

KAZIMIERA ĆWIEK-LUDWICKA, BOŻENA WINDYGA, KAZIMIERZ KARŁOWSKI

## ZAPEWNIANIE JAKOŚCI W LABORATORIACH MIKROBIOLOGII ŻYWNOŚCI

### QUALITY ASSURANCE IN THE FOOD MICROBIOLOGY LABORATORIES

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku  
Państwowy Zakład Higieny  
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24  
Kierownik: doc. dr hab. K. Karłowski

*Omówiono zagadnienia dotyczące zapewniania jakości badań w laboratorium mikrobiologii żywności. W laboratorium system jakości powinien być udokumentowany i kontrolowany w zakresie przyjmowania, przechowywania i przygotowywania próbek, stosowanych metod badania, środowiska i wyposażenia laboratorium, odczynników pożywek oraz wewnętrznej i zewnętrznej kontroli jakości.*

Zapewnianie jakości (quality assurance) w odniesieniu do laboratorium, zgodnie z definicją zawartą w normie [21], oznacza wszystkie działania jakie są podejmowane w laboratorium w codziennej rutynowej pracy w celu uzyskania wiarygodnych wyników.

Programy dotyczące zarządzania jakością i zapewniania jakości w laboratoriach mikrobiologicznych zostały zaadoptowane znacznie później niż w laboratoriach chemicznych. Spowodowane to było tym, że w ocenie wielu mikrobiologów programy zapewniania jakości mają zbyt biurokratyczne podejście, zużywają niepotrzebnie wiele czasu i nakładów finansowych oraz nie mają zastosowania w odniesieniu do badań mikrobiologicznych.

Jednak jak wynika z doświadczenia laboratoriów, które już wdrożyły system zapewniania jakości, przyczynia się on do oszczędności czasu i pieniędzy poprzez ograniczenie wielokrotnego powtarzania analizy z powodu niepewności analityka co do prawidłowości uzyskanego wyniku. Również dokumentowanie badań w zakresie kontroli jakości, w sposób ciągły, zgodnie z obowiązującymi wymaganiami norm [22, 23] sprawia, że wyniki są akceptowane bez zastrzeżeń. Taki sposób postępowania zapewnia wiarygodność i rzetelność wykonywanych analiz wpływając na prawidłowe funkcjonowanie laboratorium.

W laboratoriach mikrobiologicznych, podobnie jak w laboratoriach chemicznych [6, 12, 20, 22, 23], istotne znaczenie w zakresie zapewnienia jakości badań mają:

- 1) sposób pobierania/przyjmowania, przechowywania i przygotowywania próbek,
- 2) metoda badania,
- 3) środowisko laboratorium, tzn. warunki, w jakich badania są wykonywane,
- 4) wyposażenie i sprzęt używany w laboratorium,

- 5) odczynniki i pożywki mikrobiologiczne,
- 6) poziom wykształcenia personelu;
- 7) wykorzystywanie materiałów referencyjnych (odniesienia);
- 8) wewnętrzna i zewnętrzna kontrola jakości badań.

Jak powszechnie wiadomo, wiele czynników m.in. rodzaj i warunki przechowywania próbek, w istotny sposób może wpływać na wyniki badań mikrobiologicznych. Przechowywanie próbek w nieodpowiednich warunkach, nie przestrzeganie wymagań norm dotyczących czasu w jakim badanie powinno być wykonane począwszy od momentu przygotowania naważki do chwili posiewu odpowiedniego rozcieńczenia do pożywki może spowodować, że wynik nie będzie odzwierciedlał rzeczywistego zanieczyszczenia próbki.

Środowisko laboratorium, czyli warunki w jakich badania są wykonywane, również ma wpływ na jakość badań mikrobiologicznych. Dlatego też laboratorium mikrobiologiczne powinno być wyposażone w taki sposób aby zapewnić odpowiednie warunki uwzględniając rodzaj wykonywanych badań. Powinno ono m.in. mieć wydzielone pomieszczenie do pracy w warunkach jałowych (boks), komorę laminarną z poziomym lub pionowym przepływem powietrza i odpowiednie miejsce do pracy nie wymagającej zachowania jałowości [28].

Istotne znaczenie ma również wybór metodyki badania, gdyż od rodzaju metody zależy prawidłowe wykrywanie lub oznaczanie liczby drobnoustrojów. Metoda odpowiednia dla jednego rodzaju badań, może okazać się całkowicie nieprzydatna dla innego [3, 16, 27, 28, 30].

