

	Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092 Veiledning/Guidance
	Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

Innhold

1. Formål	3
2. Referansestammer.....	3
3. Deltagelse i sammenlignende laboratorieprøvinger (SLP).....	3
4. Opprettholdelse av analysegodkjenning/kompetanse	4
5. Måleusikkerhet	4
6. Kontroll av dyrkningsmedier	5
6.1 Egenproduserte dyrkningsmedier og reagenser	5
6.2 Kommersielle dyrkningsmedier og reagenser	5
7. Testkit og kommersielle metoder	5
8. Holdbarhetstid på dyrkningsmedier, testkit og lignende.....	5
9. Bruk av kjøleinkubatorer.....	6
10. Bruk av samleprøver	6
11. Registrering av rådata.....	6
12. Spesielt for NAAT – Nucleic acid amplification test-metoder (PCR-metoder)	6
12.1 Lokaler, miljø og arbeidsprosedyrer.....	6
12.2 Pipetter.....	6
12.3 Termocykler	7
12.4 Kvalitetskontroll:	7
12.5 Bruk av CT-verdier ved rapportering av kvalitative analyser (gjelder kun for real-time PCR).....	7
13. Overgang til ny utgave av standardmetoder	7
14. Avvik fra standardmetoder	7
15. Resultatangivelse	8
15.1 Kvantitative metoder	8
15.2 Kvalitative metoder	8
15.3 Ved hygiene- og overflateprøver	8
16. Angivelse av prøvetakingstidspunkt og analysetidspunkt ved rapportering	8
17. Referanser.....	8
18. Relevant litteratur.....	9
19. Endringslogg.....	9

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

1. Formål

Gi mikrobiologiske laboratorier akkreditert etter NS-EN ISO/IEC 17025 en veiledning i krav presentert i akkrediteringsstandarden og andre relevante kravdokumenter, herunder [Krav til etablering av metrologisk sporbarhet, kalibrering og kontroll av utstyr](#). Dette dokumentet er en utdyping og veiledning på utvalgte områder slik disse blir praktisert av Norsk akkreditering (NA).

2. Referansestammer

Sporbarhet i mikrobiologi oppnås blant annet ved bruk av referansestammer fra internasjonale eller nasjonale kultursamlinger. Bruk av referansestammer inngår i de daglige rutinene på laboratoriet, eksempelvis til opplæring, kontroll av medier, metoder, verifiseringer/valideringer og/eller til sammenligning av metoder. Bruk av referansestammer benyttes også til å overvåke gyldigheten av analysen. Antall referansestammer laboratoriet trenger er avhengig av laboratoriets behov. Kontrollprogrammer bør være risikobaserte. Rutiner for bruk av referansestammer i laboratoriet skal være beskrevet.

Laboratoriene skal følge leverandørens anbefaling for oppbevaring og holdbarhet. Ved leveringsproblemer fra produsent, kan det i en kortere periode benyttes referansestammer der holdbarheten er overskredet dersom laboratoriet kan dokumentere at:

- bestilling av nye referansestammer er sendt inn før holdbarhetstiden utløp,
- kontroll av vekst og karakteristika er utført, inkludert kvantitative kontroller der dette er relevant, og
- bruksegenskapene for det aktuelle anvendelsesområde ikke er endret.

Laboratoriet skal etablere prosedyrer for overføring fra skål til skål. Dette innbefatter også overføring fra stammebank. Maksimum antall overføringer skal inngå i beskrivelsen og overføringene skal registreres.

3. Deltagelse i sammenlignende laboratorieprøvinger (SLP)

Krav til SLP-deltakelse er også omtalt i [Vilkår for å være akkreditert](#).

Det skal utarbeides planer for deltagelse i SLP som dekker hele akkrediteringsperioden. Planene baseres på risikoanalyser. Hvis laboratoriet har flere metoder, parameter eller objekt i akkrediteringsomfanget, må alle være underlagt SLP-deltagelse. Det samme gjelder også hvis laboratoriets metodeprosedyrer inneholder muligheter for valg av ulike vekstmedier, inkuberingsstemperaturer, konfirmeringsmetoder og lignende.

