



ATC

АКРЕДИТАЦИОНО ТЕЛО СРБИЈЕ

АТС-УП 27

**СМЕРНИЦЕ ЗА ПРИМЕНУ  
SRPS ISO/IEC 17025:2017  
ПРИ ОЦЕЊИВАЊУ И АКРЕДИТАЦИЈИ  
ЛАБОРАТОРИЈА КОЈЕ ОБАВЉАЈУ  
МИКРОБИОЛОШКА ИСПИТИВАЊА**

*Овај документ је важећи и без потписа особа које су преиспитале и одобриле документ.*



## 1. ПРЕДМЕТ И ПОДРУЧЈЕ ПРИМЕНЕ

Овај документ даје неопходна објашњења за примену SRPS ISO/IEC 17025:2017, Општи захтеви за компетентност лабораторија за испитивање у поступку акредитације - оцењивања лабораторија које обављају микробиолошка испитивања.

Документ допуњује SRPS ISO/IEC 17025:2017 пружајући посебне смернице, како за оцењиваче Акредитационог тела Србије (АТЦ), тако и за све врсте лабораторија које се баве микробиолошким испитивањима, а које се акредитују од стране Акредитационог тела Србије (у даљем тексту: АТЦ). Упутство је применљиво за извођење свих циљаних испитивања, рутинских, нерутинских или оних која су део истраживања и развоја.

Овај документ је написан на основу документа EA-04/10 - Accreditation for Microbiological Laboratories, који је састављен од стране EURACHEM-а и лабораторијског комитета Европске организације за акредитацију (EA LC), а као начин на који лабораторијама које обављају микробиолошка испитивања може да олакша усклађивање са захтевима за акредитацију кроз боље разумевање одредби, како стандарда за акредитацију, тако и секторских стандарда, уколико се исти примењују.

## 2. РЕФЕРЕНТНА ДОКУМЕНТА, ТЕРМИНИ И ДЕФИНИЦИЈЕ, СКРАЋЕНИЦЕ

Референтна документа:

- SRPS ISO/IEC 17025:2017, Општи захтеви за компетентност лабораторија за испитивање и лабораторија за еталонирање;
- EA - 4/10 G: 2002, Accreditation for Microbiological Laboratories, повучен 02.06.2014. године;
- SRPS EN ISO 7218:2008, Микробиологија хране и хране за животиње - Општа правила за микробиолошка испитивања, SRPS EN ISO 7218:2008/A1:2014 Микробиологија хране и хране за животиње — Општи захтеви и упутство за микробиолошка испитивања — Измена 1;
- SRPS EN ISO 11133:2015, Микробиологија хране, хране за животиње и воде — Припремање, производња, чување и испитивање перформанси подлога за културу, SRPS EN ISO 11133:2015/A1:2018 Микробиологија хране, хране за животиње и воде — Припремање, производња, чување и испитивање перформанси подлога за културу — Измена 1, SRPS EN ISO 11133:2015/A2:2020 Микробиологија хране, хране за животиње и воде — Припремање, производња, чување и испитивање перформанси подлога за културу — Измена 2;
- SRPS EN ISO 16140-1:2016, Микробиологија ланца хране – Валидација методе – Део 1: Речник
- SRPS EN ISO 16140-2:2016, Микробиологија ланца хране – Валидација методе – Део 2: Протокол за валидацију алтернативних (заштићених) метода у односу на референтну методу;
- ISO VIM: 1993, International vocabulary of basic and general terms in metrology.



Термини и дефиниције:

Поред термина дефинисаних у наведеним референтним документима, у овом документу користе се и термини са следећим значењем:

### **Граница одређивања**

Примењује се на квантитативне микробиолошке тестове - најмањи број микроорганизама у оквиру дефинисане варијабилности који може бити одређен под експерименталним условима методе која се оцењује.

### **Граница детекције**

Примењује се на квалитативне микробиолошке тестове - најмањи број микроорганизама који може бити откривен, али у броју који не може бити прецизно процењен.

### **Негативно одступање**

Јавља се када алтернативна метода даје негативан резултат који није потврђен, док референтна метода даје позитиван резултат. Ово одступање се претвара у лажно негативни резултат када може да се докаже да је позитиван резултат тачан.

### **Позитивно одступање**

Јавља се када алтернативна метода даје позитиван резултат који није потврђен, док референтна метода даје негативан резултат. Ово одступање се претвара у лажно позитивни резултат када може да се докаже да је негативан резултат тачан.

### **Референтне културе**

Заједнички израз за референтне сојеве, референтне залихе и радне културе.

### **Референтни сојеви**

Микроорганизми дефинисани на нивоу врста и родова, наведени и описани у складу са својим карактеристикама и по могућству са подацима о пореклу [ISO 11133]. Нормално се прибављају из признатих националних или међународних колекција.

### **Референтна метода**

Потпуно испитана метода која јасно и прецизно описује неопходне услове и процедуре за мерење вредности једне или више особина, за коју је доказано да има тачност и прецизност која одговара њеној намераваној употреби и да управо због тога може бити коришћена за процену тачности осталих метода за исто мерење, посебно у области карактеризације референтног материјала. Обично је то национална или међународна стандардна метода.

### **Референтне залихе**

Скуп издвојених идентичних култура добијен једним пресејавањем културе из референтног соја. [ISO 11133]

### **Релативна тачност**

Степен слагања резултата добијених методом која се оцењује са онима добијеним употребом признате референтне методе.

### **Специфичност**

Део укупног броја негативних култура или колонија правилно додељених приликом испитивања истинитости.



## **Радна култура**

Примарна подкултура из референтне залихе [ISO 11133].

*Напомена:*

За молекуларне методе дијагностике различитих инфекција код животиња као што су: PCR, RT-PCR, real time PCR, real time RT-PCR, стандардном методом се сматра метода довољно детаљно описана у ОИЕ стандарду (детаљно описана процедура извођења, уз навођење прајмера и проба које се користе за извођење методе). У овом случају, лабораторија је у обавези да изврши верификацију методе. У случају да у методи наведеној у ОИЕ стандарду процедура није прецизно и детаљно описана, метода се сматра документованом, и врши се валидација, и то са најмање 10 узорака.

За документоване методе које се користе приликом извођења молекуларних метода могу се користити процедуре само из радова објављених у водећим научним часописима који су наведени у оквиру ОИЕ стандарда (који дефинише дијагностику). Изузетак су методе описане у методолошким научним радовима који су прихваћени као техничка решења или патенти.

