МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ
СТАНДАРТ

**ГОСТ
ISO/TS
22117–
2013**

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Специальные требования и руководство по проверке квалификации лабораторий с помощью межлабораторных сравнительных испытаний

(ISO/TS 22117:2010, IDT)

Издание официальное

**Москва
Стандартинформ
2016**

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН ОАО « Всероссийский научно-исследовательский институт сертификации» (ОАО «ВНИИС») на основе аутентичного перевода на русский язык международного документа, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации (ТК 335)

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г. № 44)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 2069-ст введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2015 года

5 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 22117:2010 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Специальные требования и руководство по проверке квалификации лабораторий с помощью межлабораторных сравнительных испытаний).

Перевод с английского языка (en).

Официальный экземпляр международного документа, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, имеется в Федеральном агентстве по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации.

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ Март 2016 г.

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2016

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Разработка программ проверки квалификации и их цель 2
5 Технические требования и руководство по матрице образца и содержанию 3
6 Верификация образца организатором проверки 5
7 Обращение с образцами 7
8 Оценки показателей лабораторий, участвующих в программе проверки квалификации 8
Приложение А (справочное) Пример требований, которые необходимо включить в план программы проверки квалификации лабораторий 8
Приложение В (справочное) Методы определения изменчивости анализируемых проб испытуемого материала 20
Приложение С (справочное) Практический метод оценки долгосрочных показателей участников программы проверки квалификации с использованием методов подсчета 23
Приложение D (справочное) Пример справочного листка по безопасности 25
Библиография 27
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам 28

Введение

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, приведенными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в разработке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Для опубликования их в качестве международного стандарта требуется одобрение не менее 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

При других обстоятельствах, особенно при наличии настоятельных требований рынка, технический комитет может решить опубликовать другие типы нормативных документов:

- общедоступные технические условия ISO (ISO/PAS), представляющие собой соглашение между техническими экспертами рабочей группы ISO, и публикуемые при условии получения одобрения более чем 50 % голосов членов головного технического комитета, принимавших участие в голосовании;
- технические условия ISO (ISO/TS), представляющие собой соглашение между членами технического комитета и публикуемые при условии утверждения 2/3 голосов членов комитета, принимавших участие в голосовании.

Документы ISO/PAS или ISO/TS пересматриваются через три года с целью принятия решения либо о продлении их действия на следующие три года, либо о пересмотре и публикации в качестве международного стандарта, либо прекращении действия. Если принимается решение о продлении действия ISO/PAS и ISO/TS, они должны быть пересмотрены через следующие три года, когда они должны быть либо преобразованы в международный стандарт, либо отменены.

Следует учитывать возможность того, что некоторые элементы настоящего документа могут быть предметом патентного права. ISO не несет ответственности за идентификацию любого из таких патентных прав.

ISO/TS 22117 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 34, *Пищевые продукты*, Подкомитетом SC 9, *Микробиология*.

Общие требования к организации программ проверки квалификации (лабораторий) (PT) всех типов описываются Комитетом ISO/CASCO (Комитет по оценке соответствия) в ISO/IEC 17043; кроме того, общее руководство можно получить в Международном союзе теоретической и прикладной химии (International Union of Pure and Applied Chemistry = IUPAC, см. [9]) и Международной организации по аккредитации лабораторий (Laboratory Accreditation Cooperation = ILAC, см. [8]). В то же время эти рекомендации можно применять напрямую не во всех случаях, и их следует толковать конкретно в каждом лабораторном секторе, где организуются программы проверки. По этой причине возникла необходимость в разработке документа, в котором устанавливаются критерии, которым организаторы проверки (и его коллеги) программ проверки (PT) должны следовать, чтобы их признали компетентными в составлении программ PT по микробиологическому анализу. Это применимо, в частности, к конкретным техническим требованиям, необходимым для работы с живыми микроорганизмами, таким, как однородность и стабильность пробы, а также для толкования результатов на присутствие/отсутствие (выявление), которые не описываются в данном документе.

Программы проверки квалификации лабораторий для микробиологических лабораторий используются главным образом для оценки показателей лабораторий-участниц (участников программы), в частности правильности (систематической погрешности) и в некоторых случаях прецизионности, микробиологических исследований пищевых продуктов в конкретных микробиологических лабораториях.

Кроме того, данные таких программ PT можно использовать, чтобы:

a) обеспечить информацию организациям, ответственным за лабораторную приемку в рамках официального контроля, и дать возможность проведения непрерывного мониторинга;

b) содействовать аккредитации лабораторий в рамках общего менеджмента качества;

c) информировать сотрудников, ответственных за качество, в лабораториях-участницах, в порядке обучения выполнению внешней оценки правильности (систематической погрешности).

Информацию, полученную в ходе выполнения программ, можно также использовать для:

1) идентификации возможных источников погрешностей, особенно составляющей систематической погрешности – неопределенности, с целью повышения результативности;

2) оценки неопределенности измерений для методов подсчета (см. ISO/TS 19036[6]) и пределов обнаружения для методов испытания на присутствие/отсутствие;

3) демонстрации компетентности персонала в выполнении специальных микробиологических исследований;

4) оценки или валидации данного метода путем изучения правильности и прецизионности;

5) идентификации изменчивости между отдельными лабораториями;

6) предписание «целевого» значения аналиту (анализируемому микроорганизму) в материале, чтобы создать стандартный образец (референтный материал).

Однако настоящий стандарт специально этими аспектами не занимается.

Программы проверки квалификации лабораторий устанавливают критерии и процедуры испытаний (частота, количество образцов, число повторов, и т.д.), которые должны выполнять лаборатории при использовании метода и анализируемой продукции, чтобы достичь уровня контроля, желательного для всех участвующих сторон.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

МИКРОБИОЛОГИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Специальные требования и руководство по проверке квалификации лабораторий с помощью межлабораторных сравнительных испытаний

Microbiology of food and animal feeding stuffs.
Specific requirements and guidance for proficiency testing by interlaboratory comparison

Дата введения – 2015–07–01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования и руководство по организации программ проверки квалификации (лабораторий) для микробиологических исследований:

a) пищевых продуктов и напитков;

b) кормов для животных;

c) окружающей среды при производстве пищевых продуктов и обращении с ними;

d) первичных стадий производства.

Настоящий стандарт также потенциально применим к микробиологическому исследованию воды, которая используется либо в производстве пищевых продуктов, либо сама считается пищевым продуктом по национальному законодательству.

Настоящий стандарт касается технической организации и осуществления программ проверки квалификации, а также статистической обработки результатов микробиологических исследований.

Настоящий стандарт разработан для использования совместно с ISO/IEC 17043 и ISO 13528 и относится только к областям, где необходимы конкретные или дополнительные требования для проверки квалификации и обработки микробиологических анализов для областей, установленных в первом абзаце.

2 Нормативные ссылки

Следующие ссылочные документы обязательны для применения данного стандарта. Для датированных ссылок применяется только указанное издание. Для недатированных ссылок применяется самое последнее издание указанного стандарта (включая все изменения).

ISO 3534-1 Statistics – Vocabulary and symbols – Part 1: General statistical terms and terms used in probability (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 1. Общие термины и термины, используемые в теории вероятности)

ISO 3534-2 Statistics – Vocabulary and symbols – Part 2: Applied statistics (Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 2. Прикладная статистика)

ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1. General principles and definitions (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения)

ISO 5725-5 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 5: Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений)

ISO 7218 Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям)

ISO 13528 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons (Статистические методы для проверки квалификации методом межлабораторных сличений)

ISO/IEC 17043:2010 Conformity assessment – General requirements for proficiency testing (Оценка соответствия. Общие требования к проверке квалификации лабораторий)

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте используют термины и определения, приведенные в ISO 3534-1, ISO 3534-2, ISO 5725-1, ISO 13528, ISO/IEC 17043 а также следующие.

Примечание 1 – Некоторые термины, используемые в тексте, имеют разные значения в микробиологии и статистике, например, гомогенность, гетерогенность, тест, проба (образец), распределение. Контекст поясняет, относятся ли данные термины к микробиологическим пробам для испытания или наборам данных, используемых для статистического анализа.

Примечание 2 – Некоторые организаторы проверки квалификации лабораторий используют термин «Внешняя оценка качества (EQA)» для указания программ с более широким применением во всех областях работы лаборатории и конкретно в образовательной сфере. Требования настоящего стандарта охватывают только ту деятельность EQA, которая соответствует определению проверки квалификации лабораторий.

3.1 **целевой микроорганизм** (target organism): Микроорганизм, который является основным аналитом для образца, используемого в проверке квалификации

3.2 **фоновая флора** (background flora): Микроорганизмы, включенные в образцы для проверки квалификации, которые могут быть введены для конкуренции или имитации целевого микроорганизма

3.3 **контрольный штамм** (reference strain): Микроорганизм, полученный непосредственно из официального банка культур и определенный на уровне рода и вида, каталогизированный и описанный в соответствии со своими характеристиками и предпочтительно выделенный из воды или пищевого продукта, в зависимости от рассматриваемого случая

[ISO/TS 11133-1:2009[3], 3.3.2]

3.4 **выделенный процент** (recovery percentage): Доля предписанного значения целевого микроорганизма, выделенного в лаборатории-участнице.

Примечание 1 – Выделенный процент рассчитывают путем умножения на 100 количества выделенных колоний, образующих единицы (КОЕ- колониеобразующие единицы) на объем или массу.

Примечание 2 – Выделенный процент может быть значительно ниже 100 %, если в образце для проверки квалификации присутствует конкурирующая флора и имитации целевого микроорганизма

4 Разработка программ проверки квалификации и их цель

4.1 Общие положения

Общие требования к разработке программ проверки (PT) приведены в ISO/IEC 17043; в данном случае обсуждаются только области, требующие специального рассмотрения для программ проверки квалификации микробиологических лабораторий в контексте общих принципов.

