

Europejsko-Śródziemnomorska Organizacja Ochrony Roślin

Diagnostyka

Podstawowe wymagania w zakresie zarządzania jakością dla laboratoriów fitosanitarnych

Zakres

Niniejszy dokument określa ogólne wymagania dotyczące zarządzania jakością w diagnostyce fitopatologicznej.

Wprowadzenie

Wdrażanie systemów zarządzania jakością (określane też jako systemy zarządzania lub systemy jakości) oraz akredytacja jest przedmiotem zainteresowania wielu laboratoriów w regionie EPPO. Niniejszy dokument opisuje podstawowe wymagania i ma stanowić pomoc dla laboratoriów zajmujących się diagnostyką fitosanitarną w projektowaniu systemów zarządzania jakością. Zarządzanie jakością obejmuje działania, które zapewniają jakość i zaufanie do wyników badań prowadzonych w laboratoriach. Opiera się ono na wymaganiach w zakresie zarządzania i wymaganiach technicznych (patrz tekst poniżej). Laboratoria ubiegające się o akredytację powinny wdrażać systemy jakości w oparciu o wymagania normy ISO/IEC 17025 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących”.

Niniejszy dokument dotyczy jakości w diagnostyce, natomiast nie obejmuje zagadnień zdrowia i bezpieczeństwa. Jednakże, praktyka laboratoryjna powinna być zgodna z krajowymi przepisami w dziedzinie zdrowia i bezpieczeństwa.

Niniejszy dokument został opracowany w oparciu o następujące normy:

- ISO 17025:2005 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących” (dostępna na www.iso.org);
- standard EPPO PM 3/64 „Zamierzony import organizmów, które są szkodliwe lub potencjalnie szkodliwe dla roślin”;
- standard EPPO PM 7/76 “Stosowanie protokołów diagnostycznych EPPO”
- standard EPPO PM 7/77 “Dokumentowanie i przedstawianie wyników badań”.

Terminy i definicje

Certyfikowany materiał odniesienia: Materiał odniesienia pochodzący ze źródła, które poświadcza jego autentyczność. Najlepiej, by materiał pochodził z międzynarodowo uznanego źródła, takie jak na przykład krajowa kolekcja materiałów odniesienia. Powinien być oznakowany niepowtarzalnym kodem identyfikacyjnym umożliwiającym ustalenie jego pochodzenia, z podaniem nazwiska osoby poświadczającej jego autentyczność. Powinny być dostępne szczegółowe informacje poświadczające jego autentyczność. Jeśli jest to właściwe, powinny być również podane informacje na temat jego właściwości (np. patogeniczność, cechy antygenowe) w określonych warunkach, a także niepewność w danym przedziale ufności.

Materiał odniesienia: Najczęściej stosowane są żywe kultury, ale można uwzględnić również inny materiał, taki jak na przykład porażony materiał roślinny, izolaty DNA/RNA, fotografie, utrwalone preparaty owadów lub zarodników. Stosowany materiał odniesienia powinien być udokumentowany i właściwy dla metody. Należy zapewnić, że materiał odniesienia charakteryzuje się cechami, ze względu na które dokonano jego wyboru, na przykład posiada wymagane właściwości antygenowe umożliwiające jego wykorzystanie w diagnostyce serologicznej lub cechy fizyczne (np. sporulacja), w przypadku stosowania w klasycznych metodach morfologiczno-metrycznych.

Zapewnienie jakości: Element zarządzania jakością, ukierunkowany na zapewnienie, że spełnione zostaną wymagania jakościowe.

Agroflag: Jakikolwiek gatunek, szczep lub biotyp rośliny, zwierzęcia lub czynnika patogenicznego powodującego uszkodzenie roślin lub produktów roślinnych.

Wymagania dotyczące zarządzania

Laboratorium powinno ustanowić, wdrożyć i utrzymywać system zarządzania jakością obejmujący warunki i działalność laboratorium.

System zarządzania powinien opisywać warunki i działalność laboratorium, którą obejmuje (włączając w to szczegóły dotyczące klientów i badanych agroflagów). System jakości powinien być udokumentowany, a dokumenty dotyczące jakości powinny podlegać archiwizacji.

Tabela 1. Zalecenia i sugerowana częstotliwość zewnętrznego wzorcowania i sprawdzania wyposażenia pomiarowego

Rodzaj wyposażenia	Zalecenie	Sugerowana częstotliwość
Termometry odniesienia i termopary	a) ponowne wzorcowanie w pełnym zakresie, z zachowaniem spójności pomiarowej b) pojedynczy punkt (temperatura robocza)	a) co 7 lat b) raz w roku
Odważniki wzorcowe	wzorcowanie w pełnym zakresie, z zachowaniem spójności pomiarowej	co 7 lat
Mikroskopy	wzorcowanie skoku śruby mikrometrycznej	przed rozpoczęciem użytkowania
Pipety	wzorcowanie	raz w roku
Autoklawy (używane do przygotowywania pożywek)	wzorcowanie	raz w roku

System zarządzania laboratorium powinien zapewniać, że:

- Dostępne są odpowiednie zasoby umożliwiające prowadzenie działalności diagnostycznej, na przykład personel, warunki lokalowe i materiały zużywalne (patrz również rozdział „Wymagania techniczne”);
- Zakupione towary, odczynniki i materiały zużywalne są odpowiednie do ich zamierzonego wykorzystania;
- Odpowiedzialność i zadania personelu są ściśle określone (np. na schemacie organizacyjnym) oraz odpowiednio przypisane;
- Identyfikowane są potencjalne konflikty interesów pomiędzy personelem i prowadzoną działalnością i podejmuje się działania w celu zapobieżenia im;
- Szkolenia są dokumentowane i oceniane (patrz również rozdział „Wymagania techniczne”);
- Personel ma dostęp do procedur i instrukcji oraz je stosuje. Obejmuje to Standardowe Procedury Robocze (SOPy);
- Klientowi są udostępniane, na życzenie, stosowne informacje dotyczące badań należących do niego próbek;
- Wszelkie prace podzlecane są realizowane przez laboratorium, które spełnia wymagania niniejszego standardu, co powinno być sprawdzone przez laboratorium (minimalnym wymaganiem jest pisemna deklaracja zgodności);
- Klientowi zapewnia się poufność wyników badań¹;
- Wdrożono mechanizm postępowania ze skargami;
- Wdrożono mechanizm rejestrowania, analizowania i korygowania odstępstw od procedur lub wymagań klienta;
- Prowadzona jest dokumentacja, która podlega archiwizacji.

