad monitorowaniem parametrów. Zaleca się także, aby dane dotyczące materiałów odniesienia oraz próbek sztucznie zanieczyszczonych zostały przedstawione w postaci wykresu, co pomogłoby w wizualnej ocenie trendów.

13.1.3. W szczególnych przypadkach, laboratorium może uzyskać akredytację dla rzadko wykonywanego badania. Uznaje się, że w takich przypadkach program ciągłego wewnętrznego sterowania jakością takiego badania mógłby być niewłaściwym, a program, pozwalający na wykazanie zadawalającej jakości, przeprowadzany równoległe do badań byłby lepszym rozwiązaniem. Nie eliminuje to potrzeby uczestnictwa w programach badania biegłości przy możliwej do przyjęcia częstotliwości ich przeprowadzania. W każdym przypadku, zaleca się aby laboratorium miało świadomość nieodłącznego ryzyka związanego z takim podejściem, i podjęło wszelkie stosowne środki.

13.2. Zewnętrzna ocena jakości (badanie biegłości)

13.2.1. Zaleca się, aby laboratoria regularnie uczestniczyły w badaniach biegłości (PT) zgodnie z zakresem swojej akredytacji. Zaleca się, aby dać pierwszeństwo programom badania biegłości, wykorzystujących odpowiednie matryce.

13.2.2. Uczestnictwo w programach badania biegłości jest obowiązkowe pod warunkiem, że dostępne są odpowiednie programy. Jeśli taka okoliczność nie ma miejsca, zaleca się, aby laboratorium uczestniczyło w międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych, w których bierze udział dostateczna liczba innych laboratoriów na podstawie dobrze udokumentowanego protokołu.

13.2.3. Zaleca się, aby laboratoria korzystały z zewnętrznej oceny jakości nie tylko w celu oszacowania obciążenia laboratorium, ale także, dla sprawdzenia miarodajności całego systemu jakości.

13.2.4. Chociaż jednostki akredytujące mogą określić minimalny udział w programach badania biegłości, to laboratorium ponosi odpowiedzialność za wykazanie, że częstotliwość i zakres jego uczestnictwa są odpowiednie do zakresu jego działania. Dokument EA-4/18 może stanowić użyteczną pomoc przy wykorzystaniu różnych powiązanych dyscyplin, tj. zakresu kompetencji technicznej, określonej co najmniej jedną techniką pomiaru, właściwość i wyrób, które są ze sobą powiązane. Podejście takie ułatwia optymalizację zakresu uczestnictwa w badaniach biegłości. Ponadto, poradnik Eurachem na temat doboru, stosowania i interpretacji programów PT [26] może stanowić pomoc w interpretacji wyników, uzyskanych z uczestnictwa w badaniach biegłości.

13.2.5. Zachęca się laboratoria do subskrypcji akredytowanych programów badania biegłości (PT) ISO/IEC 17043 [27]; zaleca się stosowanie innych źródeł tylko wtedy, gdy laboratorium oceniło już swoje kompetencje.

14. Sprawozdania z badań

ISO/IEC 17025, punkt 5.10

Patrz także ISO 19036 [9], ISO 8199 [11], ISO 7218 [8]

14.1. W przypadku metod ilościowych, wyniki są wyrażane, jako liczba jednostek tworzących kolonie (CFU) w objętości lub ilości gramów analizowanej próbki. W przypadku uzyskania 10 CFU/płytkę, precyzja znacznie spada; zaleca się, aby laboratoria wykazywały ten fakt w swoich raportach z badań. Zaleca się, aby w przypadku gdy wynik liczenia jest negatywny podać go jako „nie stwierdzono w określonej jednostce” lub „poniżej granicy wykrywalności w określonej jednostce”. Wynik można także podać jako „zero w określonej jednostce” jeśli pozostaje to w zgodzie z krajowymi przepisami technicznymi, lub dotyczącymi zdrowia.

14.2. Zaleca się, aby wyniki badań metod jakościowych były podawane jako „wykryto/nie wykryto w określonej masie lub objętości”. Mogą być również wyrażane jako „mniej niż określona

liczba organizmów w określonej jednostce” w przypadku gdy podana liczba organizmów przekracza granicę wykrywalności danej metody i zostało to uzgodnione z klientem.

14.3. W przypadku gdy w raporcie z badań podawana jest oszacowana niepewność wyniku badania, wszelkie ograniczenia (szczególnie gdy oszacowanie nie obejmuje elementu wynikającego z rozkładu mikroorganizmów w próbce) muszą być jasno przedstawione klientowi.