4.2 Цели программы

Первоочередная цель программы проверки квалификации любой лаборатории заключается в получении информации для приобретения доверия к надежности результатов, полученных в этой лаборатории.

Детальные требования к документированному плану проведения программы проверки описаны в ISO/IEC 17043, п. 4.4.1.3, который должен включать ссылку на соответствующие законы. Пример плана для типичной программы проверки качества микробиологического исследования продуктов питания приведен в приложении А.

Исследования, необходимые для разработки новой программы проверки квалификации, являются всесторонними и должны быть четко определены в целях программы. Они должны включать, как минимум, требования, перечисленные в разделе 5. Требования проверки отдельных этапов тестирования, включая тесты на однородность и стабильность, также должны быть установлены в плане программы и должны соответствовать целям программы.

4.3 Требования к лабораториям, участвующим в программе

Общие требования в отношении соответствия средств и оборудования лабораторий для участия в программе проверки квалификации приведены в ISO/IEC 17043, п. 4.3.1, а требования к безопасности описаны в ISO/IEC 17043, п. 4.6.2.4.

Для программ проверки микробиологических лабораторий, организаторы проверки должны иметь документированные правила доведения до сведения участников опасностей и обеспечения соответствующих рекомендаций по безопасности (см. раздел 7). Например, лаборатории по микробиологии пищевых продуктов должны иметь помещения, средства и оборудование для работы

с микроорганизмами категорий риска 1, 2 и 3, в зависимости от рассматриваемого случая (см. ISO 7218, п. 3.2).

4.4 Выбор матрицы

Общие требования по документированию порядка проведения испытаний в плане программы проверки квалификации приведены в ISO/IEC 17043, п. 4.4.1.3, а выбор таких матриц образцов испытания, которые отражают типы образцов рутинных испытаний – в ISO/IEC 17043, п. 4.4.2.3.

Следует установить причины и смысл выбора матрицы именно такого типа, например, чтобы обеспечить уровни стабильности и однородности образца в соответствии с предполагаемой целью программы.

Описание объектов испытания должно задавать матрицу образца (природную или имитированную); зараженную искусственно или естественным образом; источник и страну происхождения в соответствии с регламентом по международным перевозкам; и используемый метод сохранения, например, с помощью сублимационной сушки или сушки на воздухе.

4.5 Информация по методам испытания, используемым организатором проверки квалификации

Общие требования по методам, используемым организатором проверки квалификации, приведены в ISO/IEC 17043, п. 4.4.1.3.

Если программа нацелена на одно или несколько установленных в технических условиях испытаний или требуемых нормативами испытаний, то повседневные испытания по контролю качества образцов, используемых в программе проверки (например, на однородность и стабильность) должны выполняться по методам, установленным нормативами, и это должно быть заявлено (ISO/IEC 17043, п. 4.5.1).

Участники должны поощряться в использовании своих повседневных методов, но там где они выполняют испытания в соответствии с нормами необходимо дать руководящие указания, например, ссылку на методы ISO, тексты нормативных документов или публикаций, написанных специалистами той же области (ISO/IEC 17043, п.4.5.1).

4.6 Статистическое планирование

Общие требования к статистическому планированию приведены в ISO/IEC 17043, п. 4.4.4.

Принципы статистического планирования в отношении программ проверки квалификации лабораторий в области микробиологии должны указывать, что на статистические испытания, которые предполагается использовать, будет влиять уровень однородности испытуемого материала, на который, в свою очередь, будет влиять случайное распределение (вариация) микроорганизмов.

За исключением случаев низких концентраций, распределение количественных результатов испытаний обычно происходит по логарифмически-нормальному закону, и необходимо использовать подходящие методы статистического анализа для таких данных [ISO/IEC 17043, B.3.1.4 d)]. Там где требуются низкие уровни концентрации в количественных определениях (например, при исследовании воды или напитков), более часто применяется случайная модель Пуассона, поскольку разброс количеств организмов между различными образцами материала становится относительно большой и может скрыть вариации в показателях лабораторий-участниц.

Однородность образца обычно должна быть такой, чтобы не влиять заметным образом на наблюдаемую вариацию между лабораториями.

Испытания по полуколичественному подсчету и качественному обнаружению требуют различных статистических методов анализа данных, что обсуждается далее, в 8.3 и 8.4.

План программы проверки квалификации должен разъяснить различия между испытанием результативности методов выявления и методов подсчета целевых микроорганизмов.

5 Технические требования и руководство по матрице образца и содержанию

5.1 Концентрация целевых микроорганизмов

Целевые микроорганизмы должны предоставляют в концентрациях, удобных для демонстрации того, что методы испытания пригодны для данной цели, и таких, чтобы их можно было обнаружить в анализируемых матрицах образца (ISO/IEC 17043, п. 4.4.2.3). Если целевыми являются патогенные микроорганизмы, то концентрации необходимо учитывать с точки зрения опасности для здоровья человека и, при определенных обстоятельствах, пределов, устанавливаемых в предотвращении заболевания.

Примечание – Концентрация, представляющая опасность для здоровья человека, не всегда известна точно и зависит от восприимчивости отдельных людей. Цель исследования

патогенности заключается в предотвращении заболевания, а также в выявлении патогенных микроорганизмов в очень малых концентрациях, пока они не достигли более высокого уровня.

Для количественных методов (методов подсчета) целевая концентрация должна соответствовать концентрациям, выявляемым повседневно, и любые установленные законом спецификации должны применяться к используемым матрицам образцов. Целевая концентрация может использоваться близко к пределу применения количественных методов, чтобы проверить результативность участников в применяемом диапазоне метода. Однако не следует применять образцы, концентрация микроорганизмов в которых так низка, что при использовании рутинных разведений ожидаемое среднее количество организмов в образце будет меньше 10 колоний на чашку.

Для качественных методов (методов выявления) обычно достаточно присутствия целевых микроорганизмов в низких концентрациях, чтобы обеспечить действительное заражение в данной методологии и получить для валидации, чтобы установить или проверить пределы обнаружения для отдельных лабораторий-участниц.

5.2 Источники, характеристики и прослеживаемость микроорганизмов

Характеристики целевых микроорганизмов устанавливают перед их использованием, чтобы надежно оценить результативность, особенно в программах, где всем участникам разрешается использовать различные методологии.

Как типичные, так и атипичные штаммы следует рассмотреть и включить в программу контроля результативности лаборатории.

Признанные контрольные штаммы, полученные из международных банков, следует использовать там, где они наиболее всего подходят для цели программы; однако, для более близкого отражения повседневных ситуаций используют полученные в лаборатории изоляты или «дикие» штаммы, выделенные из матриц, используемых в программах проверки квалификации лабораторий. Там, где они применяются, они должны быть проверены в соответствии со стандартными методами соответствующего международного стандарта, чтобы обеспечить для организаторов проверки всех атипичных реакций до применения таких штаммов.

В любом случае микроорганизмы, используемые в образцах программ проверки квалификации, должны прослеживаться до соответствующего фонда культур или до достоверных данных, имеющихся у организаторов.

В определенных обстоятельствах невозможно использовать контрольные культуры или стандартные образцы (референтные материалы) из признанных на международном уровне банков или выращенных в лаборатории штаммов, например, для программ проверки квалификации в отношении некультивируемых организмов, таких как норовирусы человека. В таких обстоятельствах клинический материал можно использовать для искусственного заражения испытуемой матрицы, при погружении, распылении, в случае двустворчатого моллюска, или посредством бионакопления. Метод искусственного заражения должен быть максимально приближен к «естественному» пути заражения. Особое внимание необходимо уделить при работе с клиническим материалом человека, пробами фекальных или рвотных масс, которые необходимо обеспечить защитой от сторонних патогенных организмов перед использованием. Целевые вирусы должны быть полностью описаны с точки зрения концентрации штамма с помощью стандартной цепной полимеразной реакции с последующим секвенированием.

5.3 Фоновая флора

Общая флора образцов, искусственно привнесенная или полученная естественным образом, должна быть выбрана для оценки способности участников обнаружить и/или подсчитать целевые микроорганизмы в присутствии нецелевой флоры (типичной для матрицы образца) и презумптивных целевых микроорганизмов, которые, без соответствующих подтверждений, могут привести к ложным положительным результатам.

Любые штаммы, используемые для имитации фоновой флоры, должны соответствовать требованиям 5.2 в отношении описания и прослеживаемости. В образцах, зараженных естественным образом, влияние фоновой флоры на целевые микроорганизмы необходимо определить.

5.4 Выбор матрицы и матричные эффекты

Все матрицы необходимо оценить, прежде чем использовать их для проверки на какое-либо влияние на целевые микроорганизмы и фоновую флору, например, когда матрицы уменьшают восстановление введенных микроорганизмов.

Участники должны быть внимательны к природе матрицы пищевого продукта, если известно, что такие матрицы неблагоприятно влияют на восстановление микроорганизмов (например, те, которые связывают и удерживают клетки, например, жирные материалы) или обладают

бактерицидными или бактериостатическими свойствами. Для информации участников необходимо включить подходящие и подтвержденные методики подготовки матриц.

Матрицы образцов, используемые для программ проверки квалификации микробиологических лабораторий, зачастую, но необязательно, стерилизуют перед применением. Там, где распределяют натуральные, нестерилизованные образцы, организаторам необходимо определить влияние фоновой микрофлоры образцов.

