



ČESKÝ INSTITUT PRO AKREDITACI, o.p.s.

Opletalova 41, 110 00 Praha 1 – Nové Město

Dokumenty EA

EA - Evropská spolupráce pro akreditaci

Číslo publikace: EA - 4/10

Akreditace mikrobiologických laboratoří

Tento dokument byl vypracován společnou skupinou EA-EUROLAB-EURACHEM Group. Doplnjuje ISO/IEC 17025 a poskytuje konkrétní pokyny pro akreditaci laboratoří, které provádějí mikrobiologické zkoušky, a to jak pro posuzovatele tak pro laboratoře, které se připravují na akreditaci. ISO/IEC 17025 zůstává i nadále hlavním dokumentem a v případě sporu v nerozřešených otázkách rozhodnou jednotlivé akreditační orgány. Pokyny uvedené v tomto dokumentu mohou využít i ti, kteří usilují o certifikaci dle norem řady ISO 9000.

Tento dokument nesmí být dále rozšiřován.

září 2002

Autoři

Tuto publikaci zpracovala pracovní skupina pro potraviny Výboru pro laboratoře (Laboratory Committee) EA ve spolupráci s Eurochem.

Úřední jazyk

Text dokumentu je možné překládat do jiných jazyků dle potřeby. Rozhodující zůstává verze anglická.

Copyright

Autorské právo k tomuto textu náleží EA. Text nesmí být kopírován pro účely dalšího prodeje.

Další informace

Další informace o této publikaci poskytne Váš národní člen EA nebo předseda výboru pro laboratoře EA (Laboratory Committee), pan Hans Peter Ischi, na adrese hanspeter.ischi@metas.ch nebo organizátor pracovní skupiny EA pro potraviny, paní Elisa Gredilla, na adrese egredilla@enac.es.

Aktuální informace získáte na naší webové stránce

<http://www.european-accreditation.org>

Datum schválení: červen 2002

Datum realizace: červen 2002

Přechodné období: - - -

Národní člen EA:

Český institut pro akreditaci, o.p.s.

Opletalova 41, 110 00, Praha 1 – Nové Město

Telefon: 221 004 501

Fax: 221 004 408

E-mail: mail@cai.cz

OBSAH

1	ÚVOD A ROZSAH DOKUMENTU _____	3
2	PRACOVNÍCI _____	3
3	PROSTŘEDÍ _____	4
3.1	Prostory _____	4
3.2	Monitorování prostředí _____	6
3.3	Hygiena _____	6
4	VALIDACE ZKUŠEBNÍCH METOD _____	6
5	NEJISTOTA MĚŘENÍ _____	7
6	ZAŘÍZENÍ - ÚDRŽBA, KALIBRACE A VERIFIKACE VÝKONU _____	8
6.1	Údržba _____	8
6.2	Kalibrace a verifikace výkonu _____	9
7	REAGENTY A KULTURY _____	11
7.1	Reagenty _____	11
7.2	Vlastní připravovaná média _____	11
7.3	Média k přímému použití _____	11
7.4	Označování štítky _____	12
8	REFERENČNÍ MATERIÁLY A REFERENČNÍ KULTURY _____	12
8.1	Referenční materiály _____	12
8.2	Referenční kultury _____	12
9	ODBĚR VZORKŮ _____	13
10	MANIPULACE SE VZORKY A JEJICH IDENTIFIKACE _____	13
11	LIKVIDACE KONTAMINOVANÉHO ODPADU _____	14
12	ZAJIŠŤOVÁNÍ JAKOSTI VÝSLEDKŮ/ŘÍZENÍ JAKOSTI PROVÁDĚNÍ _____	14
12.1	Interní kontroly jakosti _____	14
12.2	Externí posouzení jakosti (zkoušky způsobilosti) _____	15
13	ZKUŠEBNÍ PROTOKOLY _____	14
PŘÍLOHA A	Slovníček pojmů _____	15
PŘÍLOHA B	Odkazy _____	17
PŘÍLOHA C	Obecné použití referenčních kultur _____	18
PŘÍLOHA D	Pokyny ke kalibraci a kontrolám kalibrace _____	19
PŘÍLOHA E	Pokyny k validaci zařízení a verifikaci výkonu _____	20
PŘÍLOHA F	Pokyny k údržbě zařízení _____	22

1 ÚVOD A ROZSAH DOKUMENTU

- 1.1** Obecné požadavky na akreditaci jsou stanoveny v mezinárodní normě *Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří* (ISO/IEC 17025 1. vydání, 1999), zde dále zmiňované jako ISO 17025. Veškeré tyto požadavky musí laboratoře, které usilují o akreditaci, plnit.
- 1.2** Tento dokument doplňuje ISO 17025 o specifické pokyny, a to jak pro posuzovatele tak pro laboratoře provádějící mikrobiologické zkoušky. Dokument obsahuje podrobné pokyny k interpretaci ISO 17025 pro ty, kteří provádějí zkoumání materiálů, výrobků a látek. Tyto pokyny platí pro provádění všech objektivních měření, ať již rutinních nebo nerutinních, či měření, která jsou součástí výzkumu a vývoje. Přestože je dokument určen primárně pro mikrobiologické zkoušky potravin a životního prostředí, je možné jeho obecné principy aplikovat i na další oblasti. Hlavním dokumentem zůstává ISO 17025 a v případě sporu o nerozřešených otázkách rozhodnou akreditační orgány. Pokyny obsažené v tomto dokumentu mohou využít také ti, kteří usilují o registraci dle jiné normy jakosti, např. GLP, GMP, GCP.
- 1.3** Tento dokument je možné považovat za “návodný dokument k aplikaci” pro mikrobiologické zkoušky, tak jak je uvedeno v Příloze B ISO 17025. Tento dokument byl vytvořen na základě spolupráce mezi EURACHEM a EA jako prostředek na podporu jednotného přístupu k akreditaci laboratoří ze strany členských orgánů EA, zvláště pak těch, které jsou účastníky Multilaterální dohody EA.
- 1.4** Mikrobiologické zkoušení zahrnuje zkoušení sterility, detekci, izolaci, počítání a identifikaci mikroorganismů (viry, bakterie, houby a protozoa) a jejich metabolitů v různých materiálech a výrobcích, nebo jakýkoli druh kvantitativního rozboru, který využívá mikroorganismy jako součást detekčního systému a také využití mikroorganismů pro ekologické zkoušení. Z tohoto vyplývá, že některé z pokynů uvedených v tomto dokumentu, například ohledně laboratorního prostředí, je nutné příslušným způsobem interpretovat.
- Tento dokument může poskytnout také pokyny pro laboratoře, které využívají metody v oblastech souvisejících s mikrobiologií, jako např. biochemie, molekulární biologie a buněčné kultury, přestože na tyto laboratoře se mohou vztahovat ještě další požadavky.
- 1.5** Tento dokument se zabývá jakostí výsledků zkoušek a nezabývá se konkrétně otázkami ochrany zdraví a bezpečnosti. Praxe v laboratoři by však měla splňovat předpisy pro ochranu zdraví a bezpečnosti, které v dané zemi platí. Je důležité uvést, že v některých případech mohou mít otázky ochrany zdraví a bezpečnosti vliv na jakost zkoušek a laboratoř musí toto vzít v úvahu.
- 1.6** Definice použitých výrazů jsou uvedeny v Příloze A.