14.4. Może się zdarzyć, że laboratoria będą musiały sprawdzić, czy w stosowanych normach zawarte są własne szczególne wymagania odnośnie wyrażania wyników.

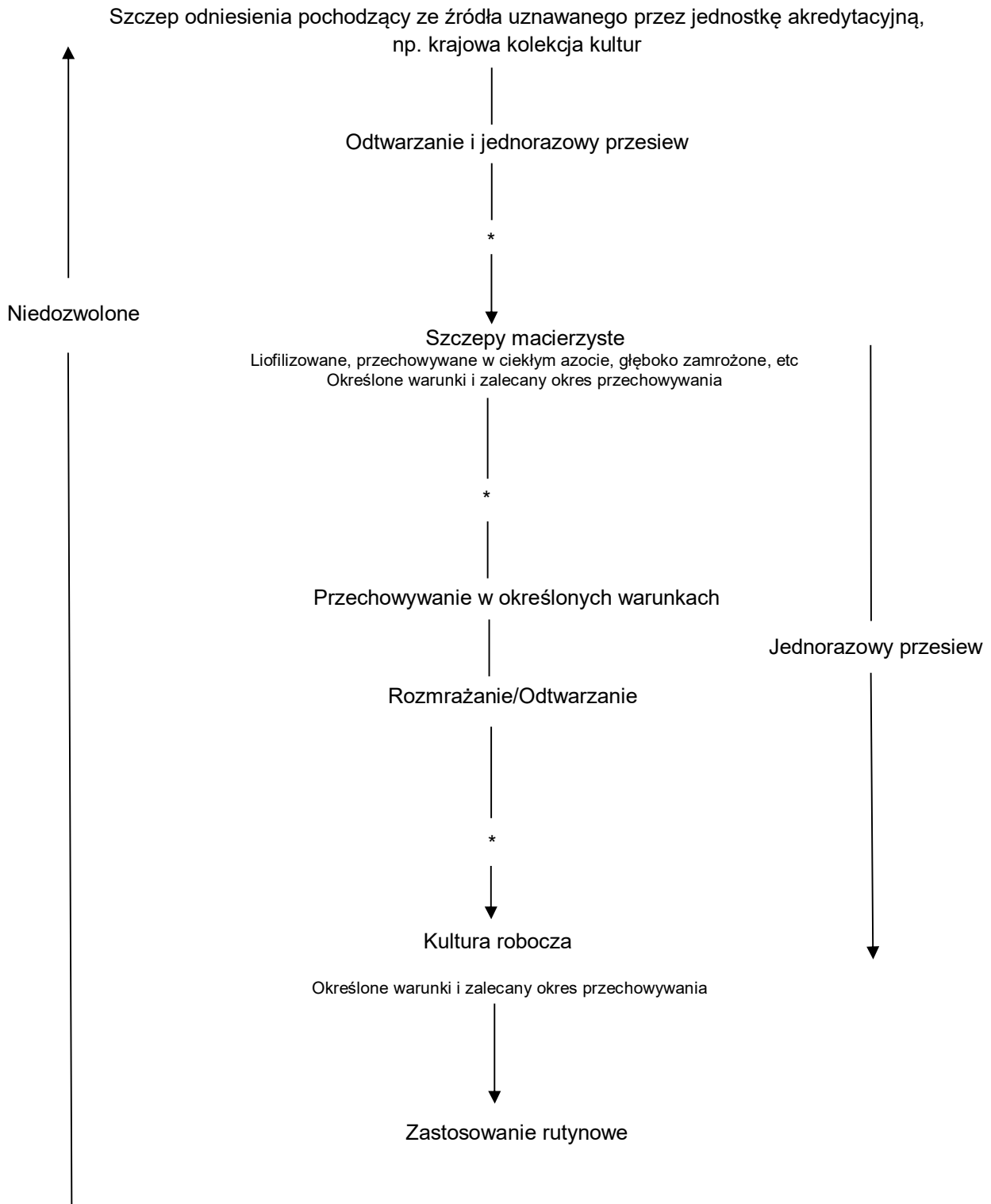
Przykłady obejmują: ISO 11731-2:2004 *Jakość wody - Wykrywanie i oznaczanie ilości bakterii z rodzaju Legionella, Część 2 : Metoda filtracji membranowej dla wód o małej liczbie bakterii* oraz ISO 6222:1999 *Jakość wody – Oznaczanie ilości mikroorganizmów zdolnych do wzrostu – Określanie ogólnej liczby kolonii metodą posiewu na agarze odżywczym*.