## **3. ПРИМЕНА SRPS ISO/IEC 17025:2017 У ОБЛАСТИ МИКРОБИЛОШКИХ ИСПИТИВАЊА**

### **3.1 Особље, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 6.2**

- 3.1.1** Микробиолошка испитивања треба да спроводи или да над истим обавља надзор искусна особа са квалификацијама микробиолога или еквивалентним квалификацијама. Алтернативне квалификације могу испуњавати захтеве уколико особље поседује значајно релевантно искуство за испитивања из обима акредитације лабораторије. Особље које обавља лабораторијске активности мора да докаже своју компетентност кроз образовање, квалификације, обуке, техничко знање, вештине и искуство. Посебни национални прописи имају предност у односу на смернице дате у овом документу.
- 3.1.2** Уколико лабораторија у своје извештаје укључује мишљење и тумачења резултата испитивања, иста треба да дају овлашћена лица са одговарајућим искуством и потребним познавањем специфичне примене тих резултата, укључујући захтеве регулативе, технолошке захтеве као и критеријуме прихватљивости.
- 3.1.3.** Руководство лабораторије мора обезбедити адекватну обуку, интерну или екстерну, за све запослене ради компетентног спровођења испитивања и рада са опремом. Ово треба да укључи обуку за рад основним техникама (разливање подлога, бројање колонија, асептичне технике, итд.) са прихватљивошћу која је одређена коришћењем објективних критеријума. Особље може обављати испитивања на узорцима уколико је стекло компетентност за то или уколико то обавља под одговарајућим надзором. Компетентност треба објективно пратити и документовати у циљу утврђивања потребе за поновном обуком, тамо где је то неопходно. Када се метода или техника не користе редовно, потврда компетентности особља пре испитивања може бити неопходна. Критични интервал између извођења два испитивања мора да буде успостављен и документован. Тумачење резултата испитивања (идентификација и верификација микроорганизама) је повезано са искуством особља и треба га редовно пратити .
- 3.1.4.** У неким случајевима подесније је проверавати компетентност у вези са одређеном техником или опремом него са методама.



## 3.2. Околина, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 6.3

### 3.2.1 Просторије

**3.2.1.1** Лабораторија обухвата просторије за испитивање (просторије у којима се спроводе одређена микробиолошка испитивања и њима придружене активности) и помоћне просторије (улази, ходници, административни блокови, гардеробе и тоалети, складишта, архивске просторије, итд.). Уопштено говорећи, постоје посебни захтеви за околину када се ради о просторијама за испитивање.

У зависности од врсте испитивања која се врше, приступ микробиолошкој лабораторији би требало да буде ограничен само на овлашћено особље. У лабораторијама код којих постоје таква ограничења, особље треба да буде свесно:

- (а) предвиђене употребе одређеног простора;
- (б) ограничења која за собом повлачи рад у тим просторима;
- (в) разлога за увођење таквих ограничења;
- (г) одговарајућих заштитних нивоа.

**3.2.1.2** Лабораторија треба да буде уређена на начин који ће свести на минимум ризик од међузагађења, тамо где је то од значаја за врсту испитивања које се врши. Начини на који се овај циљ може остварити су на пример:

- (а) изградња лабораторије према принципу једносмерног кретања узорака;
- (б) спровођење процедура по одређеном редоследу уз примену мера предострожности како би се обезбедио интегритет испитивања и узорка (нпр. коришћење запечаћених контејнера);
- (в) подела активности по времену или простору.

**3.2.1.3** Добром праксом се уопштено сматра постојање одвојених локација, или јасно одређених простора за следеће:

- пријем узорака и складишни простор;
- припрема узорака (нпр. треба користити изоловану локацију за припрему прашкастих производа који могу бити веома загађени);
- испитивање узорака, укључујући инкубацију;
- одржавање референтних организама;
- руковање прелиминарно о карактерисаним патогенима;
- складиштење хранљивих подлога и реагенса;
- припрема подлога и опреме укључујући стерилизацију;
- оцена стерилности;
- деконтаминацију;
- прање стакленог посуђа и остале опреме и
- складиштење опасних хемикалија.

Простори за прање (након деконтаминације) могу се делити са осталим деловима лабораторије при чему треба применити неопходне мере предострожности како би се спречило преношење материја које би негативно утицале на микробни раст. Одлуку о



физичком одвајању простора треба донети на основу активности специфичних за дату лабораторију (нпр. број и врста испитивања која се врше).

Лабораторијску опрему не треба рутински премештати између простора, како би се избегло ненамерно међузагађење простора. У лабораторији за молекуларну биологију, одређене пипете, наставци, центрифуге, епрувете итд. треба поставити у сваком радном простору (ниска - средња – висока ДНК радна околина).

**3.2.1.4** Сви радни простори треба да буду довољно пространи како би били одржавани чистим и уредним. Неопходан простор треба да буде одговарајући обиму испитивања и у складу са свеукупном интерном организацијом лабораторије. Простор треба да испуњава захтеве националних прописа, уколико такви постоје.

**3.2.1.5** Радне просторије морају имати одговарајућу вентилацију и температуру. Ово се може постићи природном или вештачком вентилацијом или употребом клима уређаја. У климатизованим просторијама се морају користити одговарајући филтери, који се морају контролисати, одржавати и мењати у зависности од врсте посла који се обавља у просторији.

**3.2.1.6** Смањење загађења се може постићи:

- постојањем глатких површина зидова, плафона, подова и клупа (глаткоћа површине се одређује према томе колико је лако очистити дату површину). Платна нису препоручљива као материјал за прекривање клупа;
- постојањем спојних лајсни између подова, зидова и плафона;
- минималним отварањем прозора и врата током обављања испитивања;
- постојањем ролетни које су постављене са спољне стране;
- лаким приступом унутрашњим ролетнама приликом чишћења, уколико је немогуће да се поставе са спољне стране;
- постојањем цеви за одвод течности које не прелазе изнад радних површина, уколико нису смештене у херметички затворене рамове;
- постојањем вентилационог система са отвором за ваздух са филтером за прашину;
- постојањем одвојених уређаја за прање руку, по могућству не оних којима се ручно управља;
- постојањем ормана од пода до плафона;
- некоришћењем необрађеног и незаштићеног дрвета;
- постојањем дрвених површина уређаја и апарата које су адекватно заптивене;
- складиштењем предмета и опреме организованим на начин који омогућава лако чишћење;
- непостојањем намештаја, докумената или других предмета осим оних који су неопходни за испитивања.