2 PRACOVNÍCI (ISO 17025, odstavec 5.2)

- 2.1** Mikrobiologické zkoušení musí být prováděno zkušenou osobou, která má ukončené vysokoškolské vzdělání v oblasti mikrobiologie nebo ekvivalentní vzdělání, nebo pod dozorem takové osoby. Alternativně mohou tuto kvalifikaci nahradit rozsáhlé odpovídající zkušenost v oblasti rozsahu akreditace laboratoře. Pracovníci by měli mít před tím, než budou bez dozoru provádět práce v rámci rozsahu akreditace, nebo před tím, než budou podobný dozor nad akreditovanými činnostmi sami vykonávat, možnost získat příslušné pracovní zkušenosti. Pokyny uvedené v tomto dokumentu mohou být nahrazeny konkrétními národními předpisy.

- 2.2** Pokud laboratoř do svých zkušebních protokolů obsahujících výsledky zkoušek zahrnuje také odborná stanoviska a interpretace, měly by je poskytovat pracovníci s vhodnou zkušeností a odpovídající znalostí konkrétní aplikace, včetně například odpovídajících legislativních a technologických požadavků a kritérií přijatelnosti (shody).
- 2.3** Vedení laboratoře musí zajistit, aby všichni pracovníci byli odpovídajícím způsobem vyškoleni ke způsobilému provádění zkoušek a provozu zařízení. To by mělo zahrnovat školení v oblasti základních metod, např. nalévání misek, počítání kolonií, aseptické metody atd., a také v oblasti objektivních kritérií přijatelnosti (shody). Personál může provádět zkoušky na vzorcích pouze pokud je způsobilý k jejich provádění nebo pokud tak činí pod řádným dozorem.
- Trvajícím způsobilost by měla být objektivním způsobem monitorována a dle potřeby by měla být poskytována opakovaná školení. Pokud se nějaká metoda nepoužívá pravidelně, je případně nutné dle potřeby provést ověření způsobilosti pracovníků zkoušku provádět. Kritický interval mezi prováděním zkoušek by měl být stanoven a dokumentován. Schopnost interpretace výsledků zkoušek pro potřeby identifikace a verifikace mikroorganismů výrazně souvisí se zkušeností analytika, který zkoušku provádí, a proto by tato měla být u každého analytika pravidelně sledována.
- 2.4** V některých případech může být vhodné vztahovat způsobilost na určitou techniku nebo zařízení spíše než na metodu.

3 PROSTŘEDÍ (ISO 17025, odstavec 5.3)

3.1 Prostory

- 3.1.1** Typická laboratoř je tvořena zkušebním provozem (kde se provádějí konkrétní mikrobiologické zkoušky a související činnosti) a pomocnými provozy (vchody, chodby, administrativní jednotky, šatny a záchody, sklady, archivy atd.). Obecně existují určité požadavky na prostředí zkušebních provozů. V závislosti na typu prováděných zkoušek by měl být přístup do mikrobiologické laboratoře omezen na oprávněné pracovníky. Tam, kde takové omezení platí, by měli být pracovníci informováni o:
- zamýšleném využití daného konkrétního prostoru;
 - omezeních uvalených na práci v takových prostorách;
 - důvodech uvalení takových omezení;
 - příslušných hodnotách znečištění.
- 3.1.2** Laboratoř by měla být uspořádána tak, aby se minimalizovala rizika zkřížené kontaminaci, pokud je takové riziko významné pro daný typ prováděných zkoušek. Způsoby, jak tohoto cíle dosáhnout jsou např.
- postavit laboratoř na „jednosměrném“ principu;
 - provádět postupy v dané posloupnosti s využitím odpovídající opatření, které zajistí integritu zkoušky i vzorku (např. využití zapečetěných kontejnerů);
 - oddělení činností v čase nebo prostoru.
- 3.1.3** Za dobrou praxi se obecně považuje mít k dispozici několik míst nebo jasně označených ploch pro následující účely:
- příjem vzorku a skladovací plochy;
 - přípravu vzorků (např. pro přípravu práškových produktů, které jsou pravděpodobně vysoce znečištěny, by mělo být k dispozici oddělené místo);

- vyšetřování vzorků, včetně inkubace;
- udržování referenčních organismů;
- přípravu médií a zařízení, včetně sterilizace;
- vyhodnocení sterility;
- dekontaminace.

Plocha pro mytí (po dekontaminaci) může být společná i pro ostatní části laboratoře za předpokladu, že budou uplatněna nutná opatření, která zabrání přenosu stop látek, které by mohly negativně ovlivnit mikrobiologický růst. Potřeba fyzického oddělení by měla být posuzována na základě činností specifických pro danou laboratoř (např. počet a typ prováděných zkoušek).

Zařízení laboratoře by se běžně nemělo přesouvat mezi jednotlivými plochami proto, aby se zabránilo zkřížené kontaminaci. V laboratoři molekulární biologie by měly být určené pipety, tyčinky, odstředivky, zkumavky atd. umístěny v jednotlivých pracovních oblastech (nízké, střední, vysoké DNA pracovní prostředí).

3.1.4 Měl by být k dispozici dostatečný prostor, který umožní udržovat pracovní oblasti v čistotě a pořádku. Potřebný prostor by měl odpovídat objemu prováděných analýz a celkové vnitřní organizaci laboratoře. Prostor by měl být v souladu s případnými národními předpisy.

3.1.5 Pracovní místnosti by měly být odpovídajícím způsobem větrány a měly by mít vhodnou teplotu. Toho je možné docílit přirozenou nebo nucenou ventilací nebo pomocí klimatizace. Při použití klimatizace by měly být použity vhodné filtry, které je nutno kontrolovat, udržovat a vyměňovat v závislosti na typu prováděné činnosti.

3.1.6 Snížení kontaminace je možné dosáhnout pomocí následujících opatření:

- hladký povrch stěn, stropů, podlah a pracovních ploch (hladkost povrchu se posuzuje z hlediska možnosti snadného čištění); jako povrch pracovních stolů se nedoporučují dlaždice;
- konkávní spoje mezi podlahou, stěnami a stropy;
- minimální otevírání oken a dveří v průběhu zkoušek;
- rolety instalované zvenku;
- snadný přístup k čištění vnitřních rolet v případě, že není možné instalovat rolety zvenku;
- trubky vedoucí kapaliny nesmí vést před pracovní plochy, pokud ovšem nejsou v hermeticky uzavřeném krytu;
- přívod vzduchu do ventilačního systému přes prachový filtr;
- zvláštní uspořádání zařízení pro mytí rukou, nejlépe bez nutnosti ručního ovládání
- skříně až do stropu;
- žádné hrubé nebo holé dřevo;
- dřevěné plochy vybavení a zařízení musí být odpovídajícím způsobem utěsněny;
- skladované položky a zařízení musí být uspořádány tak, aby umožňovaly snadný úklid;
- pouze takový nábytek a dokumenty nebo další položky, které jsou nezbytně nutné pro činnosti zkoušení.

Tento seznam není vyčerpávající a všechny položky se v každé situaci neuplatní.

Stropy by měly být v ideálním případě hladké s osvětlovacími tělesy v jedné rovině se stropem. Pokud toto možné není (například u stropů se sníženým podhledem a zavěšenými světly), laboratoř by měla mít dokumentované důkazy, že má pod kontrolou rizika související s hygienou a že má k dispozici účinné prostředky k jejich překonání, např. program čištění povrchů a jejich kontroly.

3.1.7 Pokud je laboratoř ve výrobních prostorách, musí si být personál vědom potenciální možnosti kontaminace výrobních ploch a mělo by se prokázat, že byla podniknuta odpovídající opatření, aby se takovým okolnostem zabránilo.

3.2 Monitorování prostředí

3.2.1 Je třeba vypracovat odpovídající program monitorování prostředí, včetně například využití destiček pro usazování ze vzduchu a otírání ploch tampóny.