Załącznik A Terminologia

| | |
|------------------------------------|--|
| Wzorcowanie | <p>Czynność, która w pierwszym etapie ustala, w określonych warunkach, zależność (lub relację) pomiędzy wartościami wielkości reprezentowanymi przez wzorce miar, a odpowiednimi wskazaniami przyrządu, z uwzględnieniem ich niepewności pomiaru, a w drugim etapie, pozwala wykorzystać tę informację do uzyskania relacji pomiędzy wskazaniami a wynikiem pomiaru.</p> <p><u>UWAGA 1</u> Wzorcowanie można wyrazić w postaci protokołu, funkcji wzorcowania, wykresu wzorcowania, krzywej wzorcowania lub tabeli wzorcowania. W niektórych przypadkach, może obejmować dodanie jednej lub wielu poprawek wartości wskazań z podaniem niepewności pomiaru.</p> <p><u>UWAGA 2</u> Wzorcowania nie należy mylić z adjustacją systemu pomiarowego, często mylnie zwanego „auto-kalibracją”, ani z weryfikacją kalibracji.</p> <p><u>UWAGA 3</u> Często zdarza się, że już sam pierwszy etap powyższej definicji jest postrzegany jako wzorcowanie. [VIM 3]</p> |
| Certyfikowany materiał odniesienia | <p>Materiał odniesienia, któremu towarzyszy dokumentacja wydana przez upoważniony organ, zawierająca jedną lub więcej wyszczególnionych wartości cech wraz z podaniem niepewności i spójności pomiarowej, z wykorzystaniem odpowiednich procedur [VIM 3]</p> |
| Granica wykrywalności | <p>Stosuje się do jakościowych badań mikrobiologicznych. Najmniejsza liczba drobnoustrojów, którą można wykryć, ale nie można dokładnie oszacować.</p> |
| Granica oznaczalności | <p>Stosuje się do ilościowych badań mikrobiologicznych. Najmniejsza liczba drobnoustrojów, w obrębie określonej zmienności, która może być oznaczona w warunkach doświadczalnych ocenianej metody</p> |
| Precyzja pomiaru | <p>Stopień zgodności pomiędzy wartościami mierzonej wielkości, uzyskanymi podczas powtarzanych pomiarów na tych samych lub podobnych obiektach, w określonych warunkach [VIM 3]</p> |
| Odchylenie ujemne | <p>Występuje, kiedy alternatywna metoda daje wynik ujemny bez potwierdzenia, podczas gdy metoda odniesienia daje wynik dodatni . Odchylenie to staje się wynikiem fałszywie ujemnym, kiedy można wykazać, że wynik rzeczywisty jest dodatni.</p> |
| Odchylenie dodatnie | <p>Występuje, kiedy alternatywna metoda daje wynik dodatni bez potwierdzenia, podczas gdy metoda odniesienia daje wynik ujemny. Odchylenie to staje się wynikiem fałszywie dodatnim, kiedy można wykazać, że wynik rzeczywisty jest ujemny.</p> |
| Kultury odniesienia | <p>Wspólne określenie dla szczepów odniesienia, szczepów macierzystych i kultur roboczych</p> |
| Materiał odniesienia | <p>Materiał, dostatecznie jednorodny i stabilny w odniesieniu do właściwości, które zostały określone po to, aby mogły być odpowiednie do zamierzonego celu w pomiarach lub badaniu nominalnych właściwości. [VIM 3]</p> |
| Metoda odniesienia | <p>Starannie zbadana metoda, jasno i dokładnie określająca niezbędne warunki i procedury do pomiaru jednej lub więcej cech, co do której wykazano, że posiada dokładność i precyzję współmierną do jej zamierzonego zastosowania i wobec tego, może być wykorzystywana do oceny dokładności innych metod wykonywania takich samych pomiarów, szczególnie pozwalających na podanie charakterystyki materiałów odniesienia. Zazwyczaj jest to znormalizowana metoda krajowa lub międzynarodowa.</p> |