6 Верификация образца организатором проверки

6.1 Общие положения

Общие требования к верификации образца приведены в ISO/IEC 17043 и ISO 13528 (для дополнительной информации также см. [9]); в данном разделе описаны конкретные требования и проблемы испытаний на однородность и стабильность материалов, содержащих живые микроорганизмы.

6.2 Испытание образцов на однородность. Общие проблемы

(См. также ISO/IEC 17043, 4.4.3 и B.5.)

Проверка квалификации лабораторий может включать подготовку массы материала для испытания, которая затем будет разделена на отдельные порции, максимально подобные друг другу, для распределения по участникам. В другом случае такие порции можно до распределения по участникам засеять культурой.

Независимо от того, какой метод подготовки был использован, испытуемый материал необходимо оценить на однородность, обычно для нестабильных свежих материалов это выполняют до или во время испытаний.

Испытание на однородность следует выполнять на каждой партии образцов, на основе соответствующих статистических принципов (ISO/IEC 17043, 4.4.3.2 и B.5). Такие испытания приводятся в ISO 13528 или как альтернатива в Приложении B.

Испытание на однородность также необходимо выполнить в том случае, если материалы необходимо хранить в течение длительного периода, чтобы обеспечить соответствие критериям до начала испытаний. Количество образцов для испытания от каждой партии также должно быть достаточным, чтобы получить достаточную информацию об однородности партии; предлагается испытать 10 образцов (в параллельных определениях, если требуется).

Материал для испытания, который является недостаточно однородным, они все же могут использоваться как образцы для проверки квалификации лабораторий, (ISO/IEC 17043, 4.4.3.1 Примечание 3), при условии использования соответствующих статистических принципов, чтобы учесть большее расхождение между образцами (см. ISO 13528). Статистический план для гетерогенных материалов, включая анализ повторных проб нескольких образцов (см. ISO 5725-5), следует использовать для минимизации влияния недостатка однородности на оценку показателей лаборатории-участницы.

6.3 Испытание на однородность образцов для количественного анализа (подсчета)

Общие требования и методы испытания на однородность образцов для проверки квалификации лабораторий в количественном анализе приведены в ISO/IEC 17043, 4.4.3 и B.5, а также в ISO 13528.

Материалы, которые показывают достаточно большую изменчивость между параметрами образцов, значительно влияющую на оценку показателей лабораторий-участниц, не следует использовать в межлабораторных исследованиях, если только не применяются специальные требования и методы анализа данных, например, низкое количество микроорганизмов в питьевой воде и других образцах.

Критерий для оценки «достаточно однородный (материал)» определяется требованиями межлабораторного сравнения (см. ISO 13528 и Приложение B). В то же время, в общем, достаточно однородным считается материал, для которого стандартное отклонение между образцами (на соответствующим образом модифицированной шкале) будет $\leq 0{,}3\sigma_p$, где σ_p – целевое стандартное отклонение, используемое для оценки показателей лабораторий (см. ISO 13528).

Любое альтернативное испытание на однородность должно удовлетворять следующим критериям (взято из [9]):

a) вероятность браковки достаточно однородного материала должна быть ≤ 5 %;

b) вероятность браковки испытуемого материала, для которого вариация между образцами составляет 1,5 σ_p, а σ_p является приемлемой межлабораторной изменчивостью (выраженной как целевое стандартное отклонение), будет ≥ 80 %.

Вероятность браковки материала, равная 80 %, там, где изменчивость образцов составляет 1,5□σ_p, основана на исследовании с помощью моделирования параллельного анализа 10 образцов методом, имеющим аналитическое стандартное отклонение 0,5 σ_p (т.е. 0,125 логарифмических единиц), и критическое значение для T_2 (см. приложение В), которое удовлетворяет критерию а) предыдущего абзаца. Она представляет то, чего можно достичь при целесообразном анализе.

Испытания на однородность основаны на оценках дисперсии образцов и дисперсии анализа (повторяемости), полученных в условиях повторяемости. Подходящие методы измерения изменчивости приведены в приложении В.

Дисперсию анализа (повторяемость) следует оценивать по анализам повторных образцов исходных суспензий, полученных из анализируемых проб [15], [16]. Такую аналитическую дисперсию можно также рассчитать по количеству подсчитанных колоний и прецизионности используемых аналитических материалов [10].

В микробиологии изменчивость образцов должна оцениваться в условиях повторяемости (за один раз). Если это невозможно, дисперсия между образцами включит внутрилабораторную воспроизводимость и может привести к ложной браковке удовлетворительного материала.

Если число подсчитанных колоний достаточно высоко (более 35 – 40 колоний на чашку), аналитическое стандартное отклонение, σ_{an}, обычно удовлетворяет неравенству

$$\frac{\sigma_{an}}{\sigma_p} < 0{,}5,$$

где σ_p – целевое стандартное отклонение, и следует использовать испытание на достаточную однородность, предложенное в [11] (см. приложение В). Если число подсчитанных колоний меньше (меньше 35 – 40 колоний на чашку), то рекомендуется измерить разность $T_1 - T_2$ (см. приложение В).

Если для лабораторий-участниц предусмотрены повторные образцы, то изменчивость образцов, полученная участниками, подлежит изучению организатором проверки, чтобы оценить однородность материала. Хотя такая изменчивость включает внутрилабораторную воспроизводимость, большее число лабораторий-участниц увеличивает статистическую мощность анализа и может стать хорошим индикатором успешных этапов исследования.

Если число подсчитанных колоний совсем невелико (скажем, меньше 20), аналитическая дисперсия (повторяемость) будет высокой. В этом случае организатору проверки следует рекомендовать лабораториям-участницам повторять подсчеты колоний на анализируемых пробах, чтобы выполнить следующее условие (см. ISO 13528):

$$\frac{\sigma_r}{\sqrt{n}} \leq 0{,}3\,\sigma_p,$$

где σ_r – стандартное отклонение повторяемости;

σ_p – целевое стандартное отклонение;

n – число повторных проб.

Если это невозможно выполнить, следует оценивать показатели лабораторий очень тщательно.

Если материал образцов для проверки квалификации лабораторий содержит небольшое число КОЕ (скажем, меньше 20), то необходимо измерить изменчивость образцов (т.е. изменчивость повторных проб), чтобы продемонстрировать, что она не превышает случайные изменения (Пуассона), чтобы гарантировать значимую оценку. Показатель дисперсии испытания n образцов (где n равно минимум 10) не должен превышать значение χ^2_{n-1} при вероятности 0,05.

6.4 Определение однородности материала для качественных методов

Аналогичные принципы применяют к испытаниям на однородность для качественных (присутствие/отсутствие) методов, но требуется особое внимание, если концентрация введенных микроорганизмов низкая (см. 8.4).

Однородность образцов для качественного анализа можно определить подсчетом введенных организмов. Также можно определить уровень заражения, используя метод наиболее вероятного числа (НВЧ). Если возможет подсчет, можно использовать испытания на однородность, описанные в 6.3, в зависимости от того, как образцы искусственно заражаются и как введенные микроорганизмы подсчитывают.

6.5 Испытание на стабильность, выполняемое организатором проверки

6.5.1 Общие положения

Образцы, применяемые для проверки квалификации, должны быть стабильны, как минимум, в течение периода с момента приготовления (организатором) до начала изучения или до конца установленного периода (см. ISO/IEC 17043, 4.4.3).

Если всегда использовать образец одного и того же типа с одним и тем же штаммом (штаммами), достаточно будет выполнить только проверку (например, после приготовления образца и непосредственно перед датой проведения исследования) на последовательных образцах. Организатору проверки также следует изучить результаты, полученные лабораториями-участницами по проверке стабильности материала в течение времени, отпущенного на исследование.

6.5.2 Стабильность в условиях хранения

Для стабильных образцов, которые всегда хранятся при низких температурах (например, минус 70 °С, минус 20 °С, 5 °С), стабильность должна определяться проверкой уровня аналита и однородности в каждой партии через установленные интервалы в процессе хранения. Минимальный период для стабильности должен составлять время от подготовки материалов до установленной даты или периода проведения анализа.

Частота испытаний зависит от уже имеющейся информации для партии образцов и общего периода времени, в течение которого требуется информация о стабильности. Если общее время хранения, например, составляет только две недели, может потребоваться измерять ее каждые два дня, но если требуется хранение в течение одного года, достаточно будет измерять стабильность один раз в месяц. Для больших партий образцов следует испытывать не менее трех образцов в каждом отдельном случае, чтобы показать непрерывную стабильность по всей партии (ISO 13528, Приложение В). Какая бы частота испытаний ни использовалась, она должна быть обоснована и подтверждена как приемлемая организаторами программы.

6.5.3 Стабильность в процессе транспортирования

В дополнение к информации по стабильности в условиях хранения, собранной в процессе валидаций для новой программы, важно испытать влияние «неправильных условий» на образцы, например, длительное время транспортирования при повышенных температурах (см. ISO/IEC 17043, 4.6.3.2).

Сначала необходимо выполнить испытание на стабильность, используя разные температуры для отображения условий «наиболее неблагоприятного случая перевозки» и максимальных ожидаемых задержек, чтобы определить влияние такого плохого обращения с образцами. Например, часть образцов из одной партии хранят при установленной температуре хранения (например, при минус 20 °С), а другую часть – при 5 °С, 15 °С и 25 °С. Каждый день по пять образцов, хранящихся при каждой из указанных температур, анализируют в течение одной или двух недель.

План такого эксперимента на стабильность можно менять, но он должен подходить для получения информации о влиянии различных температур хранения на образцы и для установления верхнего предела температуры для получения лабораторией. Полученную информацию можно использовать для выбора оптимальных условий распространения образцов по программе проверки квалификации, например, требуется ли охлаждать образцы в процессе транспортирования, используя сухой лед или хладоэлементы, либо возможно рассылка образцов при условиях окружающей среды.