Dersom det ikke er mulig å sende inn resultatene for alle metodene til SLP-arrangøren, anses det som tilstrekkelig å sende inn resultatet for en av metodene. Resultatene fra de øvrige metodene evalueres internt, på samme måte som SLP-resultatene. I tillegg må SLP-rapporteringen fra de ulike metodene rulleres slik at alle metodene og parameterne inngår i SLP-programmet i løpet av en akkrediteringsperiode. Likeledes gjelder det om det ikke er mulig å sende inn resultater for alle lokaliteter som er underlagt akkreditering. Det forventes at slike vurderinger er dokumentert.

I de tilfeller der SLP-deltagelsen ikke dekker alle stegene i analyseprosessen, for eksempel at prøveopparbeidelse ikke er inkludert, må laboratoriet kunne dokumentere hvilke tiltak som er iverksatt for likevel å kunne oppnå tilfredsstillende kontroll med kompetanse for analytikeren og gyldighet for resultatene.

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

4. Opprettholdelse av analysegodkjenning/kompetanse

Laboratoriet skal ha et program som sikrer vedlikehold av analysekompetanse hos godkjente analytikere. Programmet bør være basert på en risikovurdering.

Følgende elementer bør som et minimum tas i betraktning:

- Antall analyser som gjennomføres.
- Gruppering av analyser med identisk analyseteknikk.
- Antall positive funn i rutinen.
- Interne og eksterne kontrollprogram.

Metoder som bygger på samme analyseteknikk eller prinsipp og med felles konfirmerings- og avlesningsprosedyrer kan behandles samlet som en gruppe. Prøvingserfaringen kan baseres på et samlet antall analyser i gruppen. Analyse av kimtall i næringsmidler og vann kan for eksempel slås sammen. Dette gjelder allikevel ikke generelt for analyser av vann og næringsmidler. For eksempel er metodeforskjellene mellom analysering av koliforme bakterier i henholdsvis vann og næringsmidler for store.

Laboratoriet skal ha et system for å dokumentere prøvingserfaringen og overvåkning av kompetansen til personalet. Dette inkluderer analyser av SLP-prøver og referansematerialer. Registreringer må være sporbare til alle godkjente analytikere.

Laboratoriet skal regelmessig vurdere analytikernes kompetanse og opprettholdelse av den enkeltes analysegodkjenninger. Objektive kriterier bør i størst mulig grad legges til grunn for vurderingene. Det skal etableres rutiner for regodkjenning ved langtidsfravær, der behovet for reopplæring vurderes. Registreringer oppbevares som følge av denne gjennomgangen.

For sesongavhengige analyser bør laboratoriet beskrive en rutine for oppstart av analysen og re-godkjenning av analytikere før sesongstart. Likeledes for analyser som gjennomføres sjelden, skal rutinen sikre at kompetansen for vurdering av positive resultater opprettholdes.

5. Måleusikkerhet

Alle bidrag til måleusikkerheten skal identifiseres og vektas innbyrdes for alle metoder. Metoder som bygger på samme analyseteknikk eller prinsipp og med felles konfirmerings- og avlesningsprosedyre kan behandles samlet som en enhet.

For kvantitative metoder skal måleusikkerheten beregnes i henhold til laboratoriets egen prosedyre. For veiledning henvises det eksempelvis til [NS-EN ISO 19036:2019 Mikrobiologi i næringsmiddelkjeden - Beregning av måleusikkerhet ved kvantitative bestemmelser](#) og [NMKL-prosedyre nr. 8](#). Beregnet måleusikkerhet må evalueres jevnlig og etterprøves ved bruk av gyldige statistiske metoder. Den etablerte måleusikkerheten kan også kontrolleres mot resultater fra SLP-deltakelse.