| | |
|------------------------|--|
| Szczyepy macierzyste | Zestaw odrębnych identycznych kultur, uzyskanych przez jednorazowe przesiewanie szczepu odniesienia [ISO 11133] |
| Szczyepy odniesienia | Drobnoustroje zdefiniowane co najmniej pod względem rodzaju i gatunku, skatalogowane i opisane zgodnie z ich cechami i – najlepiej – z podaniem źródła pochodzenia. [ISO 11133]. Zwykle otrzymane z uznanej kolekcji krajowej lub międzynarodowej. |
| Względna poprawność | Stopień zgodności wyników ocenianej metody w porównaniu do wyników uzyskanych przy zastosowaniu uznanej metody odniesienia |
| Powtarzalność | Precyzja pomiaru, przy zachowaniu warunków powtarzalności pomiaru [VIM 3] |
| Warunki powtarzalności | Dla metod ilościowych Warunki pomiaru, obejmujące tę samą procedurę pomiaru, tych samych wykonawców, ten sam system pomiarowy, te same warunki pracy i to samo usytuowanie, oraz powtórzone pomiary na tych samych lub podobnych obiektach [VIM 3] Dla metod jakościowych <i>Można stosować interpretację analogiczną do powyższej, a mianowicie: Warunki badania ... (zamiast warunki pomiaru....)</i> |
| Odtwarzalność | Precyzja pomiaru, przy zachowaniu warunków odtwarzalności pomiaru [VIM 3] |
| Warunki odtwarzalności | Dla metod ilościowych Warunki pomiaru, obejmujące różne lokalizacje, wykonawców, systemy pomiarowe i pomiary powtórzone na tych samych lub podobnych obiektach [VIM 3] Dla metod jakościowych <i>Można stosować interpretację analogiczną do powyższej, a mianowicie: Warunki badania (zamiast warunki pomiaru....)</i> |
| Czułość | Część ogólnej liczby kultur lub kolonii dodatnich, prawidłowo wytypowanych w przypuszczalnej kontroli [ISO/TR 13843] |
| Specyficzność | Część ogólnej liczby kultur lub kolonii ujemnych, prawidłowo wytypowanych w przypuszczalnej kontroli [ISO/TR 13843] |
| Walidacja | Potwierdzenie, przez badanie, i przedstawienie obiektywnego dowodu, że zostały spełnione szczególne wymagania dotyczące konkretnego zamierzonego zastosowania [ISO/IEC 17025] <u>Uwaga:</u> Walidacja pierwotna. Proces badawczy, mający na celu ustalenie zakresu badania i charakterystyki działania nowej, zmodyfikowanej lub skądinąd niedostatecznie scharakteryzowanej metody. Powinno to dać w rezultacie liczbową i opisową specyfikację działania i obejmować szczegółowy i jednoznaczny opis celu pracy (kolonie dodatnie, próbówki lub tablice) [ISO 13843] |
| Weryfikacja | Dostarczenie obiektywnego dowodu, że dany element spełnia określone wymagania [VIM 3] <u>Uwaga:</u> Weryfikacja (walidacja wtórna) ma miejsce, kiedy laboratorium zamierza zrealizować metodę opracowaną gdzie indziej. Weryfikacja skupia się na zebraniu dowodów, że laboratorium jest zdolne do spełnienia wymagań ustalonych w pierwotnej walidacji. (adaptacja na podstawie ISO 13843) |
| Kultura robocza | Pierwszy przesiew pochodzący ze szczepu macierzystego [ISO 11133] |

Załącznik B Ogólne zasady stosowania kultur odniesienia



*Równoległe sprawdzanie czystości i badania biochemiczne, jeśli potrzebne

Wszystkie części procesu powinny być w pełni udokumentowane, a szczegółowe zapisy ze wszystkich etapów muszą być zachowywane.

Załącznik C Wytyczne dotyczące wzorcowania i wzorcowań sprawdzających

Niniejsze informacje podaje się jako wytyczne, zaś częstotliwość powinna opierać się na potrzebach, rodzaju wyposażenia i wcześniejszym jego działaniu.