System zarządzania jakością powinien być poddawany okresowym przeglądom przez najwyższe kierownictwo. Oznacza to okresową ocenę wszystkich komponentów systemu i rutynowe rejestrowanie odstępstw od systemu oraz podejmowanie działań korygujących.

Wymagania techniczne

Ogólne

Na wiarygodność badań prowadzonych w laboratorium wpływa wiele czynników. Należą do nich:

- personel,
- warunki lokalowe i środowiskowe,
- metody diagnostyczne,
- wyposażenie,
- materiały i kultury odniesienia,
- pobieranie próbek,
- postępowanie z próbkami.

¹ Jednakże, zachęca się laboratoria do opracowywania procedury poświęconej informowaniu EPPO o wykryciu agrofagów podlegających przepisom, w przypadkach gdy Krajowa Organizacja Ochrony Roślin nie jest klientem.

Personel

Kierownictwo laboratorium powinno określić i zapewnić, aby każdy kto wykonuje poszczególne etapy badania i obsługuje wyposażenie posiadał kompetencje. Do realizacji określonych zadań personel powinien być kwalifikowany na podstawie właściwego wykształcenia, przeszkolenia, doświadczenia i/lub wykazanych umiejętności. Pracownicy będący w trakcie szkolenia powinni być odpowiednio nadzorowani i monitorowani. Powinny być utrzymywane zapisy dotyczące personelu, łącznie z zapisami obejmującymi daty udzielenia upoważnienia i/lub potwierdzenia kompetencji do wykonywania określonych zadań i zapisami ze szkoleń.

Warunki lokalowe i środowiskowe

Warunki laboratorium powinny być takie, aby umożliwić prawidłowe przeprowadzenie badań. W zależności od rodzaju przeprowadzanego badania, różne etapy badania można wykonywać w tym samym obszarze, pod warunkiem podjęcia niezbędnych środków zabezpieczających przed wzajemnym zanieczyszczeniem próbek, materiałów odniesienia i laboratorium (patrz Załącznik 1).

Opracowano specjalne wytyczne w zakresie postępowania z organizmami kwarantannowymi (patrz Tabela 1 *Warunki bezpieczeństwa fitosanitarnego* w Standardzie EPPO PM 3/64 „Zamierzony import żywych organizmów, które są szkodliwe lub potencjalnie szkodliwe dla roślin” oraz Dyrektywa Unii Europejskiej 95/44/UE).

Typowe laboratorium obejmuje miejsca, w których prowadzone są badania oraz pomieszczenia dodatkowe (wejścia, korytarze, przechowalnie, toalety, archiwa itp.). Wskazana jest oddzielna lokalizacja lub wyraźnie wydzielenie/zaprojektowanie następujących obszarów roboczych przeznaczonych na potrzeby:

- przyjmowania próbek;
- przygotowywania próbek (oddzielne pomieszczenie dla próbek prawdopodobnie silnie porażonych lub pyłących, np. próbki gleby, rośliny porażone grzybami, owadami lub roztoczymi, bulwy z glebą);
- prowadzenia badań próbek (oddzielna lokalizacja szklarni i pomieszczeń laboratoryjnych);
- przechowywania próbek;
- odpowiedniego pozbywania się próbek;
- utrzymywania materiałów odniesienia/kultur;
- przygotowywania pożywek, odczynników.

Różne rodzaje działalności można izolować czasowo. Obszar roboczy powinien być odpowiednio dekontaminowany pomiędzy różnymi próbkami i/lub czynnościami. Specjalne wymagania zostały sformułowane w Załączniku 1.

Laboratorium powinno być odpowiednio wyposażone, tak by zapewnić właściwe warunki przechowywania próbek, prowadzenia badań i zabezpieczenia próbek.

Dostęp do laboratorium powinien mieć wyłącznie upoważniony personel, który powinien być świadomy, jakiego rodzaju działalność jest prowadzona w poszczególnych obszarach oraz jakie ograniczenia w nich obowiązują.

Laboratorium powinno monitorować, nadzorować i rejestrować warunki środowiskowe tam, gdzie mogą one wpływać na jakość i wiarygodność wyników. Błędy wynikające z odstępstw od warunków środowiskowych powinny być dokumentowane, a działania korygujące rejestrowane (patrz Załącznik 1).

Należy zapewnić odpowiednie środki do utrzymania laboratorium w należytej czystości i porządku. Przestrzeń powinna być wystarczająca do umożliwienia zapewnienia czystości i porządku w obszarach roboczych. Należy nosić odzież roboczą odpowiednią do rodzaju prowadzonych badań, dotyczy to w szczególności prac w laboratorium mikrobiologicznym i molekularnym.

Metody diagnostyczne

Postanowienia ogólne

Laboratorium powinno stosować właściwe metody i procedury dla wszystkich badań objętych zakresem jego działalności. Dotyczy to pobierania próbek, jeśli ma to zastosowanie, postępowania z próbkami, ich transportowania, przechowywania, przygotowywania i badania. Oczekuje się, że badania w laboratoriach diagnostycznych będą realizowane ze zrozumieniem biologii organizmów i będzie to uwzględniane podczas wydzielania podróbek i/lub przygotowywania próbek do analizy. Zasoby, odczynniki i materiały zużywalne powinny być odpowiednie do ich przeznaczenia.