Для рассылки в тех случаях, когда температура является критическим параметром, требуется контроль охлаждения и строгие критерии приемки образцов, такие как программы нормативных испытаний на *E.coli* в двустворчатых моллюсках, рекомендуется при перевозке поместить отдельные приборы, регистрирующие температуру, в каждую коробку с образцами. Проверка данных по температуре может помочь организатору программы проверки квалификации лабораторий объяснить аномальные результаты, полученные участниками программы.

7 Обращение с образцами

7.1 Общие положения

Общие требования по обращению с образцами описаны в ISO/IEC 17043, 4.6.1 и 4.6.2, а в данном разделе приводится только дополнительная информация, непосредственно касающаяся микробиологических образцов.

7.2 Инструкции для участников

Для каждого исследования каждая лаборатория-участница должна получить четкие инструкции, касающиеся:

а) условий хранения образцов всех типов, в частности, информации о температуре хранения, которая также должна быть промаркирована на внешней стороне упаковки;

b) максимальной температуры образцов по получении лабораторией-участницей, в зависимости от рассматриваемого случая;

c) инструкций по обращению с образцами — если требуется восстановление, разбавление или другая обработка образцов, это следует четко описать для каждого комплекта и типа образцов;

d) соответствующих карт безопасности, которые следует включать в каждую отправку (например, требуемые детали приведены в приложении D);

e) других дополнительных инструкций, таких как:

1) предельный срок для выполнения испытаний по программе и отсылке результатов организаторам,

2) метод(ы) исследования (предписанные или на усмотрение участников, по обстоятельствам),

3) типы отчетов о результатах для организаторов, особенно в отношении единиц измерения,

4) организаторы могут потребовать подробное описание материалов, методов, условий инкубирования и т.д., в отчетах по форме — в этом случае следует предоставить инструкции по заполнению таких форм.

8 Оценки показателей лабораторий, участвующих в программе проверки квалификации

8.1 Общие положения

Там, где возможно, статистические принципы, используемые для оценки результативности программ проверки квалификации, следует основывать на приведенных в стандартах, например, в ISO/IEC 17043, 4.7 и ISO 13528 (для дополнительной информации см. также [9]), хотя программы проверки квалификации микробиологических лабораторий могут принять процедуры, которые отличаются от обычно используемых в других секторах, если они подходят к их конкретным программам.

8.2 Предварительная оценка

Проверка квалификации включает регулярное распределение образцов для испытания по лабораториям-участницам для измерения конкретных величин (в большинстве случаев – микроорганизмов). Результаты затем сравнивают с результатами, полученными другими участниками. Проверка квалификации, следовательно, обеспечивает независимые средства испытания и сравнения отдельных показателей.

Постоянные удовлетворительные показатели на этапах проверки квалификации могут обеспечить подтверждение для лабораторий-участниц надежности проводимых в их лабораториях процессов, включая методы исследования, обучение аналитиков, оборудование, реактивы, методы контроля качества, интерпретацию результатов и способы составления отчетов.

Однако неудовлетворительные результаты предполагают, что результативность отдельного участника оказалась слабой по сравнению с согласованным значением, и здесь может возникнуть целый ряд вопросов, включая следующие: все ли образцы были одинаковы, как работали другие участники, могла ли методология иметь смещенные результаты и правильно ли интерпретировали эти результаты? Организаторы программы поэтому должны использовать удобные системы оценки результативности, чтобы помочь участникам ответить на такие вопросы.

Существует множество способов интерпретации данных, полученных при проверке квалификации, но методы интерпретации должны быть объективными.

Большинство участников микробиологических программ не знакомы со статистикой и должны доверять тому, что методы, используемые организаторами программы проверки квалификации, достоверны.

Статистические методы включают:

a) валидацию;

b) пояснительную информацию для участников;

c) причину выбора;

d) согласованность.

Четкая и достоверная информация должна предоставляться участникам, чтобы позволить им выполнить самооценку и интерпретацию результатов и максимизировать преимущества от участия.

8.3 Количественные методы

8.3.1 Общие положения

На стабильность результатов проверки квалификации лабораторий по микробиологическим методам влияет подсчет микроорганизмов, зависящий от уровня однородности испытуемого

материала, на который влияет случайные вариации в распределении микроорганизмов. Кроме того, возможны значительные расхождения между участниками в отношении прецизионности требуемой или ожидаемой в испытании.

Выбор статистического метода должен учитывать факторы, указанные в 8.1 и 8.2, наряду с другими факторами, такими как число участников в конкретной программе. Следует установить параметры, которые могут оказать влияние на принятие решения при выборе статистического метода для анализа результатов. Например, специализированные программы могут включать менее 30 участников; результаты, полученные от 30 участников можно проанализировать методом, отличающимся от методов, применяемых в больших программах, например, включающих более 100 участников.

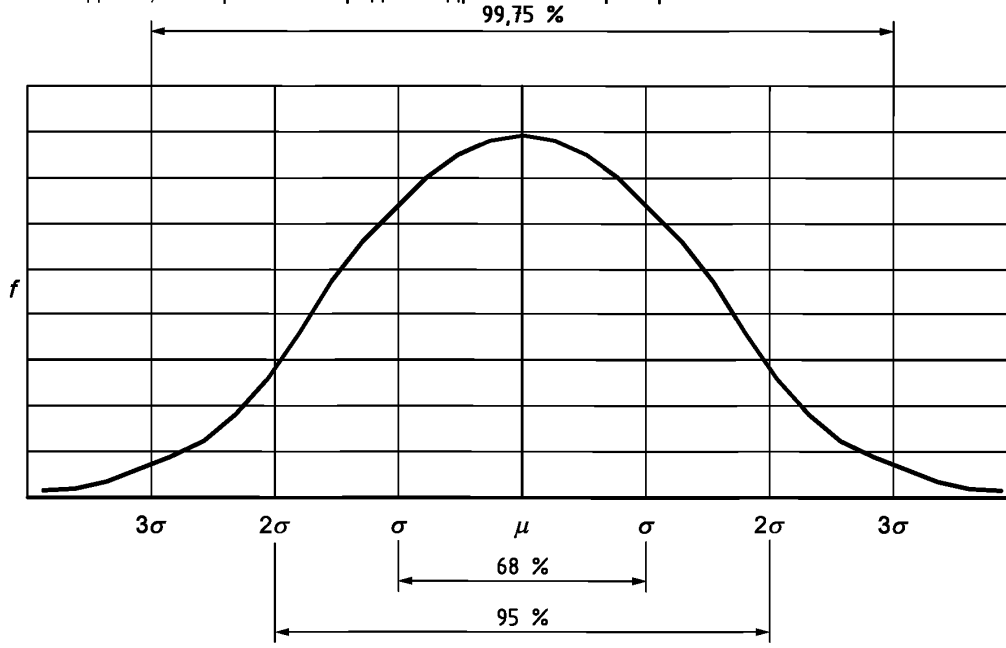
Выбранный метод статистического анализа должен соответствовать не только количеству участников, выполняющих исследование, но также используемому методу исследования. Например, результаты исследования, использующего методы подсчета колоний, анализируют способом, отличающимся от метода статистического анализа, требующегося для анализа определения НВЧ. Это происходит потому, что присущая методу НВЧ изменчивость будет больше, чем изменчивость методов подсчета колоний. Действительно, для оценки показателей участников программы проверки квалификации в отношении различных испытаний в рамках одной программы могут потребоваться разные статистические параметры (см. ISO/IEC 17043, п. 4.5.2). Это должно быть установлено в документации плана программы, а также в плане программы должны быть даны ссылки на приемлемые микробиологические методы.

Подходящие статистические анализы и назначение показателей для участников приведены в ISO/IEC 17043, приложение B.

8.3.2 Распределение данных

Если подсчет повторяют несколько раз, в условиях повторяемости, плотность вероятности результатов образует, как ожидается, кривую в форме колокола, называемую нормальным распределением.

Микробиологические подсчеты обычно следуют закону логарифмического нормального распределения, и данные преобразуют в значения логарифмов по основанию 10, чтобы получить кривую нормального распределения. В то же время, для низкого числа бактерий, можно использовать реальный подсчет, или применить среднеквадратическое преобразование.



Обозначения

f – частота
μ – среднее

σ – стандартное отклонение

Рисунок 1 – Диаграмма нормального распределения

Хотя испытывают один и тот же материал, результаты, полученные в разных лабораториях, не являются идентичными, поскольку на результат могут оказать влияние незначительные изменения во время проведения самих испытаний.

При проверке квалификации лабораторий испытания обычно выполняют не в условиях, отличных от условий повторяемости или даже от условий воспроизводимости. Испытания осуществляются разными аналитиками, в разных местах и в разное время, с использованием разного оборудования, сред, реактивов и методов анализа, и все это приводит к дополнительной изменчивости, которую можно назвать как условия «супервоспроизводимости» или «сверхвоспроизводимости», поскольку термин «воспроизводимость» обычно используется только в контексте конкретного метода.

Несмотря на такое разнообразие условий испытания, обычно наблюдается (логарифмически) нормальное распределение результатов, и принципы статистики, соответствующие таким распределениям, следует использовать для интерпретации данных, при условии, что распределение грубо симметричное и унимодальное (одновершинное).

Если распределение данных не является (логарифмически) нормальным, следует оценить причины этого и интерпретировать данные соответственно, используя другие подходящие тесты (методы).

8.3.3 Определение приписанного значения

Цель проверки квалификации заключается в оценке, насколько квалифицированы участники в достижении «верного» результата. Однако в большинстве программ проверки квалификации невозможно знать «верный» результат, поскольку один и тот же испытуемый материал могут испытывать разные аналитики и получить незначительно расходящиеся результаты.