| Rodzaj wyposażenia | Wymagania | Zalecana częstotliwość |
|---|---|--|
| Termometry odniesienia (szklane cieczowe) | Ponowne wzorcowanie w pełnym zakresie z zachowaniem spójności pomiarowej Pojedynczy punkt (np. sprawdzanie temperatury topnienia lodu) | Co 5 lat Raz na rok |
| Termopary odniesienia | Ponowne wzorcowanie w pełnym zakresie z zachowaniem spójności pomiarowej Sprawdzanie w stosunku do termometru odniesienia | Co 3 lata Raz na rok |
| Termometry robocze i termopary robocze | Sprawdzanie w stosunku do termometru odniesienia w punkcie topnienia lodu i/lub zakresie roboczym pomiarów temperatury | Raz na rok |
| Wagi | Wzorcowanie w pełnym zakresie z zachowaniem spójności pomiarowej | Raz na rok przez pierwsze 3 lata, następnie rzadziej, zależnie od zadawalających wyników działania |
| Odważniki wzorcowe | Wzorcowanie w pełnym zakresie z zachowaniem spójności pomiarowej | Co 5 lat |
| Odważniki kontrolne | Sprawdzenie przy użyciu wzorcowanego odważnika lub sprawdzenie na wadze bezpośrednio po wzorcowaniu, z zachowaniem spójności pomiarowej | Co 2 lata |
| Szkoło miarowe | Wzorcowanie wagowe do wymaganej tolerancji | Raz na rok |
| Pipetory/pipety | Wzorcowanie w pełnym zakresie z zachowaniem spójności pomiarowej | Raz na rok |
| Mikroskopy | Wzorcowanie skoku śruby mikrometrycznej z zachowaniem spójności pomiarowej (stosownie do potrzeb) | Przed rozpoczęciem użytkowania |
| Higrometry | Wzorcowanie z zachowaniem spójności pomiarowej | Raz na rok |
| Wirówki | Wzorcowanie z zachowaniem spójności pomiarowej albo sprawdzenie względem niezależnego tachometru (obrotomierza) stosownie do potrzeb | Raz na rok |

Załącznik D Wytyczne dotyczące walidacji urządzeń i sprawdzania parametrów

Niniejsze informacje podaje się jako wytyczne, zaś częstotliwość powinna być oparta na potrzebach, rodzaju i uprzedniej pracy urządzenia

| Typ urządzenia | Wymagania | Zalecana częstotliwość |
|--|--|---|
| Urządzenia z kontrolowaną temperaturą (cieplarki, łaźnie wodne, lodówki, zamrażarki) | Ustalanie stabilności i jednorodności temperatury Monitorowanie temperatury | Przed rozpoczęciem użytkowania, okresowo, z udokumentowaniem częstotliwości, oraz po każdej naprawie/modyfikacji Codziennie/każdorazowo przy użyciu |
| Sterylizatory | Ustalanie stabilności i jednorodności temperatury Monitorowanie temperatury | Przed rozpoczęciem użytkowania, okresowo, z udokumentowaniem częstotliwości, oraz po każdej naprawie/modyfikacji Codziennie /każdorazowo przy użyciu |
| Autoklawy | Ustalenie charakterystyk obciążeń/cykli Monitorowanie temperatury/czasu | Przed rozpoczęciem użytkowania, okresowo, z udokumentowaniem częstotliwości, oraz po każdej naprawie/modyfikacji Codziennie /każdorazowo przy użyciu |
| Komory bezpiecznej pracy | Badanie pracy urządzenia Monitorowanie mikrobiologiczne Monitorowanie przepływu powietrza | Przed rozpoczęciem użytkowania, co rok, oraz po każdej naprawie/modyfikacji Co tydzień Codziennie/każdorazowo przy użyciu |
| Komory laminarne | Badanie pracy urządzenia Sprawdzanie sterylności powierzchni i powietrza | Przed rozpoczęciem użytkowania oraz po każdej naprawie/modyfikacji Raz na tydzień |
| Mierniki czasu | Sprawdzanie z krajowym sygnałem czasu | Raz do roku |
| Mikroskopy | Sprawdzanie ustawień | Codziennie/przy każdym użyciu |
| Pehametry | Uregulować, stosując co najmniej dwa bufory, odpowiedniej jakości | Codziennie/przy każdym użyciu |
| Wagi | Sprawdzanie zera, oraz odczyt z odważnikiem kontrolnym | Codziennie/przy każdym użyciu |
| Dejonizatory i zestawy do odwróconej osmozy | Sprawdzanie przewodności Sprawdzanie zanieczyszczenia mikrobiologicznego | Raz na tydzień Raz na miesiąc |
| Urządzenia do wagowego rozcieńczenia | Sprawdzanie masy dozowanej objętości Sprawdzanie stopnia rozcieńczenia | Codziennie/przy każdym użyciu Codziennie/przy każdym użyciu |
| Dozowniki żywek | Sprawdzanie dozowanej objętości | Przy każdej regulacji i lub wymianie |
| Pipetory/pipety | Sprawdzanie dokładności i precyzji dozowanej objętości metodą grawimetryczną | Regularnie (ustalenie z uwzględnieniem częstotliwości użytkowania i zastosowania) |
| Aparat do posiewu spiralnego | Sprawdzanie parametrów w porównaniu z tradycyjną płytkową metodą Sprawdzanie stanu iglicy w punkcie początkowym i końcowym Sprawdzanie dozowanej objętości | Przed pierwszym użytkowaniem i raz na rok Codziennie/przy każdym użyciu Raz na miesiąc |
| Liczniki kolonii | Sprawdzanie z liczbą kolonii liczoną ręcznie | Raz do roku |