Inkluderes grenseverdier i analyserapportene skal også den beregnede måleusikkerheten tas med. Dette gjelder også for analyseresultater som rapporteres med «0» og «<».

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

6. Kontroll av dyrkningsmedier

6.1 Egenproduserte dyrkningsmedier og reagenser

Laboratoriet skal verifisere at dyrkningsmediet oppfyller definerte krav før det tas i bruk første gang, og på alle partier/batcher som produseres.

De definerte kravene bør minimum bestå av følgende elementer:

- Bruk av positive og negative kontrollstammer for å demonstrere egnethet av selektive dyrkningsmedium (kvalitativ kontroll).
- Visuell utseende-kontroll (mengde, inntørking, overflate, osv.).
- pH-kontroll.
- Sterilkontroll.
- Volumkontroll (fortynningsrør etc.).

Kontrollfrekvens for øvrige kontrollparametere settes på grunnlag av blant annet produksjonsutstyr, lagringsforhold og hvor ofte laboratoriet utfører analysen.

6.2 Kommersielle dyrkningsmedier og reagenser

Dokumentasjon av visuell inspeksjon ved mottak er et minimumskrav. Kvaliteten på leveransen kan dokumenteres gjennom produsentens kontrollsertifikater. Det skal gjøres en vurdering om produsenten har benyttet hensiktsmessig og relevante validering og kontrollmetoder. Er det fare for at produktene er blitt skadet under transport må funksjonskontroller gjennomføres og dokumenteres. Skader kan oppstå ved høy temperatur, frost, fare for krysskontaminasjon ved punktert emballasje og lignende.

7. Testkit og kommersielle metoder

Som for standardiserte metoder, skal laboratoriet ha etablert et system for styring og regelmessig gjennomgang av valideringssertifikater og pakningsvedlegg (brukerveiledning) for kommersielt tilgjengelige metoder og testkit.

Det skal foreligge dokumentasjon på tilfredsstillende verifiseringer før kommersielle metoder tas i bruk. Dokumentasjonen fra produsent skal fortrinnsvis inkludere tredje parts validering for eksempel fra AOAC, AFNOR eller NordVal. Dersom tilfredsstillende dokumentasjon ikke foreligger, må laboratoriet gjennomføre supplerende utprøvinger.

Kommersielle testkit må være underlagt dokumentert mottaks- og kvalitetskontroll. Bruk av kit-interne og kit-uavhengige positive/negative kontroller verifiserer at testsystemene samsvarer med kravene og at testen utføres korrekt.

8. Holdbarhetstid på dyrkningsmedier, testkit og lignende

Holdbarhetstiden angir tidsperioden der produsenten garanterer at produktet tilfredsstillende spesifiserte krav. Som hovedregel skal produsentens holdbarhetstider overholdes. Ved leveringsproblemer fra produsenten kan medier, testkit og lignende, hvor holdbarhetstiden er overskredet, vurderes benyttet i en kortere periode.

Ved å bruke reagenser ut over holdbarhetsdatoen, tar laboratoriet over ansvaret fra produsenten. En validering må danne grunnlag for godkjenning og må inkludere elementer som er vurdert i forbindelse med godkjenningen fra leverandør. Vurderingen må også omfatte hvor lenge etter utløpsdato det er grunnlag for å bruke reagenset eller mediet, og hvem som er ansvarlig for en slik beslutning.

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

9. Bruk av kjøleinkubatorer

Kjøleinkubering av agarskåler før avlesing aksepteres uten validering når det er beskrevet i standard. Når kjøleinkubering ikke er omtalt i standardmetoden, må dette valideres. Laboratoriet kan likevel fortsette å rapportere dette som standardmetode.