Вместо этого, следует произвести оценку «верного» или «правильного» результата и назвать его «приписанным значением». Приписанное значение можно определить несколькими способами, в соответствии с ISO/IEC 17043, B.2 и ISO 13528.

Самым обычным методом для проверки квалификации микробиологических лабораторий является согласование значений среди лабораторий-участниц. Приписанное значение определяют из робастного среднего или медианы результатов всех участников. Применение робастных методов предполагает минимизацию влияния разбросов, так чтобы такие результаты не требовалось исключать из данных, поскольку «истинные» разбросы идентифицировать трудно.

Приписанное значение имеет более высокую неопределенность, чем полученное другими методами, но это учитывается при оценке показателей участников. Приписанное значение считается справедливым, поскольку результаты от всех участников внесли свой вклад в расчеты.

Если более низкая общая медиана получается при установке приписанных значений по согласованию участников (например, за счет того, что большое число участников столкнулись с трудностями при выделении или идентификации конкретного микроорганизма), организаторам программы следует прокомментировать это так, чтобы правильно обосновать показатели участников, результаты которых не подверглись влиянию.

8.3.4 Неопределенность приписанного значения

Приписанное значение представляет собой наилучшую оценку истинного значения. Оно имеет стандартную неопределенность, указывающую уровень доверия в этой оценке. Если стандартная неопределенность приписанного значения слишком велика по сравнению со стандартным отклонением в процессе испытаний, то некоторые участники получают действующие и предупреждающие оценки не в результате своих показателей, а в результате большой неопределенности приписанного значения.

Поэтому следует установить критерии приемлемости приписанного значения в пересчете на его неопределенность. Ряд методов по оценке этой неопределенности и определению приемлемости имеются и описаны в ISO 13528.

8.3.5 Методы оценки показателей участников проверки

Организатор программы проверки квалификации лабораторий должен определить приписанное значение и оценить, насколько результат(ы), полученный от каждого участника отклоняется от этого приписанного значения по сравнению с результатами, полученными от всех других участников. Таким образом, показатели участников оценивают не по «верному» результату, а по статистическим оценкам «верного» результата, выведенным по всем представленным данным. Чем больше количество данных, тем более точными могут быть такие статистические методы оценки.

Методы оценки показателей участников и назначение показателей приведены в ISO/IEC 17043, B.3 и ISO 13528.

8.3.6 Использование *z*-показателей

8.3.6.1 Общие положения

Обычным и широко распространенным методом, используемым в проверке квалификации лабораторий, является система *z*-показателей, поскольку их относительно легко вычислить и интерпретировать (см. ISO/IEC 17043, B.3). *z*-показатель указывает, на сколько стандартных отклонений находится данное значение от среднего, например *z*-показатель 2 представляет значение, которое равно 2σ˜, где σ – стандартное отклонение от среднего.

Как показано на рисунке 1, данные со стандартизованным нормальным распределением имеют 95 % значений в пределах 2□σ˜ от среднего и 99,7 % значений в пределах 3□σ. Результаты с *z*-показателем выше 2 считают сомнительными, в связи с тем, что только 5 % правильных измерений будет отличаться от приписанного значения. Результаты с *z*-показателем выше 3 считаются неудовлетворительными, поскольку только 0,3 % правильных измерений будет отличаться от приписанного значения (см. ISO/IEC 17043, B.4).

8.3.6.2 Целевое стандартное отклонение для расчетов *z*-показателя

Расчет *z*-показателя использует целевое значение для стандартного отклонения. Это целевое стандартное отклонение определяет масштаб приемлемой изменчивости лабораторий для каждого конкретного испытания. То же самое стандартное отклонение следует использовать в последующих проверках квалификации и так, чтобы показатели можно было сравнивать от проверки к проверке. Существует ряд методов для установления целевого стандартного отклонения, приведенных в [9], ISO/IEC 17043, B.3 и ISO 13528.

8.3.6.3 Параллельные результаты в системах *z*-показателей

Расхождения между результатами участников возникают из межлабораторной изменчивости, а также из внутрилабораторной изменчивости. Внутрилабораторная изменчивость или внутрилабораторная дисперсия представляет собой изменчивость измерений, выполненных одной и той же лабораторией на одном и том же образце, и является свойством, присущим микробиологическим исследованиям. Внутрилабораторная изменчивость измеряется дисперсией повторяемости.

Когда лаборатория-участница сообщает о параллельных результатах для одного испытуемого материала, это может потенциально сместить остальные данные, полученные от других участников. Например, если 10 аналитиков из одной и той же лаборатории все испытывали один и тот же материал (образец), который изначально был неправильно разбавлен, то все 10 результатов будут неверными. Такое количество неверных результатов включается как часть в общее количество данных и может сместить все остальные результаты. Чтобы избежать такой систематической погрешности, в общий анализ данных следует включать только по одному результату от каждой лаборатории для получения распределения.

Если лаборатория-участница получила параллельные результаты на одном и том же образце, эти результаты должны сообщаться по отдельности, а не как среднее значение. Там где организаторами программы допускается только один результат от каждого участника, то для сообщения необходимо выбрать отдельный результат до того, как исследование завершится и результаты будут известны.

8.3.7 Другие способы оценки показателей

8.3.7.1 Общие положения

Хотя *z*-показатели очень часто используются для оценки результатов программы проверки квалификации, полученных разными методами, для определенных программ могут подойти другие методы оценки.

Например, в случае образцов с низкими показателями (например, питьевая вода) статистическая оценка может быть основана на модели, которая прогнозирует случайные изменения. По формуле Пуассона определяют «низкий» или «высокий» уровень концевых («хвостовых») подсчетов. Низкие или высокие результаты могут получиться неожиданно и случайно в любой лаборатории, но накопление таких концевых результатов указывает на плохие показатели. Преимущества и недостатки такой модели в статистическом анализе обсуждается в [17].

Для программ, в которых ожидается высокий уровень, можно пользоваться правилом 0,5 $\log_{10}$ или методом процентилей, а для программ с незначительным количеством участников потребуется метод абсолютного отклонения медианы. Эти методы описаны в 8.3.7.2 – 8.3.7.4.

8.3.7.2 Применение правила 0,5 $\log_{10}$

Систему оценок, основанную на правиле 0,5 $\log_{10}$, можно использовать для подсчета колоний по [13]. 95 %-ные доверительные интервалы от среднего количества колоний составляют не более чем ± 0,5 $\log_{10}$ КОЕ. Внутренние проверки контроля качества для микробиологических лабораторий требуют параллельного подсчета колоний, чтобы показать согласования был не более чем 0,5 $\log_{10}$

единиц, что подтверждает хороший результат. Это применяется к таким результатам от лабораторий–участниц, когда все результаты в пределах $\pm 0{,}5 \log_{10}$ единиц от медианы участников считаются приемлемыми и назначаются верхним пределом. Это правило позволяет улучшить показатели участников со временем, если общее качество подсчетов, производимых этими участниками, также улучшится.

Правило $0{,}5 \log_{10}$ основано на микробиологическом критерии, но также достоверно статистически, поскольку, если ожидаемое количество колоний на чашку составляет 10, и организмы распределяются произвольно, то 95 % результатов окажутся в диапазоне от 3 до 17 колоний. На шкале десятичных логарифмов ожидаемая медиана будет равна 1, нижний предел будет равен 0,47, а верхний предел составит 1,23, т.е. нижняя и верхняя границы диапазона будут в пределах $0{,}5 \log_{10}$ единиц. Следовательно, результат в пределах $\pm 0{,}5 \log_{10}$ единиц от ожидаемого значения следует считать приемлемым.

8.3.7.3 Применение процентилей

Процентили можно использовать для идентификации разбросов для подсчетов, когда 50 и больше участников осуществляют подсчет количества колоний. Это влечет за собой подсчет 5-ой, 10-ой, 90-ой, и 95-ой процентилей распределения результатов, полученных от участников (C5, C10, C90, и C95 соответственно). C5 и C10 следует округлить с уменьшением до $0{,}05 \log_{10}$ единицы например, 2,23 округляют до 2,20), тогда как C90 и C95 следует округлять с увеличением (например, 3,36 округляют до 3,40). Например, как могут присваиваться показатели (например, при подсчете аэробных колоний) показано ниже:

- Результаты от C10 до C90 (приемлемый диапазон): Показатель = 2
- Результаты от C5 до C10 или от C90 до C95: Показатель = 1
- Результаты ниже C5 или выше C95: Показатель = 0

Применение правила $0{,}5 \log_{10}$ может расширить приемлемый диапазон и, следовательно, повысить показатели, назначенные некоторым результатам в C5, C10, C90 и C95.

Метод процентилей является робастным и не зависит от того, является ли реальное распределение десятичных логарифмов подсчитанного количества колоний нормальным. Это позволяет четко интерпретировать оценку показателей.

Если число участников в разработанной программе проверки квалификации оказалось менее 50 лабораторий, или количество участников, сообщивших результаты подсчета конкретного параметра, оказалось менее 50, то значения абсолютного отклонения медианы (MAD) (см. 8.3.7.4) следует использовать вместо процентилей.

8.3.7.4 Применение абсолютного отклонения медианы от значений медианы

Метод MAD используют для идентификации разбросов при количестве участников, выполнивших подсчет, составило менее 50. Процентили использовать не следует, поскольку менее 50 результатов предоставляют недостаточно данных для расчета достоверных значений C5, C10, C90 и C95. Значения MAD обеспечивают робастный метод вычисления приемлемого диапазона при оценке результатов, полученных от участников, и назначении показателей. Анализ требует расчета разности медиан из медианы для каждого результата, которую затем умножают на 1,482 6, чтобы получить достоверную оценку стандартного отклонения (значение MAD), σ_{MAD}.