| | | |
|---|---|---|
| Wirówki | Sprawdzanie szybkości wobec wzorcowanego i niezależnego tachometru (obrotomierza) | Raz do roku |
| Aparaty i ciepłarki do hodowli w warunkach beztlenowych | Sprawdzanie ze wskaźnikiem beztlenowym | Codziennie/przy każdym użyciu |
| Środowisko laboratorium | Monitorowanie zanieczyszczenia spowodowanego przez drobnoustroje przenoszone z powietrzem, oraz powierzchni, przy zastosowaniu n.p. próbników powietrza, metody sedimentacyjnej, płytek odciskowych lub wymazów z powierzchni | Co tydzień pod kątem obecności ogólnej liczby bakterii i pleśni Dwa razy do roku dla organizmów chorobotwórczych lub, jeśli laboratorium zadecyduje inaczej, w oparciu o aktywność oraz trendy i wyniki badań uprzednich |

Załącznik E Wytyczne dotyczące konserwacji urządzeń

Niniejsze informacje podaje się jako wytyczne, zaś częstotliwość powinna być oparta na potrzebach, rodzaju i poprzednim działaniu urządzeń.

| Typ urządzenia | Wymagania | Zalecana częstotliwość |
|---|---|--|
| Cieplarki Lodówki Zamrażarki, sterylizatory | Mycie i dezynfekcja powierzchni wewnętrznych | Raz na miesiąc W miarę potrzeby (n.p co 3 miesiące) W miarę potrzeby (np. raz na rok) |
| Łaźnie wodne | Opróżnianie, mycie, dezynfekcja i ponowne napełnianie wodą | Raz na miesiąc lub co 6 miesięcy przy stosowaniu biocydów |
| Wirówki | Serwis Mycie i dezynfekcja | Raz na rok Przy każdym użyciu |
| Autoklawy | Wzrokowe sprawdzanie uszczelek, czystości/odprowadzenia wody z komory Pełny serwis Sprawdzenie bezpieczeństwa zbiornika ciśnieniowego | Regularnie, zgodnie z zaleceniami producenta Raz na rok lub zgodnie z zaleceniami producenta Raz do roku |
| Komory bezpieczeństwa i komory laminarne | Pełny serwis i sprawdzanie mechaniczne | Raz na rok lub zgodnie z zaleceniami producenta |
| Mikroskopy | Pełny serwis w zakresie konserwacji | Raz do roku |
| Pehametry | Mycie elektrod | Po każdym użyciu |
| Wagi, aparaty do objętościowego rozcieńczania | Czyszczenie Serwis | Przy każdym użyciu Raz na rok |
| Destylarki | Mycie i usuwanie kamienia kotłowego | Zależnie od potrzeb (np. co 3 miesiące) |
| Dejonizatory, zestawy do odwróconej osmozy | Wymiana wkładu/membrany | Zgodnie z zaleceniami producenta |
| Aparaty do hodowli beztlenowej | Mycie/dezynfekcja | Po każdym użyciu |
| Dozowniki do pożywek, wyposażenie do pomiarów objętości, pipety, oraz wyposażenie ogólnego użytku | Odkazanie, mycia i sterylizacja w zależności od potrzeb | Po każdym użyciu |
| Aparat do posiewu spiralnego | Serwis Odkazanie, mycie i sterylizacja | Raz na rok Po każdym użyciu |
| Laboratorium | Mycie i dezynfekcja powierzchni roboczych Mycie podłóg, dezynfekcja studzienek i zbiorników Mycie i dezynfekcja innych powierzchni | codziennie oraz podczas użycia raz na tydzień lub częściej, jeśli potrzeba co 3-12 miesięcy zależnie od rodzaju pracy laboratoryjnej |