Valideringen kan for eksempel bestå av sammenligning av analyseresultater før og etter kjøleinkubering. Valideringsstudiet må inkludere prøver med samme matriks og bakgrunnsflora som de rutineprøver laboratoriet normalt håndterer. Valideringsdata fra andre laboratorier eller samarbeidspartnere aksepteres dersom valideringen er omfattende nok og studiet inneholder relevante matriks. Laboratoriet må i slike tilfeller utføre en verifisering som bekrefter valideringsdata fra andre.

10. Bruk av samleprøver

Bruk av samleprøver for å redusere arbeidsmengden er angitt i enkelte standardmetoder. Dersom et laboratorium ønsker å utføre dette for standardmetoder hvor dette ikke er beskrevet, må bruk av samleprøver valideres og metoden akkrediteres som en intern metode.

11. Registrering av rådata

Tilstrekkelig informasjon for å kunne rekonstruere analyseresultater må registreres. Eksempler:

- Prøvebehandling og fortynningsfaktorer.
- Utstyr og forbruksmateriell (fortynningsvæsker, dyrkningsmedier, test kit og reagenser).
- Resultater (antall kolonier, karakteristika eller kolonitværende, konfirmerte kolonier og beregninger).
- Kvalitetskontroll resultater.

Alle arbeidsoperasjoner skal være sporbare til personell som har gjennomført det enkelte steg. Overføring av data skal kontrolleres på en systematisk måte. Papirbasert og elektronisk dokumentasjon sidestilles.

12. Spesielt for NAAT – Nucleic acid amplification test-metoder (PCR-metoder)

12.1 Lokaler, miljø og arbeidsprosedyrer

Arbeidsområdene skal være utformet og rengjort for å forebygge kontaminering, og pre- og post-PCR-områder skal være fysisk adskilt. Det skal benyttes ulike frakker i pre- og post-PCR-områder. Engangshansker skal benyttes under prøvebehandling og mens PCR settes opp. Frakker og hansker byttes med passende frekvens. Vurderingene som legges til grunn, bør være risikobasert.

12.2 Pipetter

Minst tre sett skal benyttes:

- prøvebehandling,
- mastermikstillaging,
- post-amplifiseringstrinn.

I laboratorier som benytter real-time PCR-metoder kan antall pipettesett begrenses til to. Det skal benyttes pipettespisser med filter.

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

12.3 Termocykler

Temperaturen/temperatursyklusen skal kontrolleres før instrumenter tas i bruk og senere ved regelmessig intervaller.

12.4 Kvalitetskontroll:

Kontrollfrekvensene skal fastsettes som en del av laboratoriets kvalitetsstyringssystem. Intern eller ekstern amplifikasjonskontroll skal benyttes i hver PCR-reaksjon. Avhengig av tilgjengelighet bør sertifiserte referansematerialer og referankestammer inkluderes som positive og negative kontroller. Laboratoriet bør vurdere behovet for positiv og negativ prosesskontroll, ekstraksjonskontroll og amplifiseringskontroll. Rutinene skal omfatte hvordan vurderinger ved mulige kontaminering i negative kontroller og mangel på reaksjoner i positive kontroller håndteres.

12.5 Bruk av CT-verdier ved rapportering av kvalitative analyser (gjelder kun for real-time PCR)

Enkelte laboratorier ønsker å oppgi CT-verdier ved rapportering av positivt PCR-resultat for kvalitative analyser. CT-verdier er semikvantitative og angir om det er mye eller lite DNA/RNA til stede i prøven. Når CT-verdier inkluderes i analyserapporter skal dette anses som en fortolkning av resultatet, og dette skal angis i rapporten. For laboratorier som ikke er akkreditert for vurdering og fortolkning skal dette være angitt i analyserapporten. Når det er relevant for tolking av analyseresultatene skal måleusikkerheten angis i svarrapporten.