Пример того, как могут быть назначены показатели с помощью значений MAD, показан ниже:

— Результаты в пределах $\pm 2\ \sigma_{MAD}$ от медианы участников: Показатель = 2

— Результаты между $\pm 2\sigma_{MAD}$ и $\pm 2{,}58\ \sigma_{MAD}$: Показатель = 1

— Результаты за пределами $\pm 2{,}58\ \sigma_{MAD}$: Показатель = 0

Как и в отношении процентилей, нижние пределы следует округлять с понижением до значения $0{,}05 \log_{10}$, а верхние пределы с повышением до значения $0{,}05 \log_{10}$.

Необходимо отметить, что если не применяется правило $0{,}5 \log_{10}$, приблизительно 5 % лабораторий окажутся вне интервала $\pm$ 2□ σ_{MAD} и 1 % вне интервала $\pm$ 2,58 σ_{MAD} (предполагая нормальность десятичных логарифмов подсчетов без экстремальных разбросов).

Метод MAD следует использовать для новых программ проверки квалификации, в которых принимает участие менее 100 лабораторий.

8.3.7.5 Специальное рассмотрение методов наиболее вероятного числа (НВЧ)

Метод анализа, используемый для определения НВЧ, имеет большую присущую изменчивость, чем методы подсчета колоний и поэтому часто считается только полуколичественным. В то же время, иногда он требуется для обнаружения и оценки концентраций, если ожидается низкая концентрация микроорганизмов, особенно когда микроорганизмы находятся в стрессовом состоянии (например/, в результате обработки или замораживания). Также, методы НВЧ предписаны нормами

или критериями микробиологических исследований определенных пищевых продуктов, например, молочных продуктов или живых двустворчатых и других моллюсков.

Любой метод оценки результатов участников по определению значений НВЧ следует допускать для присущей изменчивости НВЧ, предположив, что образец хорошо перемешан до испытания.

Для метода три по пять пробирок стандартное отклонение результата $\log_{10}$ НВЧ составит приблизительно 0,24, при условии, что результаты не покажут «экстремальных» комбинаций пробирок, например, комбинаций 3, 0, 0 к 5, 5 и 2 (см. ISO 7218).

Для метода три по три пробирки стандартное отклонение результата $\log_{10}$ MPN составит приблизительно 0,32, при условии, что результаты не покажут «экстремальных» комбинаций пробирок, например, комбинаций 2, 0, 0 к 3, 3, и 1.

Это означает, что в идеальной ситуации, без избыточной межлабораторной изменчивости, 95 % результатов попадут в пределы $\pm 2\sigma$ и более 99 % результатов в пределы $\pm 3\sigma$, где σ – стандартное отклонение.

Однако на практике существует некоторая межлабораторная изменчивость. Анализ ряда наборов данных показывает, что это увеличивает дисперсию примерно в 2,5 раза (и, следовательно, стандартное отклонение примерно в 1,58 раз).

Поэтому пределы приемлемости результатов участников для определений НВЧ следует поднять до $\pm 3\sigma$ и $\pm 5\sigma$ (см. таблицу 1).

Т а б л и ц а 1 – Предел приемлемости результатов

Предел приемлемости результатов	Метод три по три	Метод три по пять
$\pm 3\sigma$	$\pm$ 0,96 $\log_{10}$ (9,1-кратно)	$\pm$0,72 $\log_{10}$ (5,2-кратно)
$\pm 5\sigma$	$\pm$ 1,60 $\log_{10}$ (39,8-кратно)	$\pm$1,20 $\log_{10}$ (15,8-кратно)

Правило 0,5 $\log_{10}$ не следует применять к результатам НВЧ ввиду присущей методу изменчивости.

Для метода НВЧ также возможно проверить согласование комбинаций пробирок и разведений и сообщаемого НВЧ с помощью таблиц (см. ISO 7218).

Если программа проверки квалификации или нормативы, на которых она основана, требует определять значения НВЧ параллельно, то результаты можно сравнивать и, если комбинации пробирок вызывают доверие, то расхождение между двумя результатами не должны отличаться, в пересчете на десятичные логарифмы, более чем на $2{,}58 \times \sqrt{2} \times 0{,}24 = 0{,}88$ для метода три по пять пробирок и более чем на $2{,}58 \times \sqrt{2} \times 0{,}32 = 1{,}17$ для метода три по три пробирки.

Если сравнивают два распределения с двумя параллельными результатами на распределение, то среднее из двух определений не должно отличаться, в пересчете на десятичные логарифмы, более чем на $2{,}58 \times 0{,}24 = 0{,}62$ для метода три по пять пробирок и более чем на $2{,}58 \times 0{,}32 = 0{,}83$ для метода три по три пробирки.

8.3.8 Оценка долгосрочных показателей

8.3.8.1 Общие положения

Оценка показателей в программах проверки квалификации обычно сводится к оценке результатов отдельных раундов, но есть примеры, когда оценка при длительной работе может быть более надежной. Хотя такая оценка обычно применяется к программам внешней оценки качества, для завершенности документа здесь приводятся некоторые рекомендации.

Любой метод оценки долгосрочных показателей должен обеспечить, чтобы лаборатории, выполняющие подсчеты, не идентифицировались как «плохие исполнители» случайно, по количеству микроорганизмов в образцах, которые они получили.

«Низкое» и «высокое» количество следует определять согласно объективным правилам (например, в соответствии с определением на основе модели Пуассона для никого количества, или метода процентилей или других методов для больших количеств), а затем использовать это для определения тех лабораторий, которые сообщают такие результаты чаще в течение времени, чем можно было бы ожидать случайно.

Организаторам программы следует поощрять участников на выполнение собственного квалифицированного обоснования при оценке информации, предоставленной в отчетах, самостоятельно оценивая, таким образом, свои показатели. Организаторы могут предложить своим участникам различные способы выполнения самооценки лаборатории, но им не следует диктовать критерии для самооценки каждой отдельной лаборатории; лучше каждая отдельная лаборатория-

участница установит критерии на основе того, что считается микробиологически значимым в контексте ее собственной повседневной работы и требований заказчиков.

8.3.8.2 Оценки низких результатов (небольшого количества микроорганизмов)

Если случай является единственным рассматриваемым фактором, то «концевые» подсчеты должны распределяться случайным образом. Результаты можно тщательно проверить, чтобы определить разброс концевых результатов, между лабораториями по ряду образцов (например, используя критерий (*Q*-тест) Кохрана).

Если они распределяются неслучайным образом, можно выполнить анализ второго уровня, чтобы определить ожидаемое распределение концевых подсчетов по представившим их лабораториям, если они просто являются результатом естественной изменчивости образцов, а не результатом влияния показателей лаборатории. Тогда по отличию между ожидаемыми количествами низких результатов от лабораторий и фактически наблюдаемым количеством выделяются те лаборатории, которые могут испытывать проблемы. Пример оценки показателей для образцов с низким содержанием микроорганизмов приведен в таблице 2.

Т а б л и ц а С.2 – Наблюдаемые и ожидаемые количества наборов результатов, предполагая, что распределение низких результатов случайное (по распределению низких концентраций *Clostridium perfringens* в образцах питьевой воды, там где изменчивость в количествах микроорганизмов в разных анализируемых пробах может непременно превысить изменчивость лабораторных показателей)

No. «низких» результатов	Наблюдаемые	Ожидаемые
0	58	58
1	32	48,56
2	18	16,94
3	14	3,15
4	3	0,33
5	2	0,02
Всего	127	127

Один или два низких результата могли получиться случайно; три возможно были неслучайны; четыре или больше вряд ли были случайными, и методы следует проверить.

8.3.8.3 Оценки высоких результатов (большого количества микроорганизмов)

Оценки высоких результатов опираются на аналогичные принципы, но ожидается меньшая изменчивость результатов от участников за счет изменчивости содержания микроорганизмов в образцах.

Долгосрочные показатели, оцененные, например, методом процентилей, могут быть получены по 12 образцам, допуская максимальный показатель – 24 точки. Участникам устанавливают целевой показатель не менее 70 %. Если правило 0,5 $\log_{10}$ в расчет не принимается и делается допущение, что все участники способны достичь одинаковых показателей, то с помощью многомерной теории можно показать, что вероятность для участника достичь суммарный показатель меньше 70 % от максимально возможного равна 5,2 %. Это означает, что в подобных обстоятельствах, приблизительно одного из 20 участников можно неправильно идентифицировать как «плохой исполнитель». В действительности показатели не могут быть одинаковыми, и некоторые лаборатории действительно испытывают проблемы с исследованиями, которые они проводят, так что вероятность неправильной идентификации удовлетворительных показателей как «плохие» показатели будет гораздо ниже указанной. Более того, применение правила 0,5 $\log_{10}$ снижает эту вероятность до менее 0,1 %.

Практический пример оценки долгосрочных показателей с помощью крупноформатных таблиц показан в приложении С.

8.4 Оценка качественных методов

8.4.1 Общие положения

Для межлабораторных сравнительных испытаний, в которых используются один или несколько качественных методов, результаты фактически представляют собой «белый или черный», «да или нет», «обнаружено или не обнаружено».

Методы статистического анализа для результатов такого типа ограничены, но предлагаются различные варианты, такие как LOD_{50}, оценки согласованности или совпадения и относительная точность, хотя оптимальный метод все еще на стадии рассмотрения.