Bibliografia:

1. ISO/IEC 17025:2005, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
2. ISO 15189:2012, Medical laboratories – Requirements for quality and competence.
3. WHO Handbook: good laboratory practice (GLP): quality practices for regulated non-clinical research and development - 2nd ed. ISBN 978 92 4 154755 0.
4. WHO Good Manufacturing Practices for Pharmaceutical Products: Main Principles. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011, Annex 3.
5. WHO Guidelines for good clinical practice (GCP) for trials on pharmaceutical products, WHO Technical Report Series, No. 850, 1995, Annex 3.
6. ISO 9000:2005, Quality management systems – Fundamentals and vocabulary.
7. ISO/IEC Guide 99:2007, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) (also published as BIPM, Report JCGM 200, www.bipm.org).
8. ISO 7218:2007 (Amd2:2013), Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations.
9. ISO/TS 19036:2006 (Amd1:2009), Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.
10. ISO 29201:2012, Water quality – The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods.
11. ISO 8199:2005, Water quality – General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture.
12. ISO/TS 12869:2012, Water quality – Detection and quantification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR).
13. ISO 17994:2004 Water Quality – Criteria for establishing equivalence between microbiological methods.
14. ISO/TR 13843:2000, Water quality – Guidance on validation of microbiological methods.
15. ISO 16140:2003 (Amd1:2011), Microbiology of food and animal feeding stuffs – Protocol for the validation of alternative methods.
16. EA-4/16 G:2003, EA guidelines on the expression of uncertainty in quantitative testing, European cooperation for Accreditation.
17. QSOP 4:2005, Uncertainty of measurement in testing, Health Protection Agency, UK.
18. ISO/IEC Guide 98-3:2008, Uncertainty of measurement – Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995) (also published as BIPM, Report JCGM 100, www.bipm.org).
19. Guidance document on measurement uncertainty for GMO testing laboratories, S. Trapmann, M. Burns, H. Broll, R. Macarthur, R. Wood, J. Zel, JRC/IRMM Guidance EUR 22756 EN/2 2009.
20. ILAC P10:01/2013: ILAC Policy on the Traceability of Measurement Results.
21. ISO/TS 11133-1:2009, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
22. ISO/TS 11133-2:2003 (Amd1:2011), Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines on preparation and production of culture media – Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media.
23. ISO 19458:2006 Water Quality – Sampling for microbiological analysis.
24. ISO 6887-Pt 1-5:1999-2010, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Parts 1-5.
25. EA-4/18 TA:2010, Guidance on the level and frequency of proficiency testing participation, European co-operation for Accreditation.
26. Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes by Laboratories, I. Mann, B. Brookman (Eds), 2nd Edition, 2011, Eurachem www.eurachem.org.
27. ISO/IEC 17043:2010 Conformity Assessment-General requirements for proficiency testing.
28. S.L.R. Ellison and A. Williams (Eds), Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition (2012), ISBN: 978-0-948926-30-3. Available from www.eurachem.org.

Inne pozycje literaturowe:

- ISO Guide 30:1992 (Amd 1:2008), Terms and definitions used in connection with reference materials.
- ISO Guide 33:2000, Uses of certified reference materials.
- ISO Guide 34:2009, General requirements for the competence of reference material producers.
- EN 12741:1999, Biotechnology – Laboratories for research, development and analysis – Guidance for biotechnology laboratory operations.
- ISO 22118:2011, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection and quantification of food-borne pathogens – Performance characteristics.
- ISO 22119:2011, Microbiology in food and animal feeding stuffs – Real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – General requirements and definitions.
- ISO 22174:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – General requirements and definitions.
- ISO/TS 20836:2005 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens – Performance testing for thermal cyclers.
- ISO/TS 22117:2010, Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison.
- EA-4/14 INF:2003, The Selection and Use of Reference Materials, European co-operation for Accreditation.
- ILAC P10:2013, ILAC Policy on the Traceability of Measurement Results, International Laboratory Accreditation Cooperation.
- Eurachem Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3, V. Barwick, E. Prichard (Eds.), 2011, ISBN 978-0-948926-29, Eurachem www.eurachem.org.
- Method Validation of U.S. Environmental Protection Agency; Microbiological Methods of Analysis http://www.epa.gov/fem/pdfs/final_microbiology_method_guidance_110409.pdf.