Wszystkie instrukcje, normy, specjalistyczne podręczniki i dane odniesienia istotne dla pracy laboratorium powinny być stale aktualizowane i łatwo dostępne dla personelu. Odstępstwa od metod badawczych dopuszcza się tylko wówczas, gdy są one udokumentowane, technicznie uzasadnione i zatwierdzone przez odpowiednią osobę.

Wybór metod

Laboratorium powinno stosować metody badawcze, które są właściwe do warunków ich stosowania (patrz Standard EPPO PM 7/76 *Stosowanie protokołów diagnostycznych EPPO*). Powinno się preferować stosowanie metod opublikowanych w normach międzynarodowych, regionalnych lub krajowych. Jeśli takie metody nie są dostępne, powinno się rozważyć wykorzystanie metod opracowanych lub zaadaptowanych przez laboratorium.

Laboratorium powinno zapewnić, że stosuje ostatnie ważne wydanie metody, chyba że jest to niewłaściwe lub niemożliwe. Kiedy jest to konieczne, metoda powinna być uzupełniona o dodatkowe szczegóły, aby zapewnić jej zgodne stosowanie.

Wykonanie przez laboratorium

Laboratorium powinno potwierdzić, że jest w stanie prawidłowo realizować metody badawcze, które wytypowało do stosowania (patrz rozdział „Zapewnienie jakości wyników badania”). Potwierdzenie należy powtórzyć, jeżeli metoda badawcza zmieni się.

Wyposażenie

Laboratorium powinno posiadać wyposażenie wymagane do prawidłowego przeprowadzenia badania oraz powinno być ono obsługiwane przez upoważniony do tego personel. Należy sporządzić wykaz wyposażenia oraz udokumentować i wdrożyć program konserwacji, wzorcowań i działań korygujących w odniesieniu do kluczowego wyposażenia, który ma znaczący wpływ na wynik badania.

Wyposażenie, które zostało przeciążone lub z którym postępowano niewłaściwie, daje wątpliwe wyniki, albo wyposażenie którego wadliwość stwierdzono lub wykazano przekroczenie wyspecyfikowanych granic, powinno być wycofane z eksploatacji, wyraźnie opatrzone etykietą lub oznakowane i właściwie przechowywane do czasu naprawy i wykazania prawidłowego działania.

Programy dotyczące wzorcowania i sprawdzania

Specjalne wymagania odnośnie wzorcowania i sprawdzania podano w załączniku 2. Programy wzorcowania i sprawdzania powinny być realizowane wyłącznie przez wykwalifikowany personel, w oparciu o procedury właściwe do zamierzonego zastosowania. Wzorcowanie może być prowadzone we własnym zakresie (wewnętrzne) lub zlecane specjalistycznym firmom (zewnętrzne).

W laboratorium powinna być zachowana i dostępna dokumentacja dotycząca zewnętrznego i wewnętrznego wzorcowania i sprawdzania (z podaniem daty następnego wzorcowania). Wyposażenie powinno być odpowiednio oznakowane (patrz Załącznik 3).

Konserwacja wyposażenia

Aktualne instrukcje dotyczące użytkowania i konserwacji wyposażenia (w tym wszystkie stosowne podręczniki obsługi dostarczone przez producenta wyposażenia) powinny być łatwo dostępne dla korzystającego z nich personelu. Konserwacja istotnego wyposażenia powinna być przeprowadzana w określonych odstępach czasu, wyznaczonych w oparciu o takie czynniki jak częstotliwość użytkowania, wiek/złożoność wyposażenia oraz powinna być prowadzona dokumentacja dotycząca konserwacji (wytyczne w sprawie konserwacji wyposażenia podano w Załączniku 4).

Zapisy

Powinny być utrzymywane zapisy dotyczące wyposażenia istotnego dla wykonywanych badań. W zależności od rodzaju i czułości wyposażenia oraz warunków wymaganych przez producenta w celu zapewnienia jego sprawnego funkcjonowania, zapisy powinny obejmować:

- identyfikację obiektu wyposażenia;
- nazwę producenta, oznaczenie typu;
- instrukcję producenta;
- daty, wyniki i kopie sprawozdań i świadectw wszystkich wzorcowań, regulacji oraz datę kolejnego wzorcowania, o ile jest to stosowne;
- konserwacje wykonane dotychczas oraz plan konserwacji, o ile jest to stosowne;
- uszkodzenia, wadliwe działanie, naprawy wyposażenia.

Materiały odniesienia

Materiały odniesienia zapewniają niezbędną spójność pomiarową w badaniu i są wykorzystywane na przykład w celu:

- identyfikacji;
- wykazywania dokładności wyników;
- wzorcowania wyposażenia;
- monitorowania pracy w laboratorium;
- walidacji metod;
- umożliwienia porównania metod.

Jeśli jest to możliwe, powinien być stosowany certyfikowany materiał odniesienia, z którego można wyprodukować materiał odniesienia, a następnie roboczy materiał odniesienia, ale nie zawsze jest on dostępny. Laboratoria mogą również produkować własny materiał odniesienia, z którego wywodzi się materiał roboczy.

Materiały odniesienia biologiczne

W celu upewnienia się co do statusu biologicznych materiałów odniesienia, powinno się przeprowadzać sprawdzanie, zgodnie z określonymi procedurami i schematami (np. w odniesieniu do morfologii, patogeniczności, właściwości antygenowych, cech

molekularnych). Laboratorium powinno mieć opracowane procedury dotyczące bezpiecznego obchodzenia się, transportowania, przechowywania i użytkowania biologicznych materiałów odniesienia w celu zapobiegania ich zanieczyszczeniu lub uszkodzeniu oraz w celu zapewnienia ich integralności (patrz Załącznik 5).