Наведени списак није детаљан, и сви примери се неће примењивати у свакој ситуацији. Плафони би у идеалном случају требало да имају глатку површину са добрим осветљењем. У случају да ово није могуће (код просторија са спуштеним плафонима и висећим светлима) лабораторија треба да поседује документоване доказе



да контролише ризике по хигијену који из овога произилазе, као и да поседује ефективна средства за превазилажење тих ризика, нпр. програм за контролу и чишћење површина.

**3.2.1.7** Када у лабораторији постоје просторије за производњу, запослени морају бити свесни могућности њиховог загађивања и морају доказати да су предузели одговарајуће мере како би избегли појаву загађивања.

### **3.2.2 Праћење околине**

**3.2.2.1** Потребно је формирати одговарајући програм праћења околине, укључујући, на пример коришћење контроле микробиолошког квалитета ваздуха и узимање брисева са површина. Треба одредити граничне вредности прихватљивости и успоставити документовану процедуру за решавање ситуација у којима су ове границе пређене. Анализа података би требала да омогући одређивање тренда нивоа загађења.

### **3.2.3 Хигијена**

**3.2.3.1** Потребно је формирати документовани програм чишћења лабораторијских уређаја, опреме и површина. Овај програм треба да узме у обзир резултате праћења околине и могућност појаве међузагађења. Такође, треба успоставити процедуру за решавање проблема расутог (отпадног) материјала.

**3.2.3.2** Требало би предузети мере како би се избегло скупљање прашине, обезбеђењем довољног складишног простора, минимумом рада са папирима у лабораторији и забраном држања биљака и предмета личне својине у радном простору лабораторије.

**3.2.3.3** У микробиолошкој лабораторији треба носити одговарајућу одећу (укључујући уколико је неопходно, заштиту за косу, браду, руке, ципеле, итд.) која је у складу са испитивањима која се обављају и коју треба скинути пре напуштања простора. Ово је посебно важно у лабораторији за молекуларну биологију где на пример кретање из простора високе концентрације ДНК у неки од простора са ниском концентрацијом ДНК може довести до међузагађења. У многим лабораторијама лабораторијски мантил може бити довољан.

**3.2.3.4** Адекватна опрема за прање руку мора бити обезбеђена, као и успостављена употреба заштитних рукавица у циљу спречавања ширења контаминације.

## **3.3. Валидација метода испитивања, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 7.2**

**3.2.4** Валидација микробиолошких метода испитивања треба да одражава стварне услове испитивања и иста се врши у складу са стандардом EN ISO 16140.

**3.2.5** Квалитативне микробиолошке методе испитивања, као што су оне где су резултати изражени у облику откривено/неоткривено и процедуре потврђивања и идентификације, треба валидовати, уколико је то одговарајуће, одређивањем специфичности, релативне тачности, позитивне девијације, негативне девијације, границе детекције, ефекта матрикса, поновљивости и репродуктивности.

**3.2.6** За квантитативне микробиолошке методе испитивања треба узети у обзир специфичност, осетљивост, релативну тачност, позитивну девијацију, негативну девијацију, поновљивост, репродуктивност и границе одређивања, у оквиру дефинисане варијабилности и уколико је неопходно, квантитативно одређивање у оквиру испитивања. Разлике које се јављају код различитих матрикса треба узети у



обзир приликом испитивања различитих врста узорака. Резултате треба вредновати употребом одговарајућих статистичких метода.

**3.2.7** Лабораторије морају да чувају податке валидације комерцијалних тестова (китова) који се користе у лабораторији. Ови подаци валидације се могу добити путем међулабораторијских испитивања и из података валидације достављених од стране произвођача и треће стране. Уколико подаци валидације нису доступни или нису у потпуности применљиви лабораторија је одговорна за комплетирање валидације метода.

**3.2.8** Чак и када је валидација комплетна, лабораторија ће ипак морати да редовно проверава да ли документоване перформансе могу бити постигнуте, нпр. употребом спајкованих узорака односно референтних материјала, укључујући релевантне матриксе.

### **3.3 Опрема - одржавање, еталонирање и верификација њених перформанси, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачке 6.4 и 6.5**

Од лабораторије се тражи да део њеног система менаџмента квалитета буде спровођење документованог програма за одржавање, еталонирање и верификацију перформанси опреме.

#### **3.3.1 Одржавање**

(Упутство за одржавање опреме се може наћи у ISO 7218)

**3.3.1.1** Одржавање битне опреме мора да се врши у тачно одређеним интервалима који су одређени факторима, као што је учесталост коришћења опреме. Детаљни записи о одржавању морају да се чувају. Примери одржавања опреме и интервала одржавања су дати у Прилогу 4 ових Смерница.

**3.3.1.2** Треба обратити пажњу на избегавање међузагађења које може настати преко опреме, нпр:

- расположиву опрему треба чистити и стерилисати, кад год је то могуће;
- поновно коришћену стаклену опрему требало би правилно очистити и стерилисати, кад год је то могуће;
- у идеалном случају, лабораторије би требало да поседују одвојен аутоклав за деконтаминацију. Коришћење једног аутоклава је прихватљиво само уколико су предузете одговарајуће мере предострожности за раздвајање деконтаминације и стерилизације уз примену документованог програма за чишћење унутрашње и спољашње околине аутоклава.

**3.3.1.3** Следећи делови опреме ће бити одржавани чишћењем и сервисирањем, контролисањем оштећења, општом верификацијом и тамо где је потребно, стерилисањем:

- заједничка сервисна опрема - апарати за филтрирање, стаклени или пластични контејнери (боце, епрувете за испитивање), стаклене или пластичне Петри шоље, инструменти за узорковање, жице или езе од платине, никл/хрома или пластике за једнократну употребу;
- водена купатила, инкубатори, микробиолошки кабинети, аутоклави, хомогенизатори, фрижидери, замрзивачи;





- волуметријска опрема - пипете, аутоматски диспензори, аутоматски апарати за подлоге и
- мерни инструменти - термометри, тајмери, ваге, рН метри, бројачи колонија.