Sprzęt i wyposażenie wykorzystywane w laboratorium powinny być odpowiedniej jakości pozwalając na uzyskiwanie wyników odzwierciedlających stan rzeczywisty. Także odczynniki i pożywki powinny mieć wymaganą jakość, odpowiednią dla określonego rodzaju wykonywanych badań.

Materiały odniesienia i certyfikowane materiały odniesienia, wykorzystywane obecnie dość powszechnie w analizach chemicznych, w przypadku badań mikrobiologicznych stosowane są w ograniczonym zakresie z powodu trudności w uzyskaniu stabilnego materiału odniesienia zawierającego szczepy drobnoustrojów [4, 15]. Dlatego też możliwe jest stosowanie samych szczepów drobnoustrojów. Jednak materiał taki nie uwzględnia wpływu złożonej i różnorodnej matrycy jaką stanowi żywność, ani trudności przy identyfikacji drobnoustrojów izolowanych w normalnych warunkach badania.

Stosowany system wewnętrznej i zewnętrznej kontroli badań mikrobiologicznych powinien być udokumentowany aby istniała możliwość prześledzenia całego procesu postępowania.

#### Przyjmowanie, przechowywanie i przygotowywanie próbek

Pobieranie próbek do badań nie jest częścią ogólnych zasad badań mikrobiologicznych, dlatego też norma PN-ISO-7218:1996 [28] nie obejmuje tego zagadnienia.

Szczegółowy sposób pobierania próbek żywności do badań mikrobiologicznych podają Polskie Normy odnoszące się do poszczególnych grup produktów spożywczych np. mleko i przetwory mleczarskie [27]; mięso i przetwory mięsne [24]. W przypadku braku odpowiedniej Polskiej Normy sposób postępowania należy uzgodnić pomiędzy zainteresowanymi stronami. Zagadnienie dotyczące pobierania próbek do badań mikrobiologicznych omawia także monografia International Commission on Microbiological

Specification for Foods. Microorganisms in Foods. 2. Sampling for microbiological analysis [11].

Pobieranie i transport próbek do laboratorium powinien odbywać się w ściśle określonych warunkach zabezpieczając produkt przed zanieczyszczeniem i zmianami rodzaju i liczby drobnoustrojów zanim próbka będzie poddana badaniu [28].

Przed pobraniem próbek powinien być określony cel badań mikrobiologicznych, np. ocena czystości linii produkcyjnej, skuteczność zabiegów termicznych, czy też ocena jakości surowców, półproduktów lub produktu gotowego.

Pobieranie próbek do badań mikrobiologicznych na poszczególnych etapach procesu produkcji żywności w krytycznych punktach kontrolnych (system HACCP) ma na celu ocenę przebiegu procesu i kontrolę miejsc, które mogą stwarzać potencjalne zagrożenie w odniesieniu do końcowego produktu. W miejscach tych musi być prowadzony stały monitoring zapewniający ciągły nadzór procesu [7, 10].

Próbki produktu pobierane do badań mikrobiologicznych w ramach nadzoru sanitarnego służą do oceny jego jakości w zakresie spełniania wymagań określonych przepisami, a tym samym przydatności produktu do konsumpcji. W przypadku zakwestionowania produktu, na podstawie wyników badań, laboratorium powinno mieć możliwość udokumentowania, że kontrola jakości badań jest przestrzegana począwszy od przyjęcia próbki do laboratorium do chwili przekazania końcowego raportu z badań.

Laboratorium wykonujące badania mikrobiologiczne powinno posiadać udokumentowane procedury przyjmowania, przechowywania i przygotowywania próbek do badań. Próbkom dostarczonym do laboratorium powinien być nadany kod identyfikacyjny towarzyszący im od chwili przyjęcia do końca badania. Zarejestrowane powinny być również data i czas przyjęcia próbki do laboratorium. Także dodatkowe informacje dotyczące próbki, włączając warunki pobrania oraz nazwisko osoby pobierającej próbkę, powinny stanowić dokumentację laboratorium [16, 22, 28].