Materiał roboczy uzyskiwany z biologicznych materiałów odniesienia (np. kultury odniesienia), pochodzących z międzynarodowych kolekcji, powinien być sporządzany i utrzymywany w izolacji od oryginalnego materiału (patrz Załącznik 5).

Inne źródła

Materiały pomocnicze w diagnostyce mogą stanowić książki, fotografie, zbiory slajdów, klucze do identyfikacji morfologicznej, literatura naukowa, bazy danych sekwencji.

Pobieranie próbek

Próbobranie stanowi procedurę pobrania materiału w celu przeprowadzenia badania. Próbka powinna być reprezentatywna dla badanego materiału, a rodzaj próbki powinien być określany w oparciu o wiedzę na temat rozmieszczenia agrofaga będącego obiektem badania. Taka reprezentatywna próbka nie zawsze może być dostępna; w takich przypadkach należy to udokumentować.

Prawidłowe pobieranie próbki jest czynnością, która wymaga dużej uwagi. Nie wszystkie laboratoria uczestniczą w pobieraniu próbek. Jeśli laboratorium pobiera próbki, powinno określić proces pobierania próbek (zarówno plan jak i procedurę), jeśli ma to zastosowanie. Proces ten powinien obejmować czynniki objęte nadzorem oraz opierać się na właściwych metodach statystycznych w celu zapewnienia ważności wyniku.

Laboratorium powinno mieć opracowane procedury dotyczące zapisywania odpowiednich danych związanych z pobieraniem próbek, bez względu na to czy proces jest przeprowadzany przez personel laboratorium, czy klienta.

Odstępstwa, uzupełnienia lub wyłączenia od udokumentowanej procedury pobierania próbek powinny być szczegółowo zapisane i powinien być o nich poinformowany właściwy personel.

Postępowanie z próbkami

Laboratorium powinno mieć procedury dotyczące bezpiecznego transportowania, przyjmowania i postępowania z próbkami, ich zabezpieczania, magazynowania, przetrzymywania i/lub pozbywania się próbek, zawierające także opis wszystkich warunków niezbędnych do ochrony całości próbek.

Wydzielanie podpróbek w laboratorium przez przystąpieniem do badania jest traktowane jako część metody badawczej. Wydzielanie podpróbek powinno być zaprojektowane z uwzględnieniem nierównomiernego rozmieszczenia agrofaga.

Laboratorium powinno mieć opracowany system identyfikacji próbek. System powinien być tak opracowany i tak działać, aby gwarantował, że obiekty nie mogą być pomieszane ani fizycznie, ani w zapisach, ani w innych dokumentach. Do systemu tego należy, jeżeli to właściwe, włączyć podział próbek na podgrupy i sposób przekazywania próbek zarówno wewnątrz laboratorium, jak i poza nie.

Próbka musi być identyfikowalna przez cały czas przebywania próbki w laboratorium. Sugerowaną zawartość formularza umożliwiającego identyfikację próbki przedstawiono w Załączniku 6.

Agrofagi mogą być wrażliwe na takie czynniki jak temperatura lub czas przechowywania i transportowania, dlatego też ważne jest sprawdzanie i zapisywanie informacji o stanie próbki w momencie jej przyjęcia do laboratorium. Jeśli próbka obejmuje niewystarczającą ilość materiału lub jest w złym stanie z powodu fizycznego uszkodzenia,

niewłaściwej temperatury, rozerwanego opakowania lub niedostatecznego oznakowania, nie jest zgodna z dostarczonym opisem, względnie wymagania dotyczące metody badawczej nie zostały dostatecznie szczegółowo wyspecyfikowane, laboratorium powinno porozumieć się z klientem przed podjęciem decyzji odnośnie realizacji badania próbki lub jej odrzucenia. W każdym przypadku, fakty i ustalenia powinny być zapisane.

Próbki oczekujące na badanie powinny być przechowywane w odpowiednich warunkach, tak by zminimalizować zmiany w populacji agrofaga zasiedlającego próbkę oraz zabezpieczyć próbki przed zanieczyszczeniem krzyżowym. O ile jest to właściwe, powinny być określone i zapisywane warunki przechowywania. Jeśli próbki po zakończeniu badania mają być zwrócone klientowi, wymagana jest ostrożność w celu zapewnienia, że nie są one zniszczone lub uszkodzone w czasie postępowania z nimi, badania lub przechowywania.

Powinna być opracowana procedura dotycząca zachowywania próbek i pozbywania się ich. Próbki powinny być przechowywane do czasu uzyskania wyniku badania lub dłużej, jeśli zachodzi taka potrzeba. Jednym z powodów zachowania próbki może być konieczność przeprowadzenia badania uzupełniającego.

Laboratorium powinno mieć opracowane procedury dotyczące postępowania z porażonymi próbkami po badaniu w celu spełnienia krajowych i międzynarodowych przepisów dotyczących agrofagów kwarantannowych i innych organizmów szkodliwych dla roślin. Procedury powinny być opracowane również w celu zminimalizowania ryzyka zanieczyszczenia środowiska badawczego lub materiałów. Dalsze szczegóły dotyczące warunków bezpieczeństwa fitosanitarnego można znaleźć w procedurze EPPO PM 3/64 „Zamierzony import żywych organizmów, które są szkodliwe lub potencjalnie szkodliwe dla roślin”.

Zapewnienie jakości wyników badania

Zapewnienie jakości wyników badań powinno odbywać się na różnych poziomach: dla każdego badania, jak również w odniesieniu do całościowej kontroli jakości w laboratorium.