### 3.3.2 Еталонирање и верификација перформанси

**3.3.2.1** Лабораторија мора успоставити програм за еталонирање и верификацију перформанси опреме која има директан утицај на резултате испитивања. Учесталост еталонирања и верификације рада ће бити одређена на основу документованог искуства и биће заснована на потребама, врсти и претходном раду опреме. Временски интервал између еталонирања и верификације мора да буде краћи од времена за које опрема почиње да одступа од прихватљивих граница. Периоди еталонирања се приспитују и прилагођавају како би се одржало поверење у статус еталонирања. Примери интервала еталонирања и верификације перформанси за различите лабораторијске инструменте су дати у Прилозима 3 и 4 ових Смерница.

#### 3.3.2.2 Мерила температуре

- У случајевима где температура има директан утицај на резултат анализе или је кључна за правилан рад опреме, мерила температуре, нпр. термометри уроњени у течност, термометри са термоелементом и термометри са платином (PRTs) који се користе у инкубаторима и аутоклавима морају бити одговарајућег квалитета како би остварили тражену прецизност. Препоручује се да се из здравствених и базбедносних разлога у лабораторији не користе стаклени термометри са течношћу.
- Еталонирање мерила мора да буде следиво до националних и међународних еталона за температуру. Тамо где тачност дозвољава, могу се користити мерила за које се може доказати да су усаглашена са одговарајућом спецификацијом прихваћеном на националном или међународном нивоу. Таква мерила могу бити употребљавана нпр. за праћење рада фриждера и замрзивача за складиштење као и код инкубатора и водених купатила, када је то дозвољено прихватљивом толеранцијом око циљане температуре. Верификација перформанси таквих мерила је неопходна.

#### 3.3.2.3 Инкубатори, водена купатила, пећи

Стабилност температуре, уједначеност распрострањености температуре и време неопходно за постизање уједначених услова у инкубаторима, воденим купатилима, пећима и собама са контролисаном температуром треба да буду почетно успостављени и документовани за уобичајено коришћење (нпр. у односу на положај, раздаљину, висину наслаганих Петри шоља). Константност перформанси забележених током почетне валидације опреме треба проверавати и бележити после сваке значајније поправке или модификације.

Лабораторије треба да прате радну температуру за опрему ове врсте и да чувају забележене резултате.

#### 3.3.2.4 Аутоклави, укључујући апарате за припрему подлога

У наставку је наведен опште очекивани приступ еталонирању и успостављању праћења перформанси опреме. Ипак, евидентно је да квантитативно испитивање материјала и предмета који се аутоклавирају показују значајне варијације између лотова те се на овај начин може додатно обезбедити квалитет.



- (а) Аутоклави би требало да буду у могућности да остваре задату временску и температурну толеранцију. Кохови лонци који имају само калибратор притиска нису подесни за употребу. Сензори који се користе за контролисање или праћење радних циклуса морају да се еталонирају, а карактеристике тајмера морају бити верификоване.
- (б) Почетна валидација би требала да обухвати испитивање карактеристика (испитивање просторног распрострањања температуре) за сваки радни циклус и сваку конфигурацију пуњења која се користи у пракси. Овај процес треба поновити после сваке значајне поправке или модификације (нпр. замена терморегулационе сонде или програматора, подешавање пуњења, радни циклус) или када је то индиковано резултатима контроле квалитета у вези провере подлога. Довољан број температурних сензора треба поставити унутар пуњења (нпр. у контејнерима напуњеним са течномшћу/подлогом) како би се омогућило откривање разлика на различитим локацијама. Када се ради о апаратима за припрему подлога где уједначено грејање, не може бити приказано другим средствима, коришћење два сензора, једног при контролној сонди и другог удаљеног од првог се у принципу сматра одговарајућим. Почетна валидација и поновна валидација требало би да се раде у време подизања и спуштања температуре, као и при достигнутој стерилизационој температури.
- (в) Треба обезбедити јасна упутства за рад заснована на профилима грејања одређеним за уобичајено коришћење током валидације/ревалидације. Треба одредити критеријуме за прихватање/одбијање и одржавати за сваки циклус забележене резултате рада аутоклава укључујући температуру и време.
- (г) Праћење се може остварити на један од следећих начина:
  - (i) коришћењем термопара и писача за израду дијаграма и његово штампање;
  - (ii) директним посматрањем и бележењем постизања максималне температуре и времена одржавања те температуре.

Поред директног праћења температуре аутоклава, ефективност његовог рада током сваког циклуса може бити проверена коришћењем хемијских или биолошких индикатора стерилизације/деконтаминације (а обавезно периодично). Траку из аутоклава или траку са индикаторима би требало користити само да би се показало да је пуњење обрађено, а не да би се доказало да је одговарајући циклус комплетиран.

### 3.3.2.5 Тегови и ваге

Тегове и ваге треба еталонирати у редовним временским интервалима (у складу са њиховим намераваним коришћењем).

### 3.3.2.6 Волуметријска опрема

- (а) Волуметријска опрема као што су аутоматски диспензери, диспензери/дилутори, механичке пипете и пипете за једнократну употребу могу се користити у микробиолошкој лабораторији. Лабораторије би требало да изврше почетну верификацију волуметријске опреме и да након тога врше редовне провере како би се осигурале да опрема ради у складу са задатим спецификацијама. Верификација није неопходна за стаклено лабораторијско посуђе које је сертифициковано за задате толеранције. Опрему треба проверавати поређењем прецизности-поређењем испипетиране запремине наспрам подешене запремине



(за неколико различитих подешавања у случају инструмената са променљивим обимом) и мерењем прецизности поновљених пипетирања.

- (б) Волуметријска опрема за једнократну употребу треба да има одговарајући сертификат произвођача о квалитету. Компанија која се бави производњом овакве лабораторијске опреме би требала да има потврђен систем квалитета у производњи.

Када се волуметријска опрема набавља од добављача који послује по признатом релевантном систему менаџмента квалитетом, провера волуметријске опреме се ради на почетку коришћења опреме и методом случајног избора. Када се волуметријска опрема набавља од добављача који нема признати систем менаџмента квалитетом лабораторија треба да проверава поузданост за рад сваке производне партије волуметријске опреме.

Приликом набавке једнократне волуметријске опреме од сертификованог произвођача, потребно је извршити пријемно контролисање стања набављене волуметријске опреме, погодност, целовитост.

Приликом набавке једнократне волуметријске опреме од несертификованог произвођача, потребно је уз пријемно контролисање стања набављене волуметријске опреме, њене погодности целовитости, извршити и проверу тачности сваке набављене шарже опреме оваквог произвођача.