Stan mikrobiologicznego zanieczyszczenia próbki żywności może zmieniać się w zależności od warunków jej przechowywania w laboratorium. Jeżeli próbka przed badaniem będzie przechowywana w temp.  $-18^{\circ}\text{C}$  niektóre drobnoustroje mogą ulec inaktywacji, natomiast przechowywanie jej w podwyższonej temperaturze może spowodować namnażanie drobnoustrojów [9, 28]. Dlatego od momentu przyjęcia próbek do laboratorium do czasu wykonania badania, powinny być one przechowywane w odpowiednich warunkach zapobiegających zmianom liczby drobnoustrojów. Np. próbki żywności świeżej (nie ulegającej łatwemu zepsuciu) należy przechowywać w temperaturze  $0-4^{\circ}\text{C}$ , a żywności mrożonej w stanie zamrożenia w temperaturze poniżej  $-18^{\circ}\text{C}$ . Żywność konserwowa lub w postaci suchej może być przechowywana w temperaturze pokojowej [28]. Wszystkie próbki żywności powinny być poddane badaniu w odpowiednim czasie określonym w normach dotyczących wykonywania badań mikrobiologicznych dla poszczególnych grup środków spożywczych. Również sposób przygotowywania próbek powinien być zgodny z procedurą podaną w odpowiednich Polskich Normach odnoszących się do danego produktu [24, 27, 28].

Zaleca się aby analizy mikrobiologiczne były wykonywane w specjalnych pomieszczeniach lub komorach z laminarnym, przepływem powietrza zabezpieczając próbkę przed zanieczyszczeniem. Jeśli nie ma takich warunków, to produkty o niskim zanie-

czyszczeniu drobnoustrojami (np. produkty pasteryzowane, dania gotowe) należy badać w pierwszej kolejności tzn. przed produktami bardziej zanieczyszczonymi [28].

Laboratorium powinno również stosować odpowiednią procedurę opisującą sposób bezpiecznego postępowania ze sprzętem i szkłem laboratoryjnym używanym podczas badań mikrobiologicznych. Sprzęt, w tym również jednorazowego użytku, oraz szkło zawierające hodowle drobnoustrojów przed umyciem lub usunięciem z laboratorium, aby nie stanowiły zagrożenia, należy poddać odkażeniu stosując jedną z podanych metod:

(1) sterylizację w nasyconej parze wodnej w autoklawie w temperaturze 121°C przez co najmniej 30 minut. Taki sposób odkażenia zaleca się dla sprzętu, który bezpośrednio stykał się z drobnoustrojami (płynne i stałe pożywki po inkubacji, zakażone odczynniki itp.).

(2) odkażanie przez zanurzenie w roztworze dezynfekcyjnym. Sposób ten zalecany jest do sprzętu o małych rozmiarach, odpornego na korozję, np. pipet. [28].

### Metody badania

Metody wykrywania i oznaczania liczby drobnoustrojów są związane z rodzajem stosowanych pożywek (np. namnażające, selektywne). Wybór pożywki mikrobiologicznej jest często kompromisem pomiędzy jej zdolnością do hamowania wzrostu mikroflory saprofitycznej a możliwością namnażania drobnoustroju badanego. Selektywność pożywki jest więc ograniczona możliwością wzrostu wykrywanego mikroorganizmu [16].

Metody immunologiczne, takie jak np. immunofluorescencja, ELISA (Enzyme-Linked-Immuno-Screening Assay) zależą od dostępności surowicy odpornościowej o wysokiej specyficzności. Ostatnio stosowane są również metody wykorzystujące biologię molekularną, takie jak PCR (Polimerase Chain Reaction) polegające na ustaleniu specyficznej dla badanego drobnoustroju sekwencji kwasów nukleinowych. Jednak wielu z tych metod nie wykorzystuje się w laboratoriach mikrobiologicznych wykonujących rutynowe analizy żywności [3, 10, 30].

Wybór odpowiedniej metody do badań mikrobiologicznych będzie zatem zależał od możliwości laboratorium oraz celu w jakim analiza będzie wykonywana. Żadna z metod nie jest uniwersalna i odpowiednia dla każdego celu [16].

Niekiedy istnieje potrzeba uzyskania wyniku w czasie krótszym niż wynosi czas inkubacji danego drobnoustroju przy zastosowaniu klasycznych metod mikrobiologicznych, wówczas stosuje się szybkie testy. Testy, takie jak np. 1–2 test f-my Vicam L.P i PATH-STIK f-my Lumac do wykrywania *Salmonella*, czy Listertest Lift Test lub test Gene Trak System (GTS) f-my Vicam L.P do wykrywania *Listeria monocytogenes* produkowane i stosowane są w coraz większym zakresie. Zostały one zlikwidowane i uzyskały pozytywną ocenę AOAC (Association of Official Analytical Chemists) i FSIS (Food Safety and Inspection Service, USA) [31].