Je třeba stanovit přijatelné pozadí a měl by být k dispozici dokumentovaný postup pro řešení situací, kdy bude takový limit překročen. Analýza údajů by měla určit trendy v kontaminaci.

3.3 Hygiena

3.3.1 Pro zařízení, vybavení a povrchy laboratoře by měl být k dispozici dokumentovaný program čištění. Tento program by měl vzít v úvahu výsledky monitorování prostředí a možnost křížové kontaminace. Dále by měl být k dispozici postup řešící situace při vylití/úniku materiálu.

3.3.2 Je třeba přijmout opatření bránící kumulaci prachu, a to zajištěním dostatečného prostoru ke skladování, minimálním množstvím papírové dokumentace v laboratoři a zákazem květin a osobních věcí v pracovním prostoru laboratoře.

3.3.3 V mikrobiologické laboratoři je nutno nosit oblečení vhodné pro prováděný typ zkoušky (včetně, dle potřeby, ochrany vlasů, vousů rukou, bot atd.) a tuto ochranu je nutno před odchodem odložit. To je důležité zvláště v laboratořích molekulární biologie, kde například pohyb z oblasti vysoké zátěže DNA do oblasti nízké zátěže DNA může způsobit neúmyslnou zkříženou kontaminaci. V mnoha laboratořích postačuje laboratorní plášť.

3.3.4 Musí být k dispozici odpovídající zařízení na mytí rukou.

4 VALIDACE ZKUŠEBNÍCH METOD

4.1 Validace mikrobiologických zkušebních metod by měla odrážet skutečné zkušební podmínky. Toho je možné dosáhnout použitím přirozeně znečištěných výrobků nebo výrobků záměrně znečištěných předem určeným množstvím znečišťujících organismů. Analytik by si měl uvědomovat, že přidáním kontaminujících organismů do matrice pouze povrchním způsobem napodobuje přítomnost přirozeně se vyskytujících kontaminantů. Nicméně se často jedná o nejlepší a jediné dostupné řešení. Rozsah nutné validace bude záviset na metodě a aplikaci. Laboratoř musí validovat i standardní metody v případě, že použité matrice nejsou specifikovány ve standardním postupu.

4.2 Metody kvalitativních mikrobiologických zkoušek, takové ve kterých je výsledek vyjádřen ve smyslu nalezení/nenalezení a potvrzující identifikační postupy, by měly být validovány určením případné specifčnosti, relativní pravdivosti, pozitivní odchylky, negativní odchylky, limitu detekce, vlivu matrice, opakovatelnosti a reprodukovatelnosti (definice viz PŘÍLOHA A).

4.3 Pro kvantitativní metody mikrobiologických zkoušek se bere v úvahu specifčnost, citlivost, relativní pravdivost, pozitivní odchylka, negativní odchylka, opakovatelnost, reprodukovatelnost a limit stanovení v rámci definované kolísavosti, a podle potřeby se kvantitativně stanoví. Pokud se provádějí zkoušky na různých typech vzorků, je třeba vzít v úvahu rozdíly způsobené různými matricemi. Výsledky je nutné vyhodnotit pomocí odpovídajících statistických metod.

- 4.4** Laboratoře musí uchovávat údaje o validaci komerčních zkušebních souprav, které používají. Tyto údaje o validaci lze získat spoluprací na zkouškách a z validačních údajů od výrobce vyhodnocených třetí stranou (např. AOAC). Jestliže nejsou údaje o validaci k dispozici nebo je nelze plně použít, pak bude laboratoř odpovědná za to, že provede sama vlastní validaci metody.
- 4.5** Pokud má pozměněná verze metody splnit ty samé specifikace jako metoda původní, pak je nutné provést srovnání s využitím vícenásobných stanovení, které toto potvrdí. Uspořádání experimentu a analýza výsledků musí být statisticky platné.
- 4.6** I v případě že je validace kompletní, musí uživatel i nadále pravidelně ověřovat, že je dosahováno dokumentovaného výkonu, například využitím známých vzorků nebo referenčních materiálů, které zahrnují příslušné matrice.

5 NEJISTOTA MĚŘENÍ

- 5.1** Mezinárodní definice nejistoty měření je uvedena v mezinárodním slovníku ISO základních a obecných pojmů v metrologii z roku 1993 (viz PŘÍLOHA B). Obecný přístup k vyhodnocování a vyjadřování nejistoty při zkoušení, který je od akreditačních orgánů v Evropě očekáván, vychází z doporučení vydaných Mezinárodním výborem pro váhy a měření (CIPM), jak je popsáno v *Guide to the Expression of Uncertainty of Measurement*, 1995, ISO Geneva.
- 5.2** Mikrobiologické zkoušky obecně spadají do kategorie zkoušek, které nedovolují přesné, metrologicky a statisticky platné výpočty nejistoty měření. Obecně je vhodné založit odhad nejistoty pouze na údajích o opakovatelnosti a reprodukovatelnosti, ideálně se zahrnutím systematické chyby (např. z výsledků programu zkoušek způsobilosti). Jednotlivé složky nejistoty by měly být identifikovány a mělo by být prokázáno, že jsou pod kontrolou, a měl by být posouzen jejich příspěvek ke kolísavosti výsledků. Některé složky (např. vlivy pipetování, vážení a ředění) je možné snadno měřit a vyhodnotit tak, aby se prokázal jejich zanedbatelný vliv na celkovou nejistotu. Další složky (např. stabilita vzorku a příprava vzorku) není možné měřit přímo a jejich příspěvek není možné vyhodnotit statistickým způsobem, ale jejich vliv na kolísavost výsledků je i tak nutné vzít v úvahu.
- 5.3** Očekává se, že akreditované mikrobiologické zkušební laboratoře budou mít znalost o distribuci organismů v matricích, které zkoušejí, a vezmou tyto údaje v úvahu při dalším dělení vzorků. Nedoporučuje se však, aby tato složka nejistoty byla do odhadů zahrnuta s výhradou, kdy si to žádají potřeby klienta. Základním důvodem pro tento přístup je, že nejistota v důsledku distribuce organismů v matrici není funkcí výkonnosti laboratoře a může být pro určitý testovaný vzorek unikátní, a proto by zkušební metody měly specifikovat velikost používaného vzorku s uvážením jeho nedokonalé homogenity.
- 5.4** Pojem nejistoty není možné aplikovat přímo na výsledky kvalitativních zkoušek, jako jsou například zkoušky detekce nebo určování atributů pro potřebu identifikace. Nicméně by měly být identifikovány jednotlivé zdroje kolísavosti, např. konzistentní působení reagentů a interpretace analytika, a mělo by být prokázáno, že jsou pod kontrolou. Navíc, pro zkoušky, kde je limit detekce důležitým indikátorem vhodnosti, by měla být odhadnuta nejistota související s uměle pěstovanou tkání naočkovanou na živnou půdu, která byla použita ke stanovení limitu, a měla by být vyhodnocena její významnost. Laboratoře by si také měly být vědomy možného výskytu falešných pozitivních a negativních výsledků, které se mohou vyskytnout v souvislosti s jimi používanými kvalitativními zkouškami.

6 ZAŘÍZENÍ – ÚDRŽBA, KALIBRACE A VERIFIKACE VÝKONU (ISO 17025, odstavec 5.5)

Jako součást svého systému jakosti je laboratoř povinna uplatňovat dokumentovaný program údržby, kalibrace a verifikace výkonu svých zařízení.

6.1 Údržba

(Pokyny k údržbě zařízení lze nalézt v ISO 7218.)

6.1.1 Údržba nezbytného zařízení musí být prováděna ve stanovených intervalech tak, jak to určují faktory například míry využití. O prováděné údržbě je nutno vést podrobné záznamy. Příklady údržby zařízení a jejich intervalů jsou uvedeny v PŘÍLOZE F.