### 3.3.2.7 Остала опрема

Кондуктометре, оксиметре, рН метре и осталу сличну опрему треба редовно проверавати или проверавати пре сваке употребе. Пуфере који се користе за потребе верификације треба чувати у одговарајућим условима и на њима треба назначити рок трајања.

Тамо где је влажност важна за исход испитивања треба еталонирати хигрометре, при чему треба постићи следивост до националних и међународних еталона.

Тајмере укључујући и тајмере аутоклава треба проверавати коришћењем еталонираног тајмера или националног временског сигнала.

Када се користе центрифуге при испитивању, треба вршити процену критичне тачке центрифугалне силе. На тој критичној тачки треба извршити еталонирање центрифуге.

## 3.4 Реагенси и хранљиве подлоге, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачке 6.4 и 6.6.

### 3.4.1 Реагенси

Лабораторије морају да осигурају да квалитет реагенса који се користе одговара испитивањима за које се користе. Лабораторије би требало да потврде исправност сваке шарже реагенаса кључних за испитивања, почетно и током времена складиштења, коришћењем позитивних и негативних контролних микроорганизама који су следиви до националних или међународних колекција култура.

### 3.4.2 Интерно припремљене подлоге

3.4.2.1 Прихватљивост интерно припремљених хранљивих подлога, растварача и осталих раствора треба проверити где год је то релевантно у односу на:

- опоравак или одржавање циљних микроорганизама,



- спречавање или сузбијање нециљних микроорганизама,
- биохемијске особине (разлике и дијагностика),
- физичке особине (нпр. рН, запремина, стерилност).

Квантитативне процедуре за вредновање опоравка или преживљавања имају предност [ISO 11133].

**3.4.2.2** Ингредијенте (како комерцијалне прашкасте подлоге тако и појединачне састојке) треба чувати у одговарајућим условима, нпр. на хладном, сувом и тамном месту. Сви контејнери, посебно они за прашкасте подлоге морају бити чврсто затворени. Прашкасте подлоге чија је амбалажа оштећена или су исте промениле боју не би требало користити. Дестиловану, дејонизовану воду или воду произведену повратном осмозом, ослобођену бактерицида, инхибиторних или интерферишућих супстанци, треба користити приликом припреме осим ако методом испитивања није предвиђено другачије.

**3.4.2.3** Време складиштења припремљених подлога под унапред одређеним условима складиштења мора бити одређено и верификовано.

### **3.4.3 Подлоге спремне за употребу**

**3.4.3.1** Све подлоге (растварачи и остали раствори) које су набављене као спремне за употребу или као делимично завршене морају бити проверене пре употребе. Вредновање карактеристика опоравка или преживљавања циљних микроорганизама или сузбијање нециљних микроорганизама, треба да буде квантитативно; својства (нпр. физичке и биохемијске особине) треба вредновати коришћењем објективних критеријума.

**3.4.3.2** Као део валидације, лабораторија треба да поседује одговарајуће познавање спецификација квалитета произвођача, што се у најмању руку односи на следеће:

- Назив подлоге и списак састојака укључујући и било какве додатке;
- Време складиштења и примењене критеријуме прихватљивости;
- Услови складиштења;
- Режим пријема / фреквенцију пријема одређене врсте узорака;
- Провера стерилности;
- Провера раста коришћених циљних и нециљних контролних микроорганизама (са референцама њихових колекција култура) и критеријуми прихватљивости;
- Физичка провера и примењени критеријуми прихватљивости;
- Датум издавања спецификације.

**3.4.3.3** Пакети подлога би требало да буду такви да их је могуће идентификовати. Сваки примљени пакет треба да буде праћен доказом да испуњава спецификације квалитета. Лабораторија би требало да се осигура да ће бити обавештена о свакој промени у спецификацији квалитета подлога.

**3.4.3.4** Обезбеђење квалитета хранљивих подлога постиже се адекватним и документованим пријемним контролисањем стања новонабављених подлога (сертификат, очуваност и целовитост паковања, визуелни преглед садржаја приликом отварања), вредновањем физичких и физичко-хемијских параметара - рН вредност, боја, конзистенција, провером стерилности хранљивих подлога, као и вредновањем њихове



продуктивности, селективности и специфичности, где је примењиво [ISO 11133]. Потребно је вредновати сваку партију комплетних микробиолошких подлога, нутритивних компонената или суплемената. У већини случајева, полуквантитативне и квалитативне методе за процену раста ће задовољити захтеве испитивања перформанси подлога. У посебним случајевима, као што је нпр. вредновање нових подлога или подлога од новог произвођача, перформансе подлога треба испитати квантитативним методама [ISO 11133].

#### 3.4.4 Етикетирање

Лабораторије би требало да обезбеде да сви реагенси (укључујући и залихе раствора), подлоге, растварачи и остали раствори имају одговарајућу етикету на којој ће бити назначен назив, концентрација, услови складиштења, датум припреме, важећи рок трајања и/или препоручени рок чувања. Запис би требало да омогући идентификацију особе која је одговорна за припрему

### 3.5 Референтни материјали и референтне културе, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 6.4

#### 3.5.1 Референтни материјали

Референтни материјали омогућавају суштинску следивост мерења и користе се на пример за:

- Доказивање прецизности резултата,
- Еталонирање опреме,
- Праћење перформанси лабораторије,
- Валидацију метода и
- Омогућавање поређења метода.

Уколико је могуће, референтне материјале треба користити у одговарајућим матриксама.

#### 3.5.2 Референтне културе

**3.5.2.1** Референтне културе су неопходне за успостављање прихватљивих карактеристика подлога (укључујући китове за испитивања), за валидацију метода и за оцењивање/вредновање текућих перформанси. Следивост је неопходна нпр. код одређивања перформанси подлога за испитни кит и валидацију методе. Да би демонстрирале следивост, лабораторије морају користити референтне сојеве или микроорганизме добијене директно из признате националне или међународне колекције, уколико такви постоје. Алтернативно, комерцијални деривати за чије је особине лабораторија доказала да су са становишта употребе еквивалентни, такође могу бити коришћени.

**3.7.2.2.** Пратећи упутства дата у ISO 11133 референтни сојеви се могу једном пресејати како би се обезбедиле референтне залихе. Паралелно са овим треба обавити провере чистоће и биохемијске провере. Препоручљиво је чување референтних залиха у деловима дубоко замрзнутим или лиофилизираним. Радне културе за рутинску употребу би првенствено требало да буду подкултуре из референтних залиха (о припреми радних залиха видети Прилог 1 ових Смерница). Уколико су референтне залихе једном одмрзаване не смеју се поново замрзавати и поново користити.