Na wewnętrzne zarządzanie jakością składają się wszystkie procedury realizowane w laboratorium w celu stałej oceny podejmowanych działań. Podstawowym celem jest zapewnienie spójności wyników oraz ich zgodność z przyjętymi kryteriami. Odstęp czasu pomiędzy wewnętrznymi kontrolami jakości będzie zależał od rzeczywistej liczby prowadzonych badań. Monitorowanie jakości badań powinno być planowane, poddawane przeglądom

i rejestrowane. Tam gdzie jest to możliwe powinny być stosowane kontrole pozytywne/negatywne; powinno to stanowić minimalny poziom wewnętrznej kontroli jakości. Program wewnętrznej kontroli jakości może również obejmować:

- korzystanie z certyfikowanego materiału odniesienia (na przykład blisko spokrewnione organizmy lub materiał z kolekcji, organizmy, które nie stanowią obiektu badania, ale mogą w sposób naturalny występować w materiale);
- korzystanie ze sztucznie zainfekowanych próbek;
- powtarzanie badań z użyciem tej samej metody;
- badanie porównawcze tej samej próbki przeprowadzane przez różnych analityków;
- porównanie wyników badań uzyskanych z wykorzystaniem różnych metod identyfikacji na podstawie identyfikacji różnych cech agrofaga;
- powtórne badanie zachowanego materiału roślinnego lub jego ekstraktu, wody lub próbek gleby i pułapek na owady (w ciągu określonego wcześniej czasu, z zapewnieniem odpowiedniego stanu materiału przed powtórny badaniem);

- międzylaboratoryjną lub wewnątrzlaboratoryjną ocenę zapisów specyficznych cech, na podstawie których formułuje się wynik badania (w szczególności w przypadku wizualnego oznaczania owadów, nicieni i grzybów);
- badanie ślepych próbek polegające na włączeniu do badań rutynowych, próbek o znanym stopniu porażenia.

W szczególnych wypadkach laboratorium może opracować system zapewnienia jakości dla badań rzadko zlecanych. Uznaje się, że w takich wypadkach istniejący program wewnętrznego sterowania jakością mógłby być niewłaściwy, a bardziej odpowiedni mógłby być program pozwalający na wykazanie satysfakcjonującego wykonania, realizowany równoległe z badaniami. Zaleca się, aby laboratoria korzystały z zewnętrznej oceny jakości, jeśli dostępne są zewnętrzne badania biegłości lub badania biegłości *ad hoc*. Na ważność wyników badania ma wpływ zarówno techniczne wykonanie badania, jak i parametry metody. Jeśli wynik badania budzi wątpliwości, ważne jest by być w stanie rozróżnić te dwa kryteria. Metoda może wykazywać odpowiednią kontrolę procesu, ale kiepskie możliwości diagnostyczne lub na odwrót.

Przedstawianie wyników

Informacje podano w standardzie EPPO PM 7/77 „Dokumentowanie i przedstawianie wyników badań”.

Załącznik 1

Monitorowanie warunków środowiskowych i zapobieganie kontaminacji

Laboratorium powinno zapewnić, że warunki środowiskowe, sposób urządzenia laboratorium i procedury robocze są takie, że minimalizują ryzyko krzyżowej kontaminacji drogą powietrzną, powierzchniową, poprzez wyposażenie, personel itp. Kontaminację można zminimalizować lub jej uniknąć następującymi sposobami:

- Nie można stale przemieszczać wyposażenia laboratorium pomiędzy różnymi obszarami laboratorium;
- Jeśli jest to właściwe, powinien mieć zastosowanie udokumentowany program zwalczania wektorów;
- Materiały/kultury odniesienia powinny być przechowywane w wydzielonym miejscu na terenie laboratorium;
- Należy opracować, wdrożyć i udokumentować procedury utrzymania laboratorium w należytej czystości i porządku;
- Należy opracować i wdrożyć procedury robocze dotyczące higieny (np. stosowanie rękawiczek, dezynfektantów, końcówek do pipet z filtrami, materiałów plastikowych jednorazowego użytku).

Specjalne wymagania dotyczące laboratoriów biologii molekularnej:

- Wydzielone obszary robocze do wykonywania PCR powinny być zorganizowane zgodnie z zasadą “przesuwania się do przodu” w odniesieniu do a) ekstrakcji i oczyszczania DNA i RNA, b) przygotowywania mastermixu, c) dodawania mastermixu do próbki oraz d) analizy produktów amplifikacji. Szczególnie zaleca się posiadanie co najmniej 3 oddzielnych pomieszczeń (jedynie prace wymienione w punktach *a* oraz *c*, lub, w przypadku stosowania szczególnych środków ostrożności, *b* oraz *c*, mogą być wykonywane w tym samym pomieszczeniu, ale z zachowaniem izolacji przestrzennej lub w komorze z laminarnym przepływem powietrza);
- W każdym z obszarów roboczych powinno być używane oddzielne wyposażenie (włącznie z pipetami). Zaleca się, by w każdym z obszarów roboczych były używane przeznaczone wyłącznie do tego celu fartuchy laboratoryjne (co najmniej oddzielny fartuch na potrzeby przygotowania mastermixu) oraz rękawiczki;
- W obszarach roboczych wyznaczonych do ekstrakcji kwasów nukleinowych lub przygotowywania mastermixu/mieszaniny reakcyjnej nie wolno otwierać próbek zawierających produkty reakcji amplifikacji.

W laboratorium, w regularnych odstępach czasu, powinno się monitorować czystość powietrza oraz powierzchni w miejscach, gdzie ma to znaczenie. Monitoring można prowadzić z użyciem płytek do metody sedymentacyjnej (np. płytek do liczenia kolonii lub innych odpowiednich płytek z agarem nieselektywnym), płytek kontaktowych (dla gładkich powierzchni) lub wymazów (w przypadku innych powierzchni i wyposażenia), oraz pułapek na owady. Można również testować bufor wystawiony na działanie powietrza. W pracowniach nematologii można zapobiegać kontaminacji drogą stosowania zwykłych środków higieny.