6.1.2 Je nutné věnovat pozornost tomu, aby se zabránilo křížové kontaminaci ze zařízení, např.:

- zařízení na jedno použití musí být dle požadavků čisté a sterilní;
- opakovaně používané skleněné nádoby musí být řádně očištěné a dle potřeby sterilizované;
- v ideálním případě by měly mít laboratoře autoklávy určené pouze k dekontaminaci. Lze však použít i jeden autokláv v případě, že budou přijata odpovídající opatření k oddělení dekontaminačních a sterilizačních náplní a pokud bude používán odpovídající dokumentovaný program čištění, a to jak pro vnitřní tak vnější prostředí autoklávu.

6.1.3 Typicky se provádí údržba čištěním a opravami, kontrolou na poškození, obecným ověřením a případně sterilizací na následujících položkách:

- obecná obslužná zařízení – filtrační zařízení, skleněné a plastové nádoby (lahve, zkumavky), skleněné nebo plastové Petriho misky, zařízení pro vzorkování, drátky a očka z platiny, nikl/chrómu nebo na jedno použití z plastu;
- vodní lázně, inkubátory, mikrobiologické skříně, autoklávy, homogenizátory, chladničky, mrazáky;
- volumetrická zařízení - pipety, automatické dávkovače, spirálové pokovovací zařízení;
- měřicí přístroje - teploměry, časovače, váhy, pH metry, počítače kolonií.

6.2 Kalibrace a verifikace výkonu

6.2.1 Laboratoř musí stanovit program pro kalibraci a verifikaci výkonu zařízení, které má přímý vliv na výsledky zkoušek. Frekvence takových kalibrací a verifikace výkonu musí být stanovena dokumentovaným způsobem ze zkušenosti a musí vycházet z potřeb, typu a předchozího výkonu zařízení. Interval mezi kalibracemi a verifikacemi musí být kratší než doba, kdy byl zjištěn posun mimo přijatelné limity. Příklady kalibračních intervalů a typických kontrol výkonu pro různá laboratorní zařízení jsou uvedeny v PŘÍLOZE D a PŘÍLOZE E.

6.2.2 Zařízení na měření teploty

- (a) Tam, kde má teplota přímý vliv na výsledky analýzy nebo je kritickým faktorem správného výkonu zařízení, tam je nutné použít zařízení k měření teploty např. teploměry využívající kapalinu ve skle, termočlánky nebo platinové odporové teploměry (PRT) používané v inkubátorech a autoklávech, a tyto musí být odpovídající kvality k dosažení požadované přesnosti.
- (b) Kalibrace přístrojů musí být návazná na národní nebo mezinárodní etalon měření teploty. Tam, kde to přesnost dovoluje, je možné pro přístroje schopné prokázat soulad využít národní nebo mezinárodní uznávané výrobní specifikace (např. ISO 1770 pro teploměry využívající kapalinu ve skle). Takové přístroje mohou být

využívány například k monitorování teploty ve skladovacích chladničkách a mrazničkách a také v inkubátorech a vodních lázních, pokud to přijatelná tolerance kolem cílové teploty dovoluje. U takového zařízení je nutné provést verifikaci výkonu.

6.2.3 Inkubátory, vodní lázně, pece

Stabilita teploty, stejnoměrná distribuce teploty a doba potřebná k dosažení rovnovážných podmínek v inkubátorech, vodních lázních, pecích a místnostech s řízenou teplotou musí být stanoveny a dokumentovány na počátku provozu zařízení, zvláště pak pro okolnosti typického použití (např. v určitém místě, s volným prostorem kolem, s určitou výškou naskládaných sloupců Petriho misek). Konstantnost charakteristik zaznamenaných během počáteční validace zařízení musí být kontrolována a zaznamenávána po každé významné opravě nebo modifikaci.

Laboratoře musí monitorovat provozní teplotu tohoto typu zařízení a vést o tom záznamy.

6.2.4 Autoklávy, včetně zařízení na přípravu médií

Následující text popisuje obecně předpokládaný přístup ke kalibraci a ke stanovení a monitorování výkonu. Nicméně se uznává, že kvantitativní zkoušení materiálů a položek zpracovaných autoklávováním, pokud je podán vhodný komentář ke kolísání v rámci dávek a mezi nimi, je rovněž schopno poskytnout ekvivalentní zajištění jakosti.

- (a) Autoklávy by měly být schopné splnit specifikované časové a teplotní tolerance. Tlakové hrnce opatřené pouze měřením tlaku nejsou přijatelné. Senzory používané k řízení a monitorování provozních cyklů vyžadují ověření kalibrace a výkonu časových spínačů.
- (b) Počáteční validace by měla zahrnovat studie výkonu (proměření rozdělení teploty v prostoru) pro každý provozní cyklus a každou konfiguraci náplně, která je v praxi využívána. Tento proces je nutné opakovat po každé významné opravě nebo modifikaci (např. výměna termoregulační sondy nebo programátoru, změna uspořádání náplně autoklávu, změna provozního cyklu) nebo v případě, že je to nutné na základě výsledků kontroly jakosti médií. Dostatečná teplotní čidla by měla být umístěna i v náplni (např. nádobkách naplněných kapalinou/médiem), aby bylo možné demonstrovat rozdíly v jednotlivých místech. V případě zařízení na přípravu médií, tam kde není možné prokázat rovnoměrné zahřívání jinými prostředky, považuje se obecně za dostatečné použití dvou čidel, přičemž jedno se umístí vedle řídicí sondy a jedno dále od ní. Validace a opakovaná validace by měly posoudit vhodnost časů nárůstu a sestupu teploty a dobu výdrže na teplotě sterilizace.
- (c) Na základě vyhřívacích profilů určených pro typická použití během validace/opakované validace je nutné poskytnout jasné pokyny. Je nutné stanovit kritéria pro přijetí/odmítnutí provozu autoklávu a je nutné vést záznamy, včetně teploty a času během jednotlivých cyklů.
- (d) Monitorování se provádí jedním z následujících postupů:
 - (i) využitím termočlánku a zapisovače, který vytvoří graf nebo vytiskne hodnoty;
 - (ii) přímým pozorováním a zaznamenáváním maximálně dosažené teploty a doby výdrže na této teplotě.

Kromě přímého sledování teploty autoklávu je možné kontrolovat účinnost jeho provozu během každého cyklu s využitím chemických nebo biologických indikátorů pro účely sterilizace /dekontaminace.

Autoklávová páska nebo indikátorové proužky by měly být používány pouze na prokázání toho, že náplň byla zpracována a nikoli jako důkaz dokončení přijatelného cyklu.

6.2.5 Váhy a závaží

Váhy a závaží by měly být sledovatelným způsobem kalibrovány v pravidelných intervalech (v souladu s jejich zamýšleným využitím).

6.2.6 Volumetrická zařízení

- (a) V mikrobiologické laboratoři mohou být využívána veškerá volumetrická zařízení, jako jsou automatické dávkovače, dávkovače/zřed'ovače, mechanické ruční pipety a pipety na jedno použití. Laboratoře by měly provádět počáteční ověření volumetrického zařízení a potom provádět pravidelné kontroly toho, že zařízení funguje v rámci požadovaných specifikací. Ověření není případně nutné pro skleněné nádoby, které bylo certifikováno na specifickou toleranci. Zařízení je třeba kontrolovat z hlediska správnosti poskytovaného objemu proti stanovenému objemu (pro několik různých nastavení v případě objemových zařízení s proměnlivým objemem) a měla by být změřena přesnost opakovaného poskytovaného objemu.
- (b) V případě 'jednorázových' volumetrických zařízení na jedno použití by měly laboratoře nakupovat své zásoby od společností, které mají zaveden uznávaný a vhodný systém jakosti. Po počáteční validaci vhodnosti zařízení se doporučují náhodné kontroly přesnosti. Jestliže dodavatel nemá zaveden uznávaný systém jakosti, laboratoře by měly zkontrolovat každou dávku zařízení z hlediska její vhodnosti.