Jednak badanie próbek produktu spożywczego w laboratoriach państwowych służb kontrolnych powinno uwzględniać stosowanie klasycznych metod mikrobiologicznych. Zastosowana metoda powinna być w pełni udokumentowana i zwalidowana [17]. Metody urzędowe i metody uznane przez narodowe i międzynarodowe organizacje normalizacyjne zazwyczaj są już zwalidowane. Niektóre organizacje międzynarodowe, takie jak AOAC (Association of Official Analytical Chemists), ISO (International Standard Organisation) dokonują walidacji metod mikrobiologicznych w badaniach międzylabo-

ratoryjnych i publikują je. Jednakże w przypadku metod, dla których brak jest walidacji konieczne jest jej przeprowadzenie i przechowywanie danych dla wyznaczonych parametrów.

Walidacja metod mikrobiologicznych w zakresie ilościowej i jakościowej analizy powinna uwzględniać następujące parametry statystyczne [16]:

- 1) dokładność (accuracy),
- 2) precyzję (precision) wyrażoną jako powtarzalność (repeatability) i odtwarzalność (reproducibility),
- 3) specyficzność (specificity) i brak wpływu matrycy,
- 4) czułość (sensitivity),
- 5) praktyczność (practicality), czyli zakres stosowania i przydatność do określonego celu,
- 6) granicę wykrywalności (limit of detection),
- 7) granicę oznaczalności (limit of determination).

Dla potrzeb walidacji metod mikrobiologicznych, należy stosować produkty zanieczyszczone w sposób naturalny, o ile są one dostępne, lub produkty fortyfikowane znanymi ilościami drobnoustrojów [1, 17].

Metody mikrobiologiczne wykorzystywane w kraju do badania żywności publikowane są w Polskich Normach metodycznych odnoszących się do określonych grup środków spożywczych. W innych krajach korzysta się z metod AOAC (Association of Official Analytical Chemists) [3] BAM (Bacteriological Analytical Manual of U. S. Food and Drug Administration) [30], ISO (International Standard Organization) IDF (International Dairy Federation) i CEN (Comite Europeen de Normalisation) lub własnych metod udokumentowanych i zwalidowanych przez laboratorium.

### Środowisko laboratorium

Środowisko laboratorium tzn. warunki w jakich wykonywane są badania mikrobiologiczne nie może w negatywny sposób wpływać na wynik badań. Mikrobiologiczny monitoring środowiska laboratorium powinien być prowadzony w sposób stały i obejmować badanie powierzchni i powietrza w laboratorium na obecność drobnoustrojów aby mieć pewność, że nie stanowią one źródła zanieczyszczenia [16].

Podłogi, ściany, sufit i blaty stołów w laboratorium powinny być wykonane z odpowiednich materiałów gładkich, łatwych do mycia i utrzymania w czystości oraz dezynfekcji. Personel analityczny powinien nosić ochronne ubranie i zdejmować je przed opuszczeniem obszaru laboratorium [28].

Najlepiej jeśli laboratorium jest zaprojektowane zgodnie z zachowaniem kierunku drogi próbki („no way back”).

Zaleca się aby laboratorium mikrobiologiczne posiadało oddzielne pomieszczenia dla:

- przyjmowania i przechowywania próbek;
- przygotowywania oraz sterylizacji pożywek hodowlanych i sprzętu;
- wykonywania analiz (przygotowywanie próbek, rozcieńczanie, wykonywanie posiewów, inkubacja, przechowywanie szczepów);
- odkazania i mycia sprzętu, niszczenia odpadków po badaniach.

Dodatkowo laboratorium powinno posiadać pomieszczenia administracyjne (sekretariat, archiwum, magazyny), socjalne (pokój śniadaniowy, szatnie) i sanitarne (natryski, toalety) [26].

#### Wyposażenie i sprzęt

Wyposażenie i sprzęt używane do badań mikrobiologicznych należy przechowywać w odpowiednich warunkach, a laboratorium powinno wdrożyć i dokumentować program obejmujący kalibrację i przeprowadzanie weryfikacji tego wyposażenia. Podstawowe wyposażenie, takie jak m.in. łaźnie wodne, autoklawy, cieplarki, chłodziarki, wagi, pH-metry, mikroskopy należy utrzymywać w czystości, regularnie sprawdzać oraz poddawać kalibracji, a tam gdzie jest wymagane również legalizacji [8, 28, 32].