**3.5.2.2** Радне залихе се не смеју подвргавати пресејавању култура уколико то није потребно и дефинисано стандардним методом или уколико лабораторије не могу да пруже документовани доказ да нема промене у било којој од релевантних особина.

**3.5.2.3** Радне залихе се неће подвргавати пресејавању култура како би замениле референтне залихе. Комерцијални деривати или референтни сојеви се могу користити само као радне културе.

### **3.6 Узорковање, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 7.3**

**3.6.1** У великом броју случајева, лабораторије за испитивање нису одговорне за примарно узорковање којим се добијају узорци за испитивање. У случајевима када врше узорковање, препоручљиво је да овакво узорковање буде покривено обезбеђењем квалитета и у идеалном случају, акредитацијом.

**3.6.2** Транспорт и складиштење треба обављати у условима у којима се одржава интегритет узорка (нпр. хладно или замрзнуто). Услове треба пратити и чувати записе. Где год је то погодно, одговорност за транспорт, складиштење у времену између узорковања и доспећа у лабораторију за испитивање треба да је јасно документована. Испитивање узорака треба обавити што је пре могуће након узорковања и спровести у складу са релевантним стандардима и/или националним/међународним прописима.

**3.6.3** Узорковање треба да обавља само обучено особље. Оно треба да буде обављено асептично употребом стерилне опреме. Услове околине на месту узорковања, на пример, загађење ваздуха и температуру треба пратити и забележити. Време узорковања такође треба забележити.

### **3.7 Руковање са узорцима и идентификација, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 7.4**

**3.7.1** Микробиолошка флора може бити осетљива на факторе као што су температура или дужина складиштења и транспортовања, тако да је важно проверити и забележити стање у којем се узорак налази у тренутку пријема од стране лабораторије.

**3.7.2** Лабораторија треба да поседује процедуре које се односе на пријем узорака и њихову идентификацију. Уколико је узорак недовољан или је у лошем стању услед физичких оштећења, неадекватне температуре, оштећеног паковања или погрешног етикетања, лабораторија треба да се консултује са клијентом пре него одлучи да ли да спроведе испитивања или да одбије узорак. У сваком случају стање узорка треба навести у извештају о испитивању.

**3.7.3** Лабораторија треба да прати и бележи све релевантне информације, а посебно следеће:

- (а) датум и где је релевантно, време пријема узорка;
- (б) стање узорка при пријему и где је неопходно температуру;
- (в) карактеристике узорковања (датум узорковања, услове узорковања, итд).

**3.7.4** Узорке који чекају на испитивање треба складиштити у одговарајућим условима како би се свеле на минимум промене на било којој од присутних микробиолошких популација. Услове складиштења треба дефинисати и забележити.



- 3.7.5** Паковања и етикете са узорака могу бити загађени и са њима треба руковати и складиштити их пажљиво како би се избегло било какво даље загађивање.
- 3.7.6** Подузорковање које лабораторија врши, а које непосредно претходи испитивању третира се као део методе испитивања. Оно треба спроводити према националним или међународним стандардима, тамо где они постоје, или према прихваћеним интерним методама. Процедуре за подузорковање треба да буду такве да могу да узму у обзир неједнаку распрострањеност микроорганизама (општа упутства дата у ISO 6887 и ISO 7218).
- 3.7.7** Мора да постоји писана процедура за задржавање и одлагање узорака. Узроке треба чувати све док се не добију резултати испитивања, или и дуже уколико је неопходно. Делове лабораторијских узорака за које се зна да су веома загађени треба деконтаминирати пре одстрањивања (видети 3.10).

### **3.8 Одлагање контаминираниог отпада**

Правилно одлагање контаминираних материјала не мора директно да утиче на квалитет анализа узорака, иако би процедуре требало осмислити тако да сведу на минимум могућност загађивања околине у којој се врши испитивање или материјала са којим се испитивање обавља. Ово је ипак предмет доброг управљања лабораторијом и исто треба ускладити са националним/међународним или здравственим и безбедоносним прописима (видети такође ISO 7218).

## **3.9 Обезбеђење валидности резултата, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 7.7**

### **3.9.1 Интерна контрола квалитета**

**3.9.1.1** Интерна контрола квалитета се састоји од свих процедура које лабораторија спроводи у циљу континуираног оцењивања свог рада. Главни циљ је обезбеђење уједначености свакодневних резултата и њихову усклађеност са дефинисаним критеријумима.

**3.9.1.2** Програм периодичних провера је неопходан како би се показало да је варијабилност (нпр. између аналитичара и између опреме или материјала итд.) под контролом. Овим програмом треба обухватити сва испитивања из обима за који је лабораторија акредитована. Програм може укључити:

- Употребу различитих обogaћених /природно контаминираних узорака/матрикса;
- Употребу референтних материјала (укључујући и материјале из ПТ и МЛИ активности);
- Испитивање у дупликату, испитивање поновљених узорака и вредновање резултата испитивања.

Временски размак између две провере ће бити одређен у зависности од концепције програма и броја актуелних испитивања. Препоручљиво је да се где год је то могуће у тестове укључе контроле које ће пратити перформансе.

**3.9.1.3** У посебним случајевима лабораторија може бити акредитована за испитивања која у стварности ретко ради. У таквим случајевима спровођење континуираног програма интерне контроле квалитета је неприменљиво и много је погодније користити систем за показивање задовољавајућих перформанси паралелно са испитивањем.



### **3.9.2 Екстерно оцењивање квалитета (испитивање оспособљености)**

- 3.9.2.1** Лабораторије би требало редовно да учествују у ПТ активностима које се односе на области за које су акредитоване, при чему предност треба дати ПТ програмима који користе одговарајуће матриксе. У посебним случајевима учествовање може бити обавезно.
- 3.9.2.2** Лабораторије би требало да користе екстерно оцењивање квалитета не само да би оцилиле *bias* лабораторије, већ и да би провериле валидност читавог система квалитета.
- 3.9.2.3** Неопходно је да лабораторија у свему испуњава захтеве Правила о учешћу у међулабораторијским поређењима и програмима за испитивање оспособљености (АТЦ-ПА 02).