6.2.7 Další zařízení

Měřicí přístroje na vodivost, obsah kyslíku, pH metry a další podobná zařízení je třeba ověřovat pravidelně před každým použitím. Tlumivé roztoky používané k ověření by měly být skladovány za vhodných podmínek a měly by být označeny datem povinné spotřeby.

V případech, kde je pro výsledek zkoušky významná vlhkost, použijí se kalibrované hygrometry, přičemž jejich kalibrace musí být navázána na národní nebo mezinárodní standardy.

Časovače, včetně časovače autoklávu, by měly být ověřovány s využitím kalibrovaného časovače nebo národního časového signálu.

Pokud se při zkušebních postupech využívají odstředivky, mělo by být provedeno posouzení kritické odstředivé síly. V kritických případech musí být odstředivka kalibrována.

7 REAGENTY A KULTURY (ISO 17025, odstavec 4.6 a 5.5)

7.1 Reagenty

Laboratoře by měly zajistit, aby jakost reagentů používaných pro dané zkoušky byla odpovídající. Měly by ověřit vhodnost každé dávky reagentů kritických pro danou zkoušku, a to na počátku a v průběhu doby životnosti, s využitím pozitivních a negativních kontrolních organizmů, které jsou sledovatelné na uznávané národní nebo mezinárodní sbírky kultur.

7.2 Vlastní připravovaná média

7.2.1 Vhodné působení kultur, ředidel a dalších suspendujících tekutin vlastní přípravy by mělo být dle potřeby kontrolováno v souvislosti s:

- obnovou nebo přežitím cílových organizmů,
- inhibicí nebo potlačením jiných než cílových organizmů,

- biochemickými /diferenciálními a diagnostickými vlastnostmi,
- fyzikálními vlastnostmi (např. pH, objem a sterilita).

Přednost by měly dostat kvantitativní postupy k vyhodnocení obnovy nebo přežití (viz také ISO 11133 Část 1 a 2).

7.2.2 Surové materiály (jak komerčně dostupné dehydrované přípravky tak jednotlivé složky) by měly být skladovány za vhodných podmínek, např. v chladu, suchu a temnu. Veškeré nádoby, zvláště pak nádoby obsahující dehydrovaná média, by měly být dobře utěsněné. Neměla by být používána média dehydrovaná, média která vytvořila koláč, popraskala na povrchu nebo vykazují změnu barvy. Pokud zkušební metoda nestanoví jinak, měla by být pro ředění používána voda destilovaná, deionizovaná nebo vyrobená reverzní osmózou bez obsahu baktericidních, inhibičních nebo interferujících látek.

7.2.3 Měla by být stanovena a ověřena trvanlivost připravovaných médií za definovaných skladovacích podmínek.

7.3 Média k přímému použití

7.3.1 Veškerá média (a ředidla a další suspendující tekutiny) nakoupené ve stavu k přímému použití nebo částečně dokončené, vyžadují před použitím validaci. Vyhodnocení působení v oblasti obnovy a přežití cílových organismů a inhibice nebo potlačení jiných než cílových organismů musí být plně kvantitativní; s pomocí objektivních kritérií je třeba vyhodnotit jejich atributy (např. fyzikální a biochemické vlastnosti).

7.3.2 Jako součást validace potřebuje mít laboratoř používající tyto materiály odpovídající znalost jakostních specifikací výrobce, které musí obsahovat minimálně následující:

- název média a seznam jeho složek, včetně případných doplňků
- trvanlivost a použitá kritéria přijatelnosti
- podmínky skladování
- režim/frekvence odběru vzorků
- kontrola sterility
- kontrola růstu použitých cílových a jiných než cílových organismů (s jejich referenčními kulturami) a
- kritéria přijatelnosti
- fyzikální kontrola a použitá kritéria přijatelnosti
- datum vydání specifikace

7.3.3 Dávky médií musí být identifikovatelné. Každá přijatá dávka by měla být doprovázena důkazem o tom, že splňuje specifikace jakosti. Laboratoř využívající média by měla zajistit, aby ji výrobce informoval o případných změnách ve specifikacích jakosti.

7.3.4 Pokud jsou média k přímému použití nebo částečně dokončená média od výrobce pokryta uznávaným systémem jakosti (např. systém registrovaný dle řady ISO 9000), v souladu s očekáváním konzistentních dodávek může laboratoř využít kontrol souladu dodávek se specifikacemi, které byly definovány při počáteční validaci. Za jiných okolností bude nutné podrobit každou přijatou dávku příslušné kontrole.

7.4 Označování štítky

Laboratoře jsou povinny zajistit, aby všechny reagenty (včetně zásobních roztoků), média, ředidla a další suspendující tekutiny byly řádně označeny štítkem, který musí dle potřeby uvádět identitu, koncentraci, skladovací podmínky, datum přípravy, validované datum povinné spotřeby a /nebo doporučená období skladování. Osoba odpovědná za přípravu by měla být ze záznamů identifikovatelná.

8 REFERENČNÍ MATERIÁLY A REFERENČNÍ KULTURY (ISO 17025, odstavec 5.6.3)

8.1 Referenční materiály

Referenční materiály a certifikované referenční materiály (viz definice v PŘÍLOZE A) zajišťují potřebnou návaznost měření a používají se např. pro:

- demonstrování přesnosti výsledků,
- kalibraci zařízení,
- monitorování výkonu laboratoře,
- validaci metod a
- srovnávání metod.

Referenční materiály by měly být používány pokud možno ve vhodných maticích.

8.2 Referenční kultury

8.2.1 Referenční kultury se využívají při stanovování přijatelného výkonu médií (včetně zkušebních souprav), pro validaci metod a pro posuzování/vyhodnocení průběžného výkonu laboratoře. Návaznost je nezbytná například při stanovení výkonu média v dané zkušební soupravě a při validaci metod. K prokázání návaznosti musí laboratoře použít referenční kmeny mikroorganismů získané přímo z uznaných národních nebo mezinárodních sbírek, pokud existují. Alternativně je možné použít komerční deriváty, u kterých laboratoř prokázala, že všechny jejich relevantní vlastnosti jsou v místě použití ekvivalentní.

8.2.2 Podle pokynů ISO 11133-1 mohou být referenční kmeny za účelem získání referenčního materiálu jednou subkultivovány. Paralelně by měly být dle potřeby prováděny kontroly čistoty a biochemické zkoušky. Referenční materiál se doporučuje skladovat v alikvotních množstvích buď hluboko zmrazený nebo lyofilizovaný. Pracovní kultury pro běžné využití by měly být primárně subkulturami z referenčních kultur (viz PŘÍLOHA C o přípravě pracovních kultur). Pokud byla referenční kultura rozmrazena, nesmí být opakovaně zamrazena a později použita.

8.2.3 Pracovní kultury by neměly být subkultivovány, pokud tak nepožaduje a nedefinuje standardní metoda nebo pokud laboratoř neposkytne písemný důkaz, že u žádné relevantní vlastnosti nedošlo ke změně. Pracovní kultury nesmí být subkultivovány k nahrazování referenčních kultur.

Komerční deriváty referenčních kmenů mohou být použity pouze jako pracovní kultury.