Szczególne wskazówki w zakresie monitoringu kontaminacji bakteriami i grzybami

W każdym z monitorowanych obszarów należy wystawić na określony czas (zaleca się 30 minut), na działanie zanieczyszczeń powietrza, najlepiej trzy płytki do metody sedymentacyjnej, następnie je zamknąć i inkubować przez 3 dni (w temperaturze 30°C) do

5 dni (w temperaturze pokojowej). Płytki kontaktowe powinny być wyłożone na monitorowanych powierzchniach na 15 sekund (jest to zalecany czas), zamknięte i inkubowane jak wyżej.

Liczbę jednostek tworzących kolonie (cfu) na płytkę należy zapisać i utrzymywać na określonym poziomie, np. < 15 cfu/płytkę w standardowym środowisku laboratorium. Akceptowalny poziom cfu/płytkę/powierzchnię powinien zostać określony przez laboratorium stosownie do prowadzonych badań i specjalnych wymagań środowiskowych (np. czyste pomieszczenia). Monitoring warunków środowiska powinien być udokumentowany, działania korygujące opisane, w razie potrzeby przeprowadzone oraz ujęte w zapisach. W razie potrzeby powinno się zintensyfikować czyszczenie oraz, po przeprowadzeniu działań korygujących, pobrać nowe próbki.

Załącznik 2

Wzorcowanie i sprawdzanie

1. Wzorcowanie zewnętrzne i sprawdzenia

Informacje podane w tabeli 1 należy traktować jako wytyczne, a częstotliwość należy określić na podstawie przeznaczenia, rodzaju wyposażenia i wcześniejszego jego zachowania się (w szczególności w odniesieniu do odchyień obserwowanych pomiędzy wzorcowaniami).

2. Sprawdzanie działania

Informacje podane w tabeli 2 należy traktować jako wytyczne, a częstotliwość należy określić na podstawie przeznaczenia, rodzaju wyposażenia i wcześniejszego zachowania się. Częstotliwość monitorowania powinna być dostosowana do warunków w laboratorium, przy czym powinna być ona większa na początku, a następnie odpowiednio dostosowywana w oparciu o zidentyfikowane ryzyko.

Tabela 2. Wytyczne w zakresie sprawdzania wyposażenia

Rodzaj wyposażenia	Zalecenia	Sugerowana częstotliwość
Urządzenia z kontrolowaną temperaturą (inkubatory, łaźnie wodne, lodówki, zamrażarki, lejki Berlesa, płyty do suszenia preparatów itp.)	a) badanie stabilności i jednorodności temperatury b) monitorowanie temperatury	a) przed rozpoczęciem użytkowania oraz po naprawie/modernizacji b) codziennie/przed każdym użyciem
Termocyklery	sprawdzanie sprawności	raz w roku
Termometry i termopary robocze	sprawdzenie w stosunku do termometru odniesienia w punkcie topnienia lodu i/lub w zakresie temperatury roboczej	raz w roku
Sterylizatory	a) badanie stabilności i jednorodności temperatury b) monitorowanie temperatury	a) przed rozpoczęciem użytkowania oraz po naprawie/modernizacji b) każdorazowo przy użyciu
Autoklawy (do niszczenia)	a) ustalenie parametrów typowych obciążeń/cykli b) monitorowanie temperatury/czasu	a) przed rozpoczęciem użytkowania oraz po naprawie/modernizacji b) każdorazowo przy użyciu
Komory bezpiecznej pracy	a) sprawdzenie działania b) monitorowanie mikrobiologiczne c) monitorowanie przepływu powietrza	a) przed rozpoczęciem użytkowania oraz po naprawie/modernizacji b) raz w tygodniu c) raz w roku (serwis)
Komory laminarne	a) sprawdzenie działania b) sprawdzenie z użyciem płytek i wymazów	a) przed rozpoczęciem użytkowania oraz po naprawie/modernizacji b) raz w tygodniu
Komory wzrostu	a) monitorowanie temperatury, wilgotności i oświetlenia b) monitorowanie występowania owadów z użyciem pułapek lepowych	a) każdorazowo przy użyciu b) raz w tygodniu
Pehametry	regulacja z użyciem co najmniej dwóch buforów	codziennie/przed każdym użyciem
Wagi	sprawdzanie w punkcie zerowym i odczyt z użyciem odważnika wzorcowego	codziennie/każdorazowo przed użyciem

Odważniki wzorcowe	sprawdzenie z użyciem odważnika wzorcowanego lub na wadze bezpośrednio po wzorcowaniu, z zachowaniem spójności pomiarowej	raz w roku
Destylarki, dejonizatory i zestawy do odwróconej osmozy	a) sprawdzenie przewodności b) sprawdzanie zanieczyszczenia mikrobiologicznego	a) codziennie b) raz w miesiącu, jeśli woda poddawana zabiegowi lub produkt końcowy zawierający taką wodę nie są sterylizowane w autoklawie ani filtrowane
Aparaty do wagowego rozcieńczania	a) sprawdzenie masy dozowanej objętości wagowej (wagi) b) sprawdzenie stopnia rozcieńczenia	a) codziennie b) raz w miesiącu
Automatyczne urządzenia do przygotowywania pożywek	sprawdzenie sterylności z użyciem wskaźników chemicznych lub biologicznych	zgodnie z zaleceniami producenta
Pipety	sprawdzenie dokładności, wierności i precyzji dozowanej objętości	regularnie (do określenia, biorąc pod uwagę częstotliwość i rodzaj zastosowania oraz w zależności od obserwowanych odchyleń)
Urządzenia do posiewu spiralnego	a) porównanie wyników do metody płytkowej b) sprawdzenie stanu iglicy na początku i na końcu c) sprawdzenie dozowanej objętości	a) przed rozpoczęciem użytkowania i raz w roku b) codziennie/przy każdym użyciu c) raz w miesiącu
Liczniki kolonii	porównanie z wynikiem uzyskanym metodą ręczną	raz w roku
Urządzenia do hodowli beztlenowej	sprawdzenie z użyciem wskaźnika anaerobowego	każdorazowo przed użyciem
Środowisko laboratorium (mikrobiologiczne)	monitorowanie pod kątem zanieczyszczeń mikrobiologicznych powietrza i powierzchni z użyciem np. próbników powietrza, metody sedimentacyjnej, płytek kontaktowych lub wymazów	raz w tygodniu
Środowisko laboratorium (entomologiczne)	monitorowanie pod kątem występowania owadów z użyciem pułapek lepowych	co dwa tygodnie