Wskazówki dotyczące parametrów jakie powinny podlegać sprawdzeniu w danym urządzeniu oraz informacje dotyczące częstotliwości przeprowadzania takich sprawdzeń można znaleźć w różnych opracowaniach [8, 9].

#### Odczynniki i pożywki

Wszystkie odczynniki, pożywki i roztwory używane w badaniach mikrobiologicznych należy przygotowywać zgodnie z udokumentowaną procedurą stosowaną w laboratorium mikrobiologicznym.

Prawidłowe przygotowanie pożywek jest podstawą analizy mikrobiologicznej [2]. Pożywki można przygotowywać z suchych składników lub z suchych kompletnych pożywek. Do ich przygotowania należy stosować wodę destylowaną nie zawierającą substancji hamujących lub oddziaływujących na wzrost drobnoustrojów. Woda dejonizowana po przepuszczeniu przez wymiennicze jonowe często zawiera dużą liczbę drobnoustrojów, dlatego też zaleca się wyjaławianie jej metodą filtracji [9, 28].

W przypadku stosowania odczynników i pożywek gotowych do bezpośredniego użycia należy przestrzegać instrukcji producenta dotyczącej okresu trwałości, warunków i temperatury ich przechowywania oraz kontroli [18, 28].

#### Personel

Badania mikrobiologiczne żywności powinny wykonywać osoby kompetentne, posiadające odpowiednie kwalifikacje i wykształcenie w zakresie mikrobiologii, z uwzględnieniem metod i technik badania stosowanych w laboratorium. Analitycy powinni uczestniczyć systematycznie w szkoleniach, zarówno ogólnych jak i specjalistycznych obejmujących nowe techniki badawcze, aby stale poszerzali posiadaną wiedzę i kompetencje oraz mogli szkolić personel pomocniczy, za którego prace są odpowiedzialni [28].

Personel laboratorium powinien być również przeszkolony w zakresie bezpieczeństwa i higieny pracy.

#### Materiały odniesienia

Stosowanie certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) wynika z potrzeby prowadzenia wewnętrznej kontroli jakości badań w laboratorium, zgodnie z wymaganiami norm serii 45000 [22, 23] i Przewodnika ISO/IEC [12].

Koncepcja stosowania CRM w laboratoriach chemicznych jest dobrze znana i stosowana z powodzeniem od wielu lat. W laboratoriach mikrobiologicznych do niedawna w ogóle nie mówiło się o materiałach odniesienia. Ostatnio stają się one dostępne, chociaż nadal w ograniczonym zakresie. Wytwarzanie takich materiałów wymaga za-

szczepienia różnych matryc szczepami drobnoustrojów i określenia ich liczby w badaniach międzylaboratoryjnych z udziałem laboratoriów referencyjnych. Katalog BCR (Community Bureau of Reference) wymienia następujące materiały odniesienia dostępne do badań mikrobiologicznych:

— CRM 506 (mleko w proszku sztucznie zanieczyszczone drobnoustrojami *Enterococcus faecium* (WR 63)),

— CRM 507 (mleko w proszku sztucznie zanieczyszczone *Salmonella typhimurium* (ALM 40)),

— CRM 527 (mleko w proszku sztucznie zanieczyszczone *Enterobacter cloacae* (WR3)),

— CRM 528 (mleko w proszku sztucznie zanieczyszczone *Bacillus cereus* (ATLC 9139)),

— CRM 594 (mleko w proszku zanieczyszczone *Escherichia coli* (WR1)),

— CRM 595 (mleko w proszku sztucznie zanieczyszczone *Listeria monocytogenes* (Scott A)).

Materiały te są umieszczone w żelatynowych kapsułkach [4].

Materiały odniesienia są produkowane również przez National Institute of Public Health and Environmental Protection (RIVM) w Bilthoven w Holandii. Poleca się korzystanie z nich przy walidacji nowych metod oznaczania drobnoustrojów *Salmonella* i *Listeria*. Materiały te uznane są przez NAMAS, instytucję akredytującą laboratoria w Anglii [32].

Stosując materiały odniesienia równolegle z próbkami materiału badanego o podobnej matrycy analityk może ocenić dokładność otrzymywanych wyników.

Ponieważ uzyskiwanie materiałów odniesienia napotyka na znaczne trudności, analitykom poleca się aby dodawali określoną liczbę drobnoustrojów do próbki poddawanej analizie traktując ją jako próbkę kontrolną i włączali ją do serii próbek badanych. Takie postępowanie poleca się w badaniach rutynowych.