9 ODBĚR VZORKŮ (ISO 17025, odstavec 5.7)

9.1 V mnoha případech jsou zkušební laboratoře odpovědné za primární odběr vzorků, kterým se získávají zkušební položky. Pokud za odběr vzorků odpovědné jsou, silně se doporučuje, aby tento odběr vzorků byl pokryt zajištěním jakosti a v ideálním případě akreditací.

9.2 Doprava a skladování by měly probíhat za podmínek, které zachovávají integritu vzorku (např. dle potřeby zchlazení nebo zmrazení). Podmínky je třeba sledovat a vést o nich záznamy. Dle potřeby je nutné jasně dokumentovat odpovědnost za dopravu vzorku a jeho skladování v době mezi odběrem a doručením do zkušební laboratoře. Zkoušení vzorků by mělo být provedeno co nejdříve po odběru a mělo by být v souladu s příslušnými normami a/nebo národními/mezinárodními předpisy.

Odběr vzorků by měl provádět pouze školený personál. Odběr by měl probíhat asepticky s využitím sterilního zařízení. Měly by být monitorovány a zaznamenány podmínky prostředí v místě odběru, např. kontaminace vzduchu a teplota.

10 MANIPULACE SE VZORKY A JEJICH IDENTIFIKACE (ISO 17025, odstavec 5.7 a 5.8)

- 10.1** Mikrobiální flóra může být citlivá na faktory jako je teplota nebo doba skladování a transportu a proto je důležité po převzetí vzorku do laboratoře zkontrolovat a zaznamenat jeho stav.
- 10.2** Laboratoř by měla mít postupy, které pokrývají dodávku vzorků a jejich identifikaci. Pokud je vzorek nedostačující nebo ve špatném stavu v důsledku fyzického poškození, nesprávné teploty, roztrženého balení nebo vadného označení, pak by laboratoř měla s klientem konzultovat, zda vzorek bude zkoušet nebo jej odmítne. V každém případě by měl být stav vzorku uveden ve zkušební zprávě.
- 10.3** Laboratoř by měla zaznamenat veškeré relevantní informace a zvláště informace následující:
- (a) datum a v relevantním případě dobu obdržení vzorku;
 - (b) stav vzorku po obdržení, dle potřeby, jeho teplotu;
 - (c) charakteristiky operace odběru vzorků (datum odběru, podmínky odběru, atd.).
- 10.4** Vzorky čekající na zkoušky by měly být skladovány za vhodných podmínek tak, aby se minimalizovaly změny na případně přítomných mikrobiálních populacích. Podmínky skladování by měly být definovány a zaznamenány.
- 10.5** Obaly a štítky na vzorcích mohou být výrazně kontaminovány a jejich manipulace a skladování by měly být prováděny opatrně, aby se zabránilo případnému šíření kontaminace.
- 10.6** Odběr menších vzorků ze vzorků bezprostředně před provedením zkoušky je považován za součást zkušební metody. Měl by být prováděn v souladu s národními nebo mezinárodními standardy, pokud nějaké existují, nebo s využitím validovaných interních metod.
- Postupy takového odběru vzorků ze vzorků by měly být navrženy tak, aby zohlednily nerovnoměrné rozdělení mikroorganismů (obecné pokyny jsou uvedeny v ISO 6887 a ISO 7218).
- 10.7** Měl by být sepsán postup pro uchovávání a likvidaci vzorků. Vzorky by měly být skladovány až do doby obdržení výsledků, nebo dle potřeby déle. Části laboratorních vzorků o kterých je známo, že jsou vysoce kontaminované, by měly být před likvidací dekontaminovány (viz 11.1).

11 LIKVIDACE KONTAMINOVANÉHO ODPADU

- 11.1** Správná likvidace kontaminovaných materiálů nemusí mít přímý vliv na jakost analýzy vzorku, ale přesto by měly být navrženy postupy minimalizující možnost kontaminace zkušebního prostředí nebo materiálů. Nicméně je likvidace záležitostí řádného vedení laboratoře a měla by probíhat v souladu s národními/mezinárodními předpisy v oblasti ochrany životního prostředí, zdraví a bezpečnosti (viz také ISO 7218).

12 ZAJIŠTĚNÍ JAKOSTI VÝSLEDKŮ/ŘÍZENÍ JAKOSTI PROVÁDĚNÍ (ISO 17025, odstavec 5.9)

12.1 Interní kontroly jakosti

12.1.1 Interní kontroly jakosti jsou tvořeny všemi postupy, které laboratoř provádí k průběžnému vyhodnocování své práce. Hlavním cílem je zajistit konsistentní každodenní výsledky a jejich soulad s definovanými kritérii.

12.1.2 Je nutné mít program pravidelných kontrol, kterými se prokáže, že kolísavost výsledků (tj. mezi výsledky jednotlivých analytiků, výsledky na různých zařízeních a materiálech atd.) je pod kontrolou. Program musí pokrývat veškeré zkoušky v rozsahu akreditace laboratoře. Program může zahrnovat:

- použití připravených vzorků
- použití referenčních materiálů (včetně materiálů z programů zkoušek způsobilosti)
- vícenásobná zkoušení
- vícenásobná vyhodnocení výsledků zkoušek

Interval mezi těmito kontrolami bude ovlivněn strukturou programu a počtem zkoušek skutečných. Doporučuje se, aby zkoušky pokud možno obsahovaly kontroly, které monitorují jejich provádění.

12.1.3 Ve speciálních případech může být laboratoř akreditována pro zkoušku, jejíž provedení je od laboratoře požadováno jen zřídka. V takových případech se uznává, že průběžný program interních kontrol jakosti může být nevhodný a že vhodnějším řešením může být program demonstrující uspokojivé provedení, který se realizuje paralelně se zkouškou.

12.2 Externí posouzení jakosti (zkoušky způsobilosti)

12.2.1 Laboratoře by se měly pravidelně účastnit zkoušek způsobilosti, které jsou relevantní pro jejich rozsah akreditace, přičemž by měla být dána přednost programům zkoušení způsobilosti, které využívají odpovídající matrice. V konkrétních případech může být účast povinná.

12.2.2 Laboratoře by měly využívat externího posouzení jakosti nejen k posouzení systematické chyby laboratoře, ale také ke kontrole platnosti celého systému jakosti.

13 ZKUŠEBNÍ PROTOKOLY (ISO 17025, odstavec 5.10)

13.1 Jestliže jsou výsledky výpočtu negativní, je třeba je uvést údaj “pro danou jednotku nezjištěno ” nebo “méně než limit detekce pro definovanou jednotku ”. Výsledek by neměl být uveden jako “nula pro definovanou jednotku ” s výjimkou, kdy takový výsledek požaduje regulační orgán. Kvalitativní výsledky by měly být uváděny formou “zjištěno/nezjištěno v definovaném množství nebo objemu ”. Výsledek může být také vyjádřen jako “méně než specifikovaný počet organismů pro definovanou jednotku,” kde specifikovaný počet organismů překračuje detekční limit metody a toto bylo dojednáno s klientem.

13.2 Tam, kde je ve výsledcích zkoušky uvedena nejistota výsledků zkoušky, je třeba klientovi oznámit příslušná omezení (zvláště pokud odhad neobsahuje složky nejistoty, způsobené rozdělením mikroorganismů uvnitř vzorku).