Załącznik 3

Wyposażenie – procedury identyfikacji i oznakowywania

W niniejszym przykładowym dokumencie sugeruje się informacje umożliwiające jednoznaczną identyfikację wyposażenia.

Procedura identyfikacji

Każdy element wyposażenia powinien być identyfikowany na podstawie niepowtarzalnego kodu, co powinno być zapisane w specjalnym rejestrze. Można stosować różne metody kodowania. Poniżej przedstawiono dwie metody:

- Kod identyfikacyjny składa się z 5 znaków alfanumerycznych: 3 pierwsze litery odnoszą się do rodzaju wyposażenia, 2 kolejne wskazują na numer seryjny.

Przykład: BAL02 oznacza drugą (02) wagę (BAL, ang. balance) w laboratorium.

Główną zaletą tego sposobu kodowania jest to, że kod wskazuje na rodzaj wyposażenia, którego dotyczy.

- Materiał jest identyfikowany na podstawie niepowtarzalnego specjalnego numeru seryjnego. Przykład: materiał n°250, cokolwiek go stanowi, jest 250 materiałem zarejestrowanym i zidentyfikowanym w laboratorium.

Chociaż system ten jest bardzo łatwy do stosowania, nie jest możliwe wywnioskowanie rodzaju wyposażenia na podstawie jego numeru.

Procedura oznakowywania

Każdy element wyposażenia powinien być oznakowany w sposób trwały niepowtarzalnym kodem. Kodu nie wolno zmieniać ani usuwać.

Dlatego też, często sugeruje się wytrawienie kodu na wyposażeniu. Kod powinien być umieszczony w takim miejscu, by można było go łatwo odczytać bez przemieszczania wyposażenia. W przypadku wytrawiania kodu należy zachować ostrożność, by nie uszkodzić wyposażenia.

Na tymczasowej etykiecie można również umieścić datę następnego wzorcowania i konserwacji.

Załącznik 4

Wytyczne odnośnie konserwacji wyposażenia i utrzymania warunków środowiska

Informacje podane w tabeli 3 należy traktować jako wytyczne, a częstotliwość należy określić na podstawie przeznaczenia, rodzaju wyposażenia i jego zachowania się.

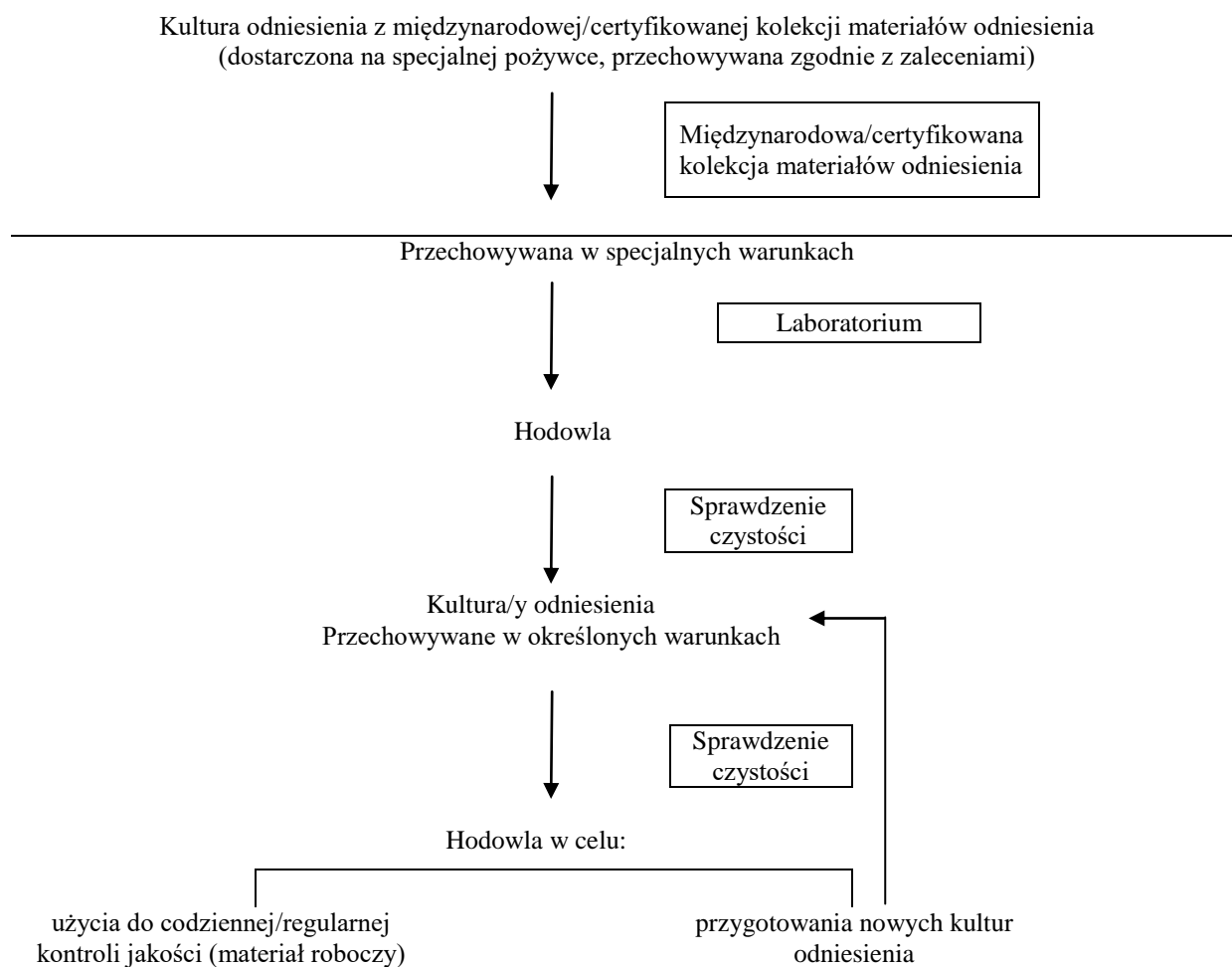
Tabela 3. Wytyczne odnośnie konserwacji wyposażenia i środowiska