#### Wewnętrzna kontrola jakości badań

Podstawową funkcją każdego laboratorium, również mikrobiologicznego, jest uzyskiwanie wiarygodnych wyników. Wyniki nie odzwierciedlające stanu faktycznego mogą spowodować przykre konsekwencje, zwłaszcza w sytuacji gdy obecne w badanej próbce żywności drobnoustroje chorobotwórcze nie zostaną wykryte. Aby temu zapobiec należy stosować kontrolę jakości.

Wewnętrzna kontrola jakości badań w laboratorium powinna obejmować wszystkie wymienione wcześniej elementy systemu jakości (personel, metody, wyposażenie, podłoża odczynniki itp.) zapewniając w ten sposób precyzję, dokładność, a także wiarygodność wyników [13, 19].

W laboratorium należy stosować karty kontrolne, a wyniki uzyskane dla materiału kontrolnego, badanego w tej samej serii co próbki badane, nanosić na wykres, na którym powinna być zaznaczona linia wyznaczająca wyniki akceptowane. W przypadku uzyskania wyniku przekraczającego tę linię analiza powinna być powtórzona. Karty kontrolne pozwalają na szybkie pokazanie, że proces analityczny w laboratorium podlega stałej kontroli statystycznej.

Podjęcie w laboratorium skoordynowanych działań w ramach wewnętrznej kontroli jakości może sprawić, że zarówno metody jak i personel wykonujący badania będzie wykonywał je prawidłowo.

Z uwagi na ograniczenia w uzyskaniu materiałów odniesienia do badań mikrobiologicznych, w ramach wewnętrznej kontroli badań stosuje się:

- powtórne, równoległe badanie tych samych próbek przez innego analityka;
- badanie próbek podwójnych;
- analizę próbek fortyfikowanych znaną ilością określonych drobnoustrojów;
- porównanie własnych wyników z wynikami laboratorium referencyjnego.

Przy planowaniu odpowiedniego programu wewnętrznej kontroli jakości laboratorium powinno wykorzystywać różne rodzaje próbek oraz stosować różne typy kontroli.

Program wewnętrznej kontroli jakości w laboratorium może różnić się w zależności od rodzaju badanego materiału oraz rodzaju wykonywanych badań.

W laboratorium, w którym zwykle w normalnych warunkach w próbkach badanych nie stwierdza się obecności drobnoustrojów, w ramach kontroli jakości badanie próbek podwójnych należy wykonywać w minimalnym zakresie. W takiej sytuacji bardziej wskazane jest stosowanie próbek fortyfikowanych badanymi drobnoustrojami w celu zbadania odzysku. Wyniki takich badań będą wskazywać na prawidłowość wykonania analizy przez analityka oraz wykluczać wtórne zanieczyszczenie próbki. Jednakże dla większości laboratoriów program kontroli jakości powinien składać się ze wszystkich podanych wyżej elementów. Częstotliwość wykonywania badań w ramach wewnętrznej kontroli jakości pozostawia się do decyzji laboratorium. Powinna ona jednak stanowić pewną równowagę pomiędzy liczbą próbek badanych a kontrolnych, aby wykonywane w laboratorium analizy nie obejmowały wyłącznie badania próbek w ramach kontroli jakości [9, 32].

Jeśli w rutynowych analizach wykonywanych przez laboratorium badane próbki zwykle są zanieczyszczone drobnoustrojami, wówczas kontrola jakości powinna uwzględniać powtórne, równoległe badanie tych samych próbek przez innego analityka i analizę próbek podwójnych. Laboratorium powinno określić częstotliwość z jaką próbki podwójne lub powtórnie badane w prowadzane będą do serii analiz, np. co każda dwudziesta próbka badana.

Ważne jest aby wszyscy analitycy wykonujący w laboratorium badania uzyskiwali dla tej samej próbki powtarzalne wyniki, mieszczące się w zakresie ustalonych akceptowanych tolerancji. W celu zapewnienia zgodności wyników w badaniach kontrolnych tych samych próbek powinni uczestniczyć ci analitycy, którzy w normalnych warunkach w laboratorium wykonują analizy rutynowo. Przyjęty w laboratorium sposób postępowania w ramach wewnętrznej kontroli jakości powinien być dokładnie opisany oraz uwzględniać potrzeby laboratorium [9, 18, 19, 32].

W ramach wewnętrznej kontroli jakości laboratorium, w miarę możliwości, powinno sprawdzać wiarygodność własnych wyników poprzez porównywanie ich z wynikami dla tej samej próbki uzyskanymi w laboratorium referencyjnym.