PŘÍLOHA A Slovníček pojmů

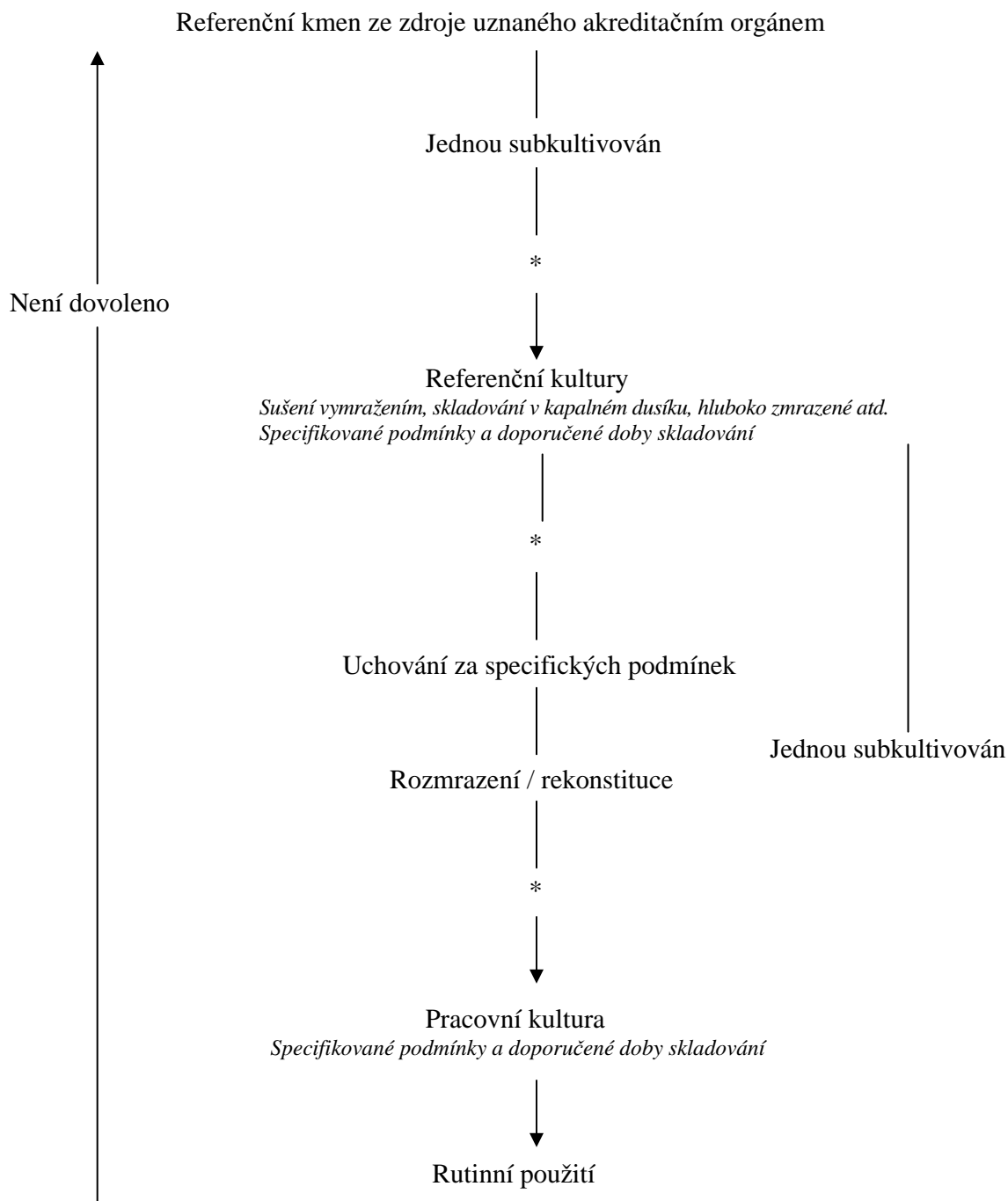
Kalibrace	Viz VIM: 1993 ISO Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii – vyšlo jako ČSN 010115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii
Certifikovaný referenční materiál	Viz VIM: 1993 ISO Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii – vyšlo jako ČSN 010115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii
Limit stanovení	Při aplikaci na kvantitativní mikrobiologické zkoušky - Nejnižší počet mikroorganismů v rámci definované kolísavosti, který je možno stanovit za experimentálních podmínek vyhodnocované metody.
Limit detekce	Při aplikaci na kvalitativní mikrobiologické zkoušky - Nejnižší počet mikroorganismů, který je možné detekovat, avšak v počtech, které není možné přesně odhadnout.
Negativní odchylka	Nastává v případě, že alternativní metoda poskytuje negativní výsledek bez potvrzení zatímco referenční metoda dává výsledek pozitivní. Tato odchylka se stává falešným negativním výsledkem pokud je možné prokázat, že pravdivý výsledek je pozitivní.
Pozitivní odchylka	Nastává v případě, že alternativní metoda poskytuje pozitivní výsledek bez potvrzení zatímco referenční metoda dává výsledek negativní. Tato odchylka se stává falešným pozitivním výsledkem pokud je možné prokázat, že pravdivý výsledek je negativní.
Referenční kultury	Kolektivní pojem pro referenční kmény, referenční kultury a pracovní kultury.
Referenční kmény	Mikroorganismy definované minimálně do úrovně rodu a druhu, katalogované a popsány v souladu s jejich charakteristikami a nejlépe s uvedením původu. [ISO 11133-1:2000]. Běžně se získávají z uznávaných národních nebo mezinárodních sbírek.
Referenční materiál	Viz VIM:1993 ISO Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii – vyšlo jako ČSN 010115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii
Referenční metoda	Pečlivě prozkoumaná metoda, jasně a přesně popisující nutné podmínky a postupy pro měření jedné nebo více hodnot vlastností, o které bylo prokázáno, že její správnost a přesnost jsou vhodné pro zamýšlený účel a může být proto použita k posouzení správnosti dalších metod pro dané měření, zvláště proto, že umožňuje charakterizaci referenčního materiálu. Běžně se jedná o národní nebo mezinárodní standardní metody.
Referenční kultury	Množina oddělených identických kultur získaných jedinou subkultivací z referenčního kmenu. [ISO 11133-1:2000]
Relativní pravdivost	Míra, do jaké výsledky vyhodnocované metody odpovídají výsledkům získaným pomocí uznávané referenční metody.
Opakovatelnost	Viz VIM:1993 ISO Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii – vyšlo jako ČSN 010115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii

Reprodukovatelnost	Viz VIM:1993 ISO Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii – vyšlo jako ČSN 010115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii
Citlivost	Podíl celkového počtu pozitivních kultur nebo kolonií správně přiřazených při předpokládané kontrole. [ISO 13843:2000]
Specifičnost	Podíl celkového počtu negativních kultur nebo kolonií správně přiřazených při předpokládané kontrole. [ISO 13843:2000]
Pracovní kultura	Primární subkultura z referenční kultury. [ISO 11133-1:2000]
Validace	Viz ČSN EN ISO 9000:2000
Verifikace	Viz ČSN EN ISO 9000:2000

PŘÍLOHA B Odkazy

1. ISO/IEC 17025, Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří.
2. ISO 7218, Mikrobiologie potravin a krmiv – Obecná pravidla pro mikrobiologická vyšetření.
3. ISO 6887-1, Příprava zředění.
4. ISO Příručka 30, Pojmy a definice používané v souvislosti s referenčními materiály.
5. ISO 9000, Systémy řízení jakosti – základy a slovník.
6. VIM: 1993, ISO Mezinárodní slovník základních a obecných pojmů v metrologii.
7. ISO (CIPM):1995, Pokyny pro vyjadřování nejistoty měření.
8. Návrh ISO/DIS 16140, Mikrobiologie potravin. Protokol pro validaci alternativních metod.
9. ISO 13843, Jakost vody – Pokyny k validaci mikrobiologických metod.
10. ISO 11133-1, Mikrobiologie potravin a krmiv. Pokyny k přípravě a výrobě kultur. Část 1- Obecné pokyny k zajištění jakosti pro přípravu médií v laboratoři.
11. Návrh ISO/FDIS 11133-2, Mikrobiologie potravin a krmiv. Pokyny k přípravě a výrobě kultur. Část 2- Praktické pokyny ke zkoušení výkonu na kulturách.
12. EN 12741, Biotechnologie- Laboratoře pro výzkum, vývoj a analýzu – Pokyny pro operace v biotechnologických laboratořích.