Rodzaj wyposażenia	Zalecenia	Sugerowana częstotliwość
Inkubatory (na potrzeby mikrobiologii)	czyszczenie i dezynfekcja powierzchni wewnętrznych	raz w miesiącu
Inkubatory (do innych celów niż mikrobiologiczne)	czyszczenie i dezynfekcja powierzchni wewnętrznych	co 3 miesiące
Lodówki, zamrażarki, suszarki	czyszczenie i dezynfekcja powierzchni wewnętrznych	raz w roku
Wirówki	a) serwis b) mycie i dezynfekcja	a) raz w roku b) po każdym użyciu
Autoklawy	a) sprawdzenie wzrokowe uszczelki, czyszczenie/i osuszenie komory b) pełny serwis c) sprawdzenie bezpieczeństwa zbiornika ciśnieniowego	a) regularnie, zgodnie z zaleceniami producenta b) raz w roku c) raz w roku
Komory bezpiecznej pracy	pełny serwis i sprawdzanie mechaniczne	raz w roku
Komory laminarne	serwis i sprawdzanie mechaniczne	zgodnie z zaleceniami producenta
Mikroskopy	a) czyszczenie i pełna konserwacja w ramach serwisu b) sprawdzenie podziałki mikrometrycznej	a) raz w roku b) co 6 miesięcy
Pehametry	czyszczenie elektrody	każdorazowo przy użyciu
Wagi, aparaty do wagowego rozcieńczania	a) czyszczenie b) serwis	a) każdorazowo przy użyciu b) raz w roku
Destylarki	czyszczenie i usuwanie kamienia kotłowego	stosownie do potrzeb (np. co 3 miesiące)
Dejonizatory i zestawy do odwróconej osmozy	wymiana wkładu/membrany	zgodnie z zaleceniami producenta
Urządzenia do hodowli beztlenowej	czyszczenie/dezynfekcja	po każdym użyciu
Dozowniki żywności, urządzenia do odmierzania objętości, pipety i sprzęt ogólnego użytku	odkażanie, czyszczenie i sterylizacja, w zależności od potrzeb	każdorazowo przy użyciu
Urządzenia do posiewu spiralnego	a) serwis b) odkażanie, czyszczenie i sterylizacja	a) raz w roku b) każdorazowo przy użyciu
Miksery/mieszarki	czyszczenie	każdorazowo przy użyciu
Termocyklery	serwis ogólny	raz w roku
Komory wzrostu	czyszczenie	po każdym użyciu
Lejki Berlesa	czyszczenie	każdorazowo przy użyciu
Płyty do suszenia preparatów	czyszczenie	raz w tygodniu
Laboratorium	a) czyszczenie i dezynfekcja powierzchni roboczych b) czyszczenie i dezynfekcja podłóg, zlewów i umywalek c) czyszczenie i dezynfekcja pozostałych powierzchni	a) codziennie i w trakcie użytkowania b) raz w tygodniu c) co 3 miesiące

Załącznik 5

Utrzymywanie kultur odniesienia (bakterie, grzyby itp.) pozyskanych z kolekcji materiałów odniesienia

- Wszystkie etapy procesu zaprezentowanego na schemacie 1 powinny być w pełni udokumentowane oraz powinny być prowadzone i zachowywane szczegółowe zapisy.
- Niedozwolone jest stosowanie materiału odniesienia wyprodukowanego w laboratorium jako referencyjnej kolekcji międzynarodowej/certyfikowanej.



Załącznik 6**Proponowany wzór formularza identyfikacji próbki****Formularz rejestracyjny próbki**

Niniejszy przykładowy formularz pozwala na anonimowe śledzenie próbek lub serii próbek w laboratorium. Grupa próbek może być zapisywana jako jedna seria, jeśli próbki przekazane były przez tego samego klienta, pochodzą z tej samej rośliny lub części rośliny i będzie na nich wykonywana ta sama analiza.

Kod identyfikacyjny grupy próbek: (o ile jest właściwe)	
Gatunek rośliny:	Rodzaj produktu przekazanego do badania (np. część rośliny, wyizolowany agrofag):
Badanie zlecone przez klienta:	
Nazwisko osoby przyjmującej/rejestrującej próbkę:	Data przyjęcia/ zarejestrowania próbki:

Uwagi (np. pilne ...)

Kody identyfikacyjne próbki	
Laboratoryjny kod identyfikacyjny (niepowtarzalny kod próbki, nadany w laboratorium)	Kod identyfikacyjny nadany przez klienta (niepowtarzalny kod identyfikacyjny próbki, nadany przez klienta,)

Wykonane badania	
Protokoły badawcze (stosowane w laboratorium)	Data i podpis (wykonawcy badania odpowiedzialnego za wybór właściwego protokołu badawczego)

Sprawozdanie z badań wysłane	Data i podpis (osoby odpowiedzialnej za wykonanie badania)
------------------------------	---