#### Zewnętrzna kontrola jakości

Istotnym elementem zapewniania jakości wyników w laboratorium jest udział w zewnętrznych programach międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych, tzw. badaniach biegłości (proficiency testing). Przynoszą one laboratorium wiele korzyści. Dają



możliwość niezależnej oceny laboratorium oraz porównania własnych wyników z wynikami innych laboratoriów biorących udział w badaniach [8, 14, 29]. Badania takie dla laboratoriów chemicznych organizowane są od wielu lat w szerokim zakresie. Natomiast badania biegłości dla laboratoriów zajmujących się mikrobiologicznym badaniem żywności organizowane są stosunkowo rzadko i w ograniczonym zakresie. Jest to spowodowane trudnościami w uzyskaniu i dystrybucji stabilnej, homogennej próbki materiału do tego typu badań [19].

W Europie badania biegłości w zakresie mikrobiologicznej analizy żywności organizowane są m.in. w Anglii przez Ministerstwo Rolnictwa, Rybołówstwa i Żywności (MAFF) w ramach programu Food Analysis Performance Assessment (FAPAS) oraz przez Laboratorium Higieny Żywności Public Health Laboratory Services Food Microbiology w ramach programu PHLS Food Microbiology EQAS [33]. Udział w tych badaniach dla zainteresowanych laboratoriów jest otwarty, lecz na ogół odpłatny. Każde laboratorium mikrobiologiczne, w miarę możliwości, powinno uczestniczyć w tego typu międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych.

### Akredytacja

Wdrożenie w laboratorium udokumentowanego systemu zapewniania jakości jest wymagane przy ubieganiu się o akredytację, udzielaną przez niezależną instytucję [5, 20]. W Polsce jest nią Polskie Centrum Badań i Certyfikacji.

Akredytacja przynosi laboratorium wiele korzyści wpływając na poprawę jego statusu i prowadząc do międzynarodowego uznawania wyników.

W większości laboratoriów mikrobiologicznych wiele elementów systemu zapewniania jakości stosuje się w rutynowej praktyce, często jednak bez prowadzenia całościowej polityki w tym zakresie oraz pełnej dokumentacji systemu. Dokumentowanie, jak wiadomo, zabiera wiele czasu, jednak znacznie łatwiej jest organizować pracę w laboratorium jeśli ma się zaufanie do wyników, które ono otrzymuje, a prowadzona dokumentacja dostarcza na to dowodów.

Jeśli laboratorium posiada akredytację w zakresie wykonywanych badań, wskazuje to, że procedury wdrożone i stosowane w laboratorium są akceptowane, a ono samo spełnia wymagane kryteria dotyczące zarządzania jakością i zapewniania jakości [12, 23, 22]. Większość jednak zasad wdrażanych w laboratorium wraz z systemem zapewniania jakości wymaga poprawy zarządzania w laboratorium i to najczęściej stanowi podstawową przyczynę opóźnienia przy wprowadzaniu tego systemu.

K. Ćwiek-Ludwicka, B. Windyga, K. Karłowski

## QUALITY ASSURANCE IN THE FOOD MICROBIOLOGY LABORATORIES

### Summary

In the paper the quality assurance system in food microbiology laboratories to ensure the reliability of the analytical data are discussed. To introduce quality assurance system in the laboratory all activities such as sampling, method selection, laboratory environment, equipment, reagents and media, staff, reference materials, internal quality control and external quality control (proficiency testing) that effect on the results must be documented and controlled.

The kind of food sample, condition and time of storage before analysis and proper selection of methodology have significant influence on the result of the microbiological analysis. Equipment used to carry out the test must work properly.