13. Overgang til ny utgave av standardmetoder

Reviderte versjoner av standardmetoder og tredjepartsvaliderte kommersielle metoder skal implementeres senest 6 måneder etter utgivelsesdato. Ved overgang til ny versjon skal laboratoriet gi beskjed til Norsk akkreditering. Uansett grad av endringer må laboratoriet utarbeide en GAP-analyse som oppsummerer de evalueringer som er gjennomført, behovet for validering/innkjøring og evt. resultater og konklusjoner fra validering/innkjøring. Tillegg (Amendment) til standardmetoder som utgis av et standardiseringsorgan skal betraktes som en del av metoden.

14. Avvik fra standardmetoder

Dersom standardmetoden angis som referansestandard, betyr det at laboratoriet følger de kravene som framkommer i standardmetoden. Det er ikke mulig å velge andre, validerte metoder for en gitt standardmetode og fortsatt hevde at analysen er i henhold til gitt standardmetode.

Velger et laboratorium å avvike fra en standardmetode, angis den som intern metode. Det vil da framkomme i akkrediteringsdokumentet hvilken standardmetode den interne metoden er basert på. Mindre avvik fra en referansestandard kan aksepteres i de tilfeller det kan dokumenteres at det benyttes likeverdig alternativ. Dette gjelder i tilfeller der det f. eks ikke lar seg gjøre å bruke en angitt bruksløsning. Slike avvik vil vurderes av Norsk akkreditering i hvert enkelt tilfelle. Det forventes at slike vurderinger er dokumenterte.

NS-EN ISO/IEC 17025 krever at laboratoriet sikrer at det velges hensiktsmessige metoder for å oppfylle kundens krav. Når kunden selv ikke angir hvilken metode som skal benyttes, skal laboratoriet velge en hensiktsmessig metode og informere kunden om hvilken metode som er valgt. Det anbefales å anvende metoder som er utgitt i internasjonale, regionale eller nasjonale organisasjoner. Dette innebærer at laboratoriet bør være kjent med eventuelle lovkrav til valg av metode som kunden har. Laboratoriet kan avtale med kunden å benytte den interne metoden, og det kreves da at det er den interne metoden som angis på analyserapporten.

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

En eventuell dispensasjon fra relevante myndigheter vil ikke endre på vurderingen av om laboratoriet benytter standardmetoden. En slik dispensasjon vil gi laboratoriet mulighet for å velge den interne metoden, og fortsatt møte kundens behov.

15. Resultatangivelse

Resultatangivelsene gitt i aktuell standardmetode skal følges. Den enkelte standardmetode inneholder også eksempler på angivelse av resultatet.

15.1 Kvantitative metoder

Dersom standardmetoden ikke spesifiserer hvordan resultatet skal angis, kan det ved ingen vekst av mikroorganismer utgis som «<1 cfu/volum», «0 cfu/volum» eller «ikke påvist/volum».

15.2 Kvalitative metoder

Resultatpresentasjon ved ingen vekst for kvalitative metoder er vanligvis «ikke påvist/volumtotal» eller «ikke påvist/vekttotal».

15.3 Ved hygiene- og overflateprøver

Akkreditering kan innvilges for prøvetaking og/eller analyse ved bruk av:

- Svaber og tampong til kvalitativ analyse.
- Svaber og petrifilm til kvantitativ analyse.

Dersom både prøvetakingsmetode og analysemetode er akkreditert, skal resultatet angis som kolonier pr. arealenhet der hvor standardisert arealprøve tas. Alternativt rapporteres resultatet sammen med en beskrivelse av svabret område, pr. antall svabrete enheter eller lignende.

Dersom prøvetakingsmetoden ikke er inkludert i akkrediteringen må dette klart framgå av svarrapporten. Resultater skal da kun angis som kolonier pr. svaber, tampong eller petrifilm. Opplysninger om svabret areal kan gis i kommentarfelt på rapporten.