PŘÍLOHA C Obecné použití referenčních kultur



* Paralelní kontroly čistoty a biochemické zkoušky dle potřeby

Všechny části procesu musí být v plné míře dokumentovány a je nutné vést podrobné záznamy o všech jeho etapách.

PŘÍLOHA D Pokyny ke kalibraci a verifikaci výkonu

Tato informace se poskytuje jako vodítko a frekvence bude určena na základě potřeby, typu a předchozího výkonu zařízení.

Typ zařízení	Požadavek	Navrhovaná frekvence
Referenční teploměry (kapalina ve skle)	Úplná návaznost recalibrace Jeden bod (např. kontrola bodu mrazu)	Každých 5 let Ročně
Referenční termočlánky	Úplná návaznost recalibrace Kontrola proti referenčnímu teploměru	Každé 3 roky Ročně
Pracovní teploměry a pracovní termočlánky	Kontrola proti referenčnímu teploměru v bodu mrazu a/nebo v rozsahu pracovní teploty	Ročně
Váhy	Úplná návaznost kalibrace	Ročně
Kalibrační závaží	Úplná návaznost kalibrace	Každých 5 let
Kontrolní závaží	Kontrola proti kalibrovanému závaží nebo kontrola na vahách okamžitě po provedení sledovatelné kalibrace	Ročně
Volumetrické skleněné nádoby	Gravimetrická kalibrace na požadovanou toleranci	Ročně
Mikroskopy	Návaznost kalibrace stupňovaného mikrometru (dle potřeby)	Při zahájení provozu
Hygrometry	Návaznost kalibrace	Ročně
Odstředivky	Návaznost kalibrace nebo kontrola proti nezávislému tachometru, dle potřeby	Ročně

PŘÍLOHA E Pokyny k validaci zařízení a verifikaci výkonu

Tato informace se poskytuje jako vodítko a frekvence bude určena na základě potřeby, typu a předchozího výkonu zařízení.

Typ zařízení	Požadavek	Navrhovaná frekvence
Zařízení s řízenou teplotou (inkubátory, lázně, chladničky, mrazáky)	(a) Stanovení stability a rovnoměrnosti teploty (b) Sledování teploty	(a) Při zahájení provozu, každé dva roky a po opravě / modifikaci (b) Denně/při každém použití
Sterilizační pece	(a) Stanovení stability a rovnoměrnosti teploty (b) Sledování teploty	(a) Při zahájení provozu, každé dva roky a po opravě / modifikaci (b) Při každém použití
Autoklávy	(a) Stanovení charakteristik pro náplně/cykly (b) Sledování teploty/času	(a) Při zahájení provozu, každé dva roky a po opravě / modifikaci (b) Při každém použití
Bezpečnostní skříně	(a) Stanovení výkonu (b) Mikrobiologické sledování (c) Sledování toku vzduchu	(a) Při zahájení provozu, každý rok a po opravě / modifikaci (b) Týdně (c) Při každém použití
Skříně s laminárním prouděním vzduchu	(a) Stanovení výkonu (b) Kontrola sterilními destičkami	(a) Při zahájení provozu a po opravě / modifikaci (b) Týdně
Časovače	Kontrola proti národnímu časovému signálu	Ročně
Mikroskopy	Kontrola souososti	Denně / při každém použití
pH metry	Seřízení s využitím nejméně dvou tlumivých roztoků vhodné jakosti	Denně / při každém použití
Váhy	Kontrola nuly a odečet proti kontrolnímu závaží	Denně / při každém použití
Jednotky pro deionizaci a reverzní osmózu	(a) Kontrola vodivosti (b) Kontrola mikrobiologické kontaminace	(a) Týdně (b) Měsíčně
Gravimetrické zřed'ovače	(a) Kontrola hmotnosti nadávkovaného objemu (b) Kontrola poměru ředění	(a) Denně (b) Denně

Typ zařízení	Požadavek	Navrhovaná frekvence
Dávkaovače médií	Kontrola nadávkovaného objemu	Při každém seřízení nebo výměně
Pipetovače / pipety	Kontrola správnosti a přesnosti nadávkovaného objemu	Pravidelně (definuje se s ohledem na frekvenci a charakter použití)
Spirálové pokovovací zařízení	(a) Stanovení výkonu proti konvenční metodě (b) Kontrola stavu hrotu a počátečního a konečného bodu (c) Kontrola nadávkovaného objemu	(a) Při zahájení provozu a ročně (b) Denně / při každém použití (c) Měsíčně
Počítače kolonií	Kontrola proti manuálně zjištěnému počtu	Ročně
Odstředivky	Kontrola rychlosti proti kalibrovanému a nezávislému tachometru	Ročně
Anaerobní nádoby / inkubátory	Kontrola anaerobním indikátorem	Při každém použití
Laboratorní prostředí	Sledování vzdušné a povrchové mikrobiologické kontaminace s využitím např. vzorkovačů vzduchu, usazovacích misek, kontaktních destiček nebo tampónů	Týdně

PŘÍLOHA F Pokyny k údržbě zařízení

Tato informace se poskytuje jako vodítko a frekvence bude určena na základě potřeby, typu a předchozího výkonu zařízení.

Typ zařízení	Požadavek	Navrhovaná frekvence
(a) Inkubátory (b) Chladničky (c) Mrazničky, pece	Vyčištění a desinfekce vnitřních povrchů	(a) Měsíčně (b) Dle potřeby (např. každé 3 měsíce) (c) Dle potřeby (např. ročně)
Vodní lázně	Vypuštění, vyčištění, desinfekce a opakované naplnění	Měsíčně nebo každých 6 měsíců, pokud je použit biocid
Odstředivky	(a) Servis (b) Vyčištění a desinfekce	(a) Ročně (b) Při každém použití
Autoklávy	(a) Vizuální kontrola těsnění, vyčištění / vysušení komory (b) Plný servis (c) Bezpečnostní revize tlakové nádoby	(a) Pravidelně nebo dle doporučení výrobce (b) Ročně nebo dle doporučení výrobce (c) Ročně
Bezpečnostní skříně, skříně s laminárním prouděním	Úplný servis a mechanická kontrola	Ročně nebo dle doporučení výrobce
Mikroskopy	Plná servisní údržba	Ročně
pH metry	Vyčištění elektrod	Při každém použití
Váhy, gravimetrické zředovače	(a) Vyčištění (b) Servis	(a) Při každém použití (b) Ročně
Destilační přístroje	Vyčištění a odstranění vodního kamene	Dle potřeby (např. každé 3 měsíce)
Jednotky pro deionizaci a reverzní osmózu	Výměna cartridge / membrány	Dle doporučení výrobce
Anaerobní nádoby	Vyčištění/desinfekce	Po každém použití
Dávkovače médií, volumetrická zařízení, pipety a obecná servisní zařízení	Dekontaminace, vyčištění a sterilizace dle potřeby	Při každém použití
Spirálové pokovovací zařízení	(a) Servis (b) Dekontaminace, vyčištění a sterilizace	(a) Ročně (b) Při každém použití
Laboratoř	(a) Vyčištění a desinfekce pracovních povrchů (b) Vyčištění podlah, desinfekce výlevků a umyvadel (c) Vyčištění a desinfekce ostatních povrchů	(a) Denně a během použití (b) Týdně (c) Každé 3 měsíce