### **3.10 Извештај о испитивању, SRPS ISO/IEC 17025:2017, тачка 7.8.2**

- 3.10.1** Уколико је резултат квантитативних испитивања негативан, треба га изразити као "неоткривен за дефинисану јединицу" или као "мањи од границе детекције за дефинисану јединицу". Свуда где је могуће резултате исказати у одговарајућим мерним јединицама. Резултат не би требало да буде дат као "нула за дату јединицу" осим уколико је то захтевано прописима. Резултате квалитативних испитивања треба изражавати као "откривене/неоткривене у оквиру одређеног броја или количине". Они такође могу бити изражени као "мањи од одређеног броја организама за дефинисану јединицу" где одређени број организама прелази границу детекције методе и где је ово договорено са клијентом.
- 3.10.2** У случајевима где је процењена несигурност резултата испитивања изражена у извештају о испитивању сва ограничења (посебно тамо где процена не укључује компоненту која је изазвана дистрибуцијом микроорганизама у оквиру узорка) морају бити разјашњена клијенту.





#### **4. ДИСТРИБУЦИЈА ДОКУМЕНТА**

Овај документ користе сви запослени у АТС-у и ТОУ.

Документ се објављује на веб страници АТС-а.

#### **5. ПРИЛОЗИ**

Прилог 1: Општа употреба референтних култура;

Прилог 2: Смернице за еталонирање и међупровере;

Прилог 3: Смернице за валидацију и верификацију перформанси опреме;

Прилог 4: Смернице за одржавање опреме.

#### **6. ОБРАСЦИ**

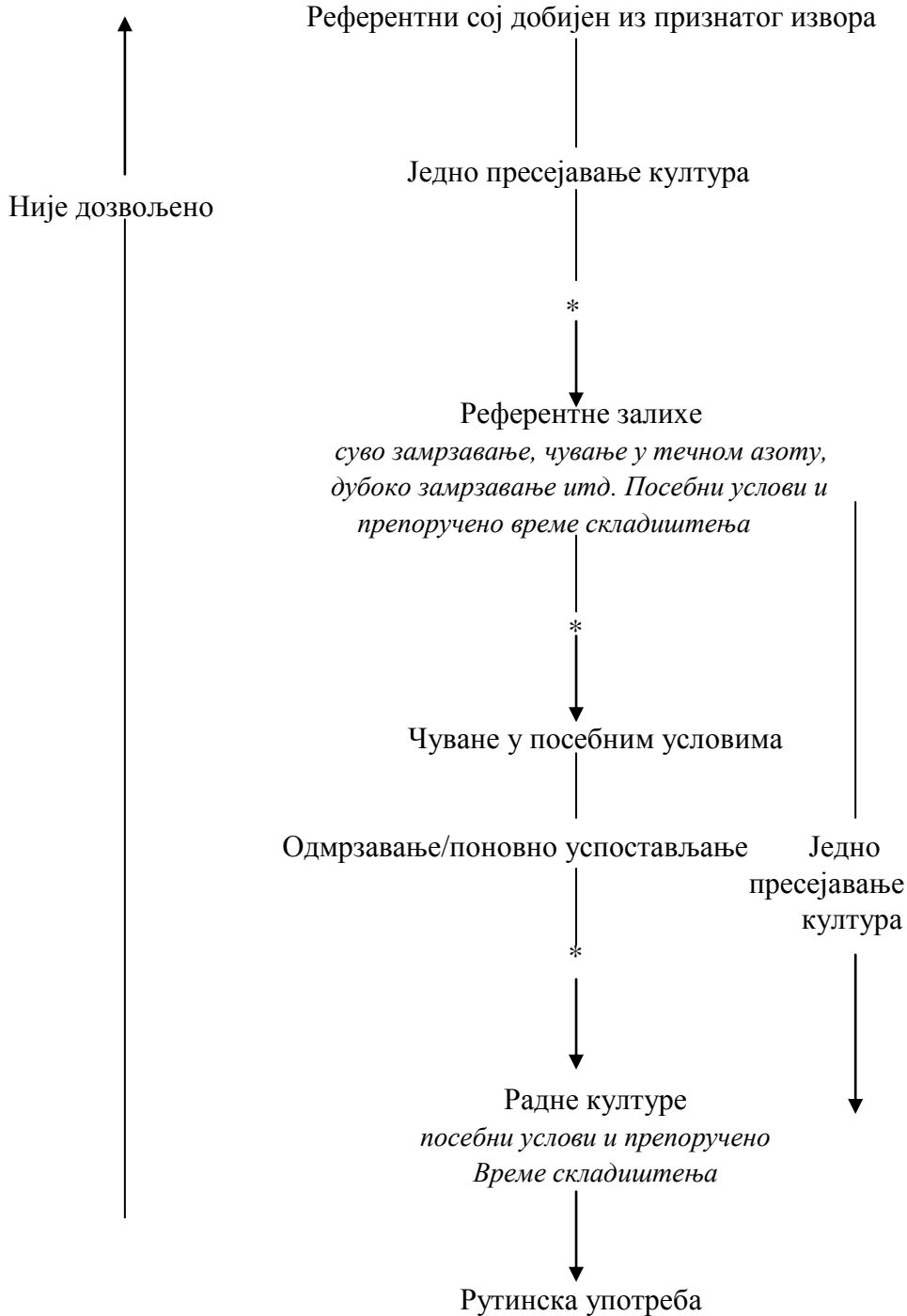
Нема.

#### **7. ЛИСТА ИЗМЕНА ДОКУМЕНТА АТС-УП27**

Издање/ измена	Датум издања/ измене
1/0	28.02.2013.
1/1	18.09.2017.
2/0	11.10.2021.



## Прилог 1: Општа употреба референтних култура



\*Одговарајућа паралелна провера чистоће и биохемијски тестови, како је одговарајуће  
Сви делови процеса морају бити у потпуности документовани и детаљни записи у свим фазама морају да се одржавају.



## Прилог 2 Смернице за еталонирање и међупровере

Наведене информације служе само као смернице. Учесталост спровођења еталонирања и међупровера ће зависити од потреба, врсте и претходних перформанси опреме.