16. Angivelse av prøvetakingstidspunkt og analysetidspunkt ved rapportering

Analyseresultater skal registreres nøyaktig, entydig, og i henhold til alle spesifikke instruksjoner i analysemetodene. Dersom kundeavtaler og/eller analysemetoder inneholder maksimum tidsangivelse fra prøvetakingstidspunkt til analysestart, er det viktig at disse tidspunktene også er angitt i analyserapporten. Normalt skal prøver som overstiger maksimumsgrensen som er angitt i akkreditert metode, avvises eller rapporteres ikke-akkreditert. Laboratoriet skal informere kunden om ethvert avvik fra kontrakten/avtalen, og registreringer skal oppbevares som dokumentasjon.

Analysereapporten skal omfatte all informasjon som er nødvendig for å fortolke resultatene fra analysen. NS-EN ISO/IEC 17025 angir at rapport skal inneholde dato/datoene for utførelse av laboratorieaktiviteten, men det aksepteres at dato for analyseperioden angis. Det vil si at start- og sluttdato må være angitt i svarrapporten.

17. Referanser

Veiledning til akkrediteringskravene for mikrobiologiske laboratorier (NS-EN ISO/IEC 17025)		Dok.id.:D00092
		Veiledning/Guidance
Godkjent av: Beate Brekke Hellerud	Versjon: 7.00	Gyldig fra: 06.01.2022

[Vilkår for å være akkreditert](#)

[Krav til etablering av metrologisk sporbarhet, kalibrering og kontroll av utstyr](#)

18. Relevant litteratur

- NS-EN ISO/IEC 17025:2017 Generelle krav til prøvings- og kalibreringslaboratoriers kompetanse.
- Eurachem Guide AML 2013.
- NS-EN ISO 7218:2007 Mikrobiologi i matvarer og dyrefôr - Generelle krav og veiledning for mikrobiologiske undersøkelser.
- NS-EN 19036:2019 Mikrobiologi i næringsmiddelkjeden. Beregning av måleusikkerhet ved kvantitative bestemmelser.
- NS-EN ISO 11133:2014 Fôr-, vann- og næringsmiddelmikrobiologi. Forberedelse, produksjon, lagring og ytelsesprøving av dyrkningsmedier.
- NS-EN ISO 22174:2005 Fôr- og næringsmiddelmikrobiologi - Polymerasekjedereaksjon (PCR) for påvisning av matvarebårne patogener - Generelle krav og definisjoner.
- ISO/TS 20836:2005 Fôr og næringsmiddel mikrobiologi - Polymerase chain reaction (PCR) for påvisning av matbårne patogener - Prøving av apparaturens temperaturnøyaktighet.
- NS-EN ISO 20837:2006 Mikrobiologi i matvarer og dyrefôr - Polymerasekjedereaksjon (PCR) for påvisning av matvarebårne patogener - Krav til prøvetilberedning for kvalitativ påvisning.
- NS-EN ISO 20838:2006 Mikrobiologi i matvarer og dyrefôr - Polymerasekjedereaksjon (PCR) for påvisning av matbårne patogener - Krav til sekvensformering og -påvisning ved kvalitative metoder.
- NS-EN ISO 8199:2018 Vannundersøkelse – Generelle krav og veiledning for mikrobiologiske undersøkelser ved dyrking.
- NS-EN ISO 7218 Mikrobiologi i matvarer og dyrefôr - Generelle krav og veiledning for mikrobiologiske undersøkelser.
- NMKL prosedyre nr.8 Måleusikkerhet ved kvantitativ mikrobiologisk undersøkelse av næringsmidler.
- NMKL prosedyre nr.18 Bruk av referansematerialer, referansestammer og kontrollkort i mikrobiologiske næringsmiddellaboratorier.
- NMKL prosedyre nr. 10 Kontroll av mikrobiologiske dyrkningsmedier.
- NMKL prosedyre nr 23 Handledning i kvalitetssikring för mikrobiologiska laboratorier.
- NordVal.

19. Endringslogg

Betydelig revidert og oppdatert til ny versjon av 17025.