8.4.2 Показатели отдельных лабораторий

Простой метод самооценки лабораториями-участницами заключается в записи количества положительных и количества отрицательных результатов, которые они обнаружили, наряду с количеством положительных и количеством отрицательных результатов, которые ожидались. Эту

информацию следует сопоставить с записями концентраций целевых микроорганизмов в образцах, чтобы оценить показатели, а также обеспечить текущие данные по пределу обнаружения метода в отдельных лабораториях.

Результатом испытания на присутствие/отсутствие является ответ «да» или «нет», необходимо испытать множество образцов, чтобы оценить показатели отдельных лабораторий в программе проверки квалификации. Каждому участнику следует испытать всего не менее 18 образцов. Эти 18 образцов состоят из шести параллельных проб на трех различных уровнях заражения образцов. Эти три уровня дают: отрицательный (проверка на наличие ложных положительных результатов за счет, например, перекрестного заражения); низкий уровень [означающий, что образцы заражены на пределе обнаружения или немного выше этого предела для используемого метода, в идеале такой уровень должен быть уровнем, на котором 50 % образцов показали положительный результат заражения; и 50 % отрицательный (LOD_{50})] и высокий уровень (этот уровень должен быть в 10 раз выше низкого уровня и представлять уровень, на котором все анализируемые образцы показывают положительный результат).

Интерпретация данных проста:

a) для отрицательных: все образцы должны показать отрицательный результат;

b) для высокого уровня: все образцы должны показать положительный результат;

c) для низкого уровня: можно рассчитать (см. таблицу 3) с помощью биномиального распределения и процента образцов, показавших положительный результат (можно получить из опорного значения, полученного от организатора, или взять лучший результат из результатов, полученных от всех участников) на 95 %-ном доверительном уровне.

Таблица 3 – Случай обнаружения определенного количества положительных результатов по шести образцам как функция среднего процента положительных образцов (биномиальное распределение)

Число положительных результатов по шести образцам	Средний процент положительных результатов								
	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %
0	53,1 %	26,2 %	11,8 %	4,7 %	1,6 %	0,4 %	0,1 %	0,0 %	0,0 %
1	35,4 %	39,3 %	30,3 %	18,7 %	9,4 %	3,7 %	1,0 %	0,2 %	0,0 %
2	9,8 %	24,6 %	32,4 %	31,1 %	23,4 %	13,8 %	6,0 %	1,5 %	0,1 %
3	1,5 %	8,2 %	18,5 %	27,6 %	31,3 %	27,6 %	18,5 %	8,2 %	1,5 %
4	0,1 %	1,5 %	6,0 %	13,8 %	23,4 %	31,1 %	32,4 %	24,6 %	9,8 %
5	0,0 %	0,2 %	1,0 %	3,7 %	9,4 %	18,7 %	30,3 %	39,3 %	35,4 %
6	0,0 %	0,0 %	0,1 %	0,4 %	1,6 %	4,7 %	11,8 %	26,2 %	53,1 %

ПРИМЕР – Чтобы использовать таблицу 3, первый средний процент положительных результатов должен быть известен. Здесь он предполагается равным 30 %, означая, что примерно один из трех образцов содержит целевой микроорганизм. Поскольку только 30 % образцов содержат целевой микроорганизм, похоже, что некоторые из образцов могут вообще не содержать целевой микроорганизм, если анализируют, например, шесть образцов.

Таблица 3 показывает, что вероятность получения набора из шести образцов, состоящих из четырех положительных и двух отрицательных, составляет 6 %. Это вряд ли произойдет, но возможно, если доверительный интервал предполагается равным 95 %. Сумма вероятностей обнаружения 0, 1, 2, 3 или 4 положительных результатов составляет 99,0 % (11,8 + 30,3 + 32,4 + 18,5 + 6,0). В этом случае, 99 % является наименьшим значением, которое выше 95 % (доверительного предела). Исключение четырех положительных результатов в 93 %, что ниже 95 %-ного доверительного уровня.

Вероятность нахождения шести положительных результатов из шести образцов составляет только 0,1 %. Это очень малая вероятность для чистого случая. Поскольку неопределенность устанавливается на максимуме 5 % (100 % – 95 % -ный уровень доверия), это попадает в данный предел. То же самое происходит в ситуации, когда пять или шесть из шести образцов являются положительными. Сумма вероятностей здесь составляет 1,1 %, что все еще ниже 5 % - ного предела. Только когда четыре из шести образцов дают положительный результат (6 %), неопределенность действительно превышает 5 %-ный предел. Поскольку максимум установлен на 5 %, ситуация пять или шесть из шести проанализированных образцов являются положительными результатом.

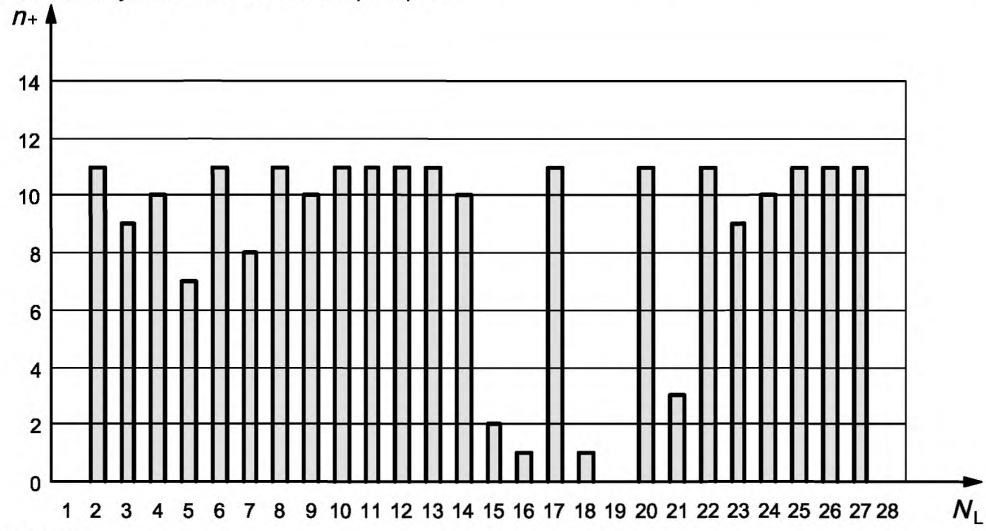
Примечание – При LOD_{50}, 50 % образцов дают положительный результат. Теоретически [с учетом того, что использованный метод способен к обнаружению одного

микроорганизма в образце и предполагая однородное (равномерное) распределение (Пуассона) среди образцов] средний уровень заражения образцов ожидается порядка 0,7 микроорганизмов на образец, чтобы достичь LOD_{50}. На практике идеальное однородное распределение зачастую не достигается и большим числом образцов или относительно больше образцов не содержат вообще ни одного (живого) микроорганизма, чем можно было бы ожидать для истинно однородного распределения. Чтобы получить 50 % положительных образцов, требуется увеличение среднего уровня заражения, исходя из опыта работы с материалом, используемым в исследовании.

8.4.3 Сравнение показателей лабораторий в программе

Чтобы сравнить показатели одной лаборатории с показателями других лабораторий-участниц программы, организаторы программы могут рассчитать количества (или проценты) положительных результатов для концентраций заражающего целевого микроорганизма, обнаруженных в испытуемом образце каждой из лабораторий (каждой из которых присвоен код). Пример таких данных приведен на рисунке 2. В данном исследовании приняло участие 28 лабораторий (указанных кодами по оси N_L на рисунке 2). Каждая лаборатория проанализировала 22 образца фекалий цыплят, искусственно зараженных контрольным материалом, содержащим два разных серотипа (серовара) *Salmonella* на четырех различных уровнях заражения (от 10 до 500 КОЕ на образец). На рисунке 2 результаты суммируют для образца с низким уровнем заражения ($n = 14$). Число обнаруженных лабораториями-участницами положительных результатов варьируется от 0 до 11 образцов (n_+ – ось на рисунке 2).

В дополнение к этому более описательному пути представления результатов, можно рассчитать степени специфичности, степени чувствительности и степени точности на уровень зараженности образцов (ISO 16140[4]). Эти степени можно рассчитать для каждой лаборатории и для результатов, полученных от всех лабораторий.



Обозначения

N_L – код лаборатории

n_+ – число положительных результатов

Рисунок 2 – Число положительных результатов на лабораторию для всех проанализированных материалов с низким содержанием микроорганизмов ($n = 14$)

Степень специфичности, r_{SP}, задается формулой:

$$r_{SP} = \frac{n_-}{E(n_{-\,tot})} \times 100\ \%$$

где n_- – число полученных отрицательных результатов;

$E(n_{-\,tot})$ – общее число ожидаемых образцов, которые дадут отрицательный результат.

Степень чувствительности, r_{SE}, задается формулой:

$$r_{SE} = \frac{n_+}{E(n_{+\,tot})} \times 100\ \%$$

где $n_{+\sim}$ – число полученных положительных результатов;

$E(n_{+\sim\ \mathrm{tot}})$ – общее число ожидаемых образцов, которые дадут положительный результат.

Степень точности, r_{AC}, задается формулой:

$$r_{AC} = \frac{n_+ + n_-}{n_{tot}} \times 100\ \%$$

где n_{tot} – общее число образцов.

Оценка только в том случае будет значимой, если она будет связана с числом присутствующих целевых микроорганизмов.