Implementation of the internal and external quality control to the routine work of the food microbiology laboratory means that the production of the results is under control and that the data are reliable. If the quality assurance system is properly implemented and well documented it makes the base for the laboratory to get the accreditation.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Andrews W.H.*: Recommendation for preparing the samples for AOAC collaborative studies of microbiological procedures for foods. *J.Assoc. Off. Anal. Chem.* 1987, 70, 931. – 2. *Asperger H.*: Quality assurance of media in the microbiological laboratory. *Anal. Qual. Assur. GLP Dairy Labs. IDF Special Issue 9302*, 1994, 85. – 3. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 15th ed., *K. Helrich* (Ed.) Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA, 1990. – 4. BCR Reference Materials Catalogue. European Commission, Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM) Brussels, 1996. – 5. *Ćwiek-Ludwicka K., Postupolski J., Struciński P.*: Jakość, akredytacja i certyfikacja w gospodarce rynkowej Cz.I. Jakość i systemy zapewniania jakości według norm międzynarodowych. *Roczn. PZH*, 1992, 43, 3. – 6 – *Ćwiek-Ludwicka K., Karłowski K.*: Zapewnianie jakości analiz w laboratoriach analitycznych. *Roczn. PZH* 1993, 44, 123. – 7. *Ćwiek-Ludwicka K.*: HACCP – system analizy zagrożeń krytycznych punktów kontrolnych dla zapewnienia bezpieczeństwa żywności. *Roczn. PZH* 1995, 46, 39. – 8. *Garfield F. M.*: *Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories*. AOAC, Arlington, USA, 1991. – 9. Handbook for microbiological laboratories introduction to internal quality control of analytical work. Nordic Committee on Food Analysis (NMKL), Report No 5, 1989. – 10. *Hayes D.*: Quality assurance in the microbiology laboratory. *Accred Qual Assur.* Springer-Verlag, 1996, 1, 18

11. International Commission on Microbiological Specification for Foods. *Microorganisms in Foods*. 2. Sampling for microbiological analysis. Principles and specific applications. University of Toronto Press Canada, 1982. – 12. ISO/IEC przewodnik 25:1995. Wymagania ogólne dotyczące kompetencji laboratoriów pomiarowych i badawczych. – 13. *Klaschka S., Weiss H., Dahms S.*: Quality control in the microbiological laboratory: the plate count. *Anal Qual Assur GLP Dairy Labs. IDF Special Issue*, 1994, 367. – 14. *Ludwicki J.K., Góralczyk K., Czaja K.*: Badania biegłości laboratoriów analitycznych – ogólne zasady organizowania i oceny wyników. *Roczn. PZH* 1995, 46, 105. – 15. *Maier E.A., Giepink B., Veld P.H., Mooijman K., Havelaar A.H.*: Reference material and certified reference materials for water and food microbiology. *Fresenius J.Anal. Chem* 1993, 345,140. – 16. Manual of food and quality control. 12. Quality assurance in the food control microbiological laboratory. FAO Food Nutrition Paper 14/12, Rome 1991. – 17. *Martens R.*: The harmonized protocol for collaborative studies to assess method performance. *Anal Qual Assur GLP in Dairy Labs, IDF Special Issue*, 1994, 151. – 18. NAMAS publication NIS 31.: Accreditation for microbiological testing, ed. 2, May 1992. – 19. *Niemela S.L.*: General aspects in the evaluation of quantitative and qualitative microbiological results. *Anal. Qual. Assur. GLP in Dairy Lab.* 1994, 93. – 20. *Postupolski J., Struciński P., Ćwiek-Ludwicka K.*: Jakość, akredytacja i certyfikacja w gospodarce rynkowej. Cz. II. Akredytacja i certyfikacja w świetle norm europejskich. *Roczn. PZH*, 1992, 43, 11.

21. PN-EN 28402:1983. Jakość. Terminologia. – 22. PN-EN45001:1993. Ogólne kryteria działania laboratoriów badawczych. – 23. PN-EN- 45002:1993 Ogólne kryteria oceny laboratoriów badawczych. –24. PN-A- 82055–3:1994 Mięso i przetwory mięsne. Przygotowywanie próbek. – 25. PN- A-82055–8:1994 Mięso i przetwory mięsne. Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności pateczek z rodzaju Salmonella. – 26. PN-A-82055- 9:1994. Mięso i przetwory mięsne.

Badania mikrobiologiczne. Wykrywanie obecności i oznaczanie liczby *Staphylococcus aureus*. – 27. PN-93/A- 86034. Mleko i przetwory mleczarskie. Badania mikrobiologiczne. – 28. PN-ISO-7218:1996. Mikrobiologia żywności i pasz. Ogólne zasady badań. – 29. *Thompson M., Wood R.*: The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing Analytical Laboratories. J. Assoc. Off. Anal. Chem. Int. 1993, 76, 926. – 30. US. Food and Drug Administration 1984. Bacteriological Analytical Manual. 6th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, USA, 1984, 1989

31. U.S. The Referee AOAC, 1996, Vol 20 N<sup>o</sup> 3,5. – 32. *Wilson S., Weir G.*: Food and drink laboratory accreditation. *Chapman & Hall*, London 1994. – 33. VAM Bulletin. Publ. LGG, issue No 11, 1994

Otrzymano: 1996.07.04