Врста опреме	Захтеви	Предложена учесталост
Референтни термометри (уроњени у течност)	Екстерно еталонирање Редовне међупровере (нпр. провера тачке смрзавања)	Сваких 5 година Годишње
Референтни термометри са термопаром	Екстерно еталонирање Редовне међупровере (нпр.провера у односу на референтни термометар)	Сваке 3 године Годишње
Радни термометри и радни термометри са термопаром	Провера у односу на референтни термометра на тачки смрзавања и/или опсега радне температуре	Годишње
Ваге	Екстерно еталонирање	Годишње
Еталон тегови	Екстерно еталонирање	Сваких 5 година
Тегови за међупроверу ваге	Редовне провере	Годишње
Волуметријска опрема од стакла	Редовне међупровере	Према SRPS EN ISO 7218:2008 т.5.27.3
Микроскопи	Екстерно еталонирање (где је применљиво, нпр. вредност подеока на микрометраској скали)	По потреби
Хигрометри	Екстерно еталонирање (где је влажност од утицаја за исход испитивања)	годишње
Центрифуге	Екстерно еталонирање или провера следивости према независном тахометру (ако је применљиво, где перформансе опреме могу утицати на резултате испитивања)	годишње



### Прилог 3 Смернице за валидацију и верификацију перформанси опреме

Наведене информације служе само као смернице. Учесталост спровођења ће зависити од потреба, врсте и претходних перформанси опреме.

Врста опреме	Захтеви	Предложена учесталост
Опрема са контролисаном температуром	(а) Успостављање стабилности и уједначености температуре (б) Праћење температуре	(а) Почетно, сваке 2 године и након поправке/модификације (б) Дневно/током сваке употребе
Апарати за стерилизацију	(а) Успостављање стабилности и уједначености температуре (б) Праћење температуре	(а) Почетно, сваке 2 године и након поправке/модификације (б) Током сваке употребе
Аутоклави	(а) Успостављање карактеристике за пуњења/циклусе (б) Праћење температуре/времена (ц) Биолошка контрола	(а) Почетно, сваке 2 године и након поправке/модификације (б) Током сваке употребе (ц) учесталост недељно, у зависности од динамике коришћења
Безбедоносни кабинети	(а) Успостављање перформансе (б) Микробиолошко праћење (ц) Праћење протока ваздуха	(а) Почетно, сваке године и након поправке/ модификације (б) Недељно (ц) Током сваке употребе
Кабинети са ламинарним протоком ваздуха	(а) Успостављање перформансе (б) Провера са стерилним петри шољама	(а) Почетно и након поравке/модификације (б) Недељно
Тајмери	Провера у односу на национално сигнално време	Годишње
Микроскопи	Провера подешавања	Дневно/свака употреба
рН метри	Подешавање коришћењем најмање два пуфера одговарајућег квалитета	Дневно/свака употреба
Кондуктометри	Мерење електропроводљивости	Дневно/свака употреба
Ваге	Провера нуле и провера читавања са тегом за проверу	Дневно/свака употреба
Дејонизатори и јединице за повратну осмозу	(а) Провера проводљивости (б) Провера микробне контаминације	(а) Недељно (б) Месечно
Гравиметријски растварачи	(а) Провера тежине растворене количине (б) Провера коефицијента растварања	(а) Дневно (б) Дневно
Инструменти за прављење подлога	Провера произведене количине	Након сваког подешавања или замене
Пипете	Провера тачности и прецизности узете количине	Редовно (дефинисати узимањем у обзир учесталост и природу употребе)
Аутоматски апарат за спирално сејање подлога	(а) Успостављање рада насупротив конвенционалног метода или стање стилуса на почетним и крајњим тачкама (б) Провера стање стилуса на почетним и крајњим тачкама (ц) Провера створену количину	(а) Почетно и годишње (б) Дневно/свака употреба (ц) Месечно
Бројачи колонија	Провера у односу на ручно пребројане колоније	Годишње
Центрифуге	Провера брзине у односу на еталониран и независни брзиномер	Годишње
Анаеробне посуде/инкубатори	Провера анаеробним индикатором	Свака употреба
Лабораторијска околина	Праћење загађења ваздуха и површина помоћу, нпр. експозицијом плоча контактних плоча или брисева	Недељно



## Прилог 4 Смернице за одржавање опреме

Наведене информације служе само као смернице, учесталост спровођења ће зависити од потреба, врсте и претходних перформанси опреме.

Врста опреме	Захтеви	Предложена учесталост
(а) Инкубатори (б) Фрижидери (ц) Замрзивачи, рерне	Чишћење и дезинфекција унутрашњих површина	(а) Месечно (б) Кад год је потребно (дефинисати за сваки тип уређаја) (ц) Кад год је потребно (дефинисати за сваки тип уређаја)
Водена купатила	Пражњење, чишћење, дезинфекција и поновно пуњење	Месечно или сваких 6 месеци уколико се користе биоциди
Центрифуге	(а) Сервисирање (б) Чишћење и дезинфекција	(а) Годишње/по препоруци произвођача (б) Свака употреба
Аутоклави	(а) Визуална провера заптивке, чистоће/сувоће коморе (б) Комплетно сервисирање (ц) Сигурносна провера посуде под притиском	(а) Редовно по препоруци произвођача (б) Годишње или како је препоручено од стране произвођача (ц) Годишње
Безбедоносни кабинети Кабинети са ламинарним протоком	Комплетно сервисирање и механичка провера	Годишње или како је препоручено од стране произвођача
Микроскопи	Комплетан сервис	Годишње/по потреби
рН метри	Чишћење електрода	Свака употреба
Ваге, гравиметријски растварачи	(а) Чишћење (б) Сервисирање	(а) Свака употреба (б) Годишње
Дестилатори	Clean and de-scale	По потреби (нпр. свака 3 месеца)
Дејонизатори, јединице за повратну осмозу	Замена кертрица/мембране	По препоруци произвођача
Анаеробне посуде	Чишћење/дезинфекција	Након сваке употребе
Инструменти за прављење подлога, волуметријска опрема, пипете и опрема за општу употребу	Деконтаминација, чишћење и стерилизација у зависности од тога шта је применљиво	Свака употреба
Аутоматски апарат за спирално сејање подлога	(а) Сервисирање (б) Деконтаминација, чишћење и стерилизација	(а) Годишње (б) Свака употреба
Лабораторија	(а) Чишћење и дезинфекција радних површина (б) Чишћење подова, дезинфекција одводних цеви и посуда (ц) Чишћење и дезинфекција осталих површина	(а) Дневно и током употребе (б) Чишћење подова- дневно дезинфекција одводних цеви и посуда Недељно (ц) Свака 3 месеца