Приложение А
(справочное)

Пример требований, которые необходимо включить в план программы проверки квалификации лабораторий

План программы проверки квалификации лабораторий – Краткое описание программы

Наименование программы:	Программа исследования пищевых продуктов
Тип программы:	Микробиология пищевых продуктов
Цели:	Обеспечить образцы внешней оценки качества для общих повседневных исследований, выполняемых лабораториями, занимающимися микробиологией пищевых продуктов.
Критерии для выбора участников:	Лаборатории, занимающиеся микробиологией пищевых продуктов с оборудованием и помещениями, соответствующими работе с патогенными микроорганизмами категории риска 1 и 2
Целевые участники:	Лаборатории, занимающиеся микробиологией пищевых продуктов, частного и государственного сектора
Нормативная база:	Регламент Евросоюза (EU Regulation 882/2004), касающийся официального контроля над пищевыми продуктами
Тип образцов:	Сублимированные микроорганизмы в вакуумных стеклянных ампулах
Исследования:	**Присутствие/отсутствие:** *Campylobacter* spp. *Escherichia coli* O157 *Salmonella* spp. **Подсчет:** Аэробные колонии *Bacillus cereus* *Clostridium perfringens* Колиформы Энтеробактерии *Escherichia coli* *Listeria monocytogenes* Коагулаза-положительные стафилококки
Критерии содержания в образце:	Реалистическая микрофлора, имитирующая микрофлору реальных пищевых продуктов и обеспечение реалистических задач для методов повседневного микробиологического исследования пищевых продуктов
Целевое число участников:	Более 200
Число рассылок в год:	Шесть
Число образцов в рассылке:	Два
Внешние субподрядчики:	Нет
Технические эксперты:	ФИО
Контроль качества партии образцов:	Наименование лаборатории организатора проверки и использованные стандартные методы 25 образцов от каждой партии исследовали для всех установленных испытаний
Статистические методы:	Согласованная медиана (подсчеты) Процентили для идентификации выбросов
Назначение показателей:	Да
Критерии для показателей:	Три показателя на образец для: i) исследований патогенов; ii) подсчета аэробных колоний; iii) индикаторные организмы
Непрерывная оценка показателей:	Да
Критерии идентификации “плохих показателей”:	Менее 70 % максимально возможных показателей на шесть рассылок образцов
Профилактический подход	Да

организаторов к “плохим показателям”:	
Оценка метода:	Да — только для индикаторов

Координатор программы или его заместитель для подписи/даты:

Утверждены координационной группой:	Дата
Рекламная литература утверждена:	Дата
Смета утверждена:	Дата
Выдана аккредитация:	Дата
Другие комментарии:	Обзор на заседании координационной группы

Приложение В
(справочное)

Методы определения изменчивости анализируемых проб испытуемого материала

В.1 Тест T_1 ˜– T_2

Этот тест рекомендуется для тех случаев, когда присутствует небольшое количество микроорганизмов в анализируемых пробах испытуемых материалов (ТМ) на уровне от 35 до 40 КОЕ на чашку или когда невозможно назначить «целевого стандартного отклонения» для оценки достаточной однородности.

Изменчивость анализируемых проб из одной (восстановленной) единицы ТМ, T_1, и анализируемых проб из различных (восстановленных) единиц одной партии ТМ, T_2, анализируют различными способами. Подробности описаны в [12], а краткое описание представлено здесь.

Для определения изменчивости анализируемых проб из одной (восстановленной) единицы ТМ (параллельное испытание), применяют критерий значимости T_1:

$$T_1 = \sum_i \sum_j \left[\frac{\left(z_{ij} - z_{i+}/J\right)^2}{\left(z_{i+}/J\right)} \right], \tag{B.1}$$

где z_{ij} – число КОЕ в одной j –той анализируемой пробе i-той единицы;

z_{i+} – сумма количеств КОЕ во всех анализируемых пробах i-той единицы

$$z_{i+} = \sum_j z_{ij}\,, \tag{B.2}$$

J – число анализируемых проб на единицу.

Для определения изменчивости анализируемых проб из различных (восстановленных) единиц одной партии ТМ, применяют критерий значимости T_2:

$$T_2 = \sum_i \left[\frac{(z_{i+} - z_{++}/I)^2}{(z_{++}/I)} \right], \tag{B.3}$$

где z_{++} – сумма количеств КОЕ во всех анализируемых пробах испытуемых единиц одной партии ТМ

$$z_{++} = \sum_i \left(\sum_j z_{ij}\right), \tag{B.4}$$

I – число испытуемых единиц.

Если применяется распределение Пуассона, T_1 и T_2 следуют а χ^2 – распределению с $I(J-1)$ и $I-1$ степенями свободы, соответственно. В этом случае, ожидаемые значения T_1 и T_2 будут такими же, как число степеней свободы. Следовательно, $T_1/I(J-1)$ и $T_2/(I-1)$ ожидаются равными единице.

Для определения изменчивости единиц в одной партии ТМ, распределение Пуассона является теоретически наименьшей возможной изменчивостью, которой можно достичь. Однако ожидается избыточная дисперсия и $T_2/(I-1)$ будет значительно больше 1 [12]. Приемлемая изменчивость единиц в партии ТМ равна $T_2/(I-1) \leq 2$.

ПРИМЕР

Имеются следующие данные:

единица:	(параллельный) подсчет:
1	$z_{11} = 45$ $z_{12} = 49$
2	$z_{21} = 33$ $z_{22} = 42$
3	$z_{31} = 40$ $z_{32} = 42$
$I = 3$	(три единицы)
$J = 2$	(две параллельные пробы)
	$z_{1j}/J = (45 + 49)/2 = 94/2 = 47$
	$z_{2j}/J = (33 + 42)/2 = 75/2 = 37{,}5$
	$z_{3j}/J = (40 + 42)/2 = 82/2 = 41$

$$T_1 = \frac{(45-47)^2}{47} + \frac{(49-47)^2}{47} + \frac{(33-37{,}5)^2}{37{,}5} + \frac{(42-37{,}5)^2}{37{,}5} + \frac{(40-41)^2}{41} + \frac{(42-41)^2}{41}$$

$$= 0{,}085 + 0{,}085 + 0{,}54 + 0{,}54 + 0{,}024 + 0{,}024$$

$$= 1{,}298$$

T_1 будет следовать χ^2 – распределению с $I(J - 1) = 3 \times (2 - 1) = 3$ степенями свободы.

Полученные двусторонние на 95 %-ном доверительном уровне нижний и верхний пределы для такого распределения будут, при 3 степенях свободы, 0,22 и 9,3, соответственно. Рассчитанное значение T_1 (1,298) следует этим критериям.

$$\Sigma z_{ij} = 45 + 49 + 33 + 42 + 40 + 42 = 251$$

$$\Sigma z_{ij} / I = 251/3 = 83{,}7$$

$$T_2 = \frac{(94-83{,}7)^2}{83{,}7} + \frac{(75-83{,}7)^2}{83{,}7} + \frac{(82-83{,}7)^2}{83{,}7}$$

$$= 1{,}268 + 0{,}904 + 0{,}034$$

$$= 2{,}206$$

Приемлемая изменчивость в партии будет: $T_2/(I - 1) \leq 2$.

Здесь $T_2/(I - 1) = 2{,}206/(3 - 1) = 1{,}103$ и, таким образом, следует критериям приемлемости для партии.

B.2 Испытание на достаточную однородность

Это испытание рекомендуется для тех случаев, когда микроорганизмы присутствуют в больших количествах (больше 35 – 40 КОЕ на чашку) в пробах испытуемого материала и имеется целевое стандартное отклонение, σ_p, которое описывает показатели участников программы проверки квалификации. Оно основано на испытании на «достаточную однородность» [11].

Принимая во внимание набор проб испытуемого материала, анализируемых параллельно, с результатами, выраженными в логарифмических единицах, испытание считается пройденным, если дисперсия проб, s^2_{sam}, удовлетворяет условию (B.5):

$$s^2_{sam} \leq F_1(0{,}3\sigma_p)^2 + F_2 s^2_{an}, \qquad \text{(B.5)}$$

где s^2_{an} – аналитическая дисперсия. Это испытание с меньшей вероятностью, чем $T_1 - T_2$, приведет к браковке испытуемого материала, который не является идеально однородным (аналитические результаты распределяются по закону Пуассона), но будет достаточно однородным для использования в проверке квалификации с целевым стандартным отклонением σ_p. Это происходит, потому что материалы принимаются, если только не показано с высокой доверительностью (95 %), что пригодность по назначению критерия $\sigma_{sam} > 0{,}3\,\sigma_p$, где σ_{sam} стандартное отклонение, оценкой которого является s_{sam}.

ПРИМЕР

Принимая во внимание количественные результаты параллельного анализа 10 проб материала, рассчитывают разность (D) и сумму (S) и квадрат D (D^2) десятичного логарифма каждого набора результатов (таблица 1).

Проба	Анализ 1	Анализ 2	Логарифмический анализ 1	Логарифмический анализ 2	D	S	D^2
1	35	51	1,5441	1,7076	–0,1635	3,2516	0,026733
2	52	46	1,7160	1,6628	0,0532	3,3788	0,002835
3	35	33	1,5441	1,5185	0,0256	3,0626	0,000653
4	53	38	1,7243	1,5798	0,1445	3,3041	0,020878
5	30	40	1,4771	1,6021	–0,1249	3,0792	0,015610
6	33	30	1,5185	1,4771	0,0414	2,9956	0,001713
7	41	60	1,6128	1,7782	–0,1654	3,3909	0,027346
8	35	55	1,5441	1,7404	–0,1963	3,2844	0,038532
9	68	67	1,8325	1,8261	0,0064	3,6586	0,000041
10	52	60	1,7160	1,7782	–0,0621	3,4942	0,003862

Рассчитывают сумму D^2 и делят ее на удвоенное число проб. Это средняя сумма квадратов в рамках колебания выборки, $\overline{S}_w$.

В этом случае, $\overline{S}_w = 0{,}1382/20 = 0{,}00691$.

Рассчитывают дисперсию $\overline{S}_w$ и делят на два. Это равно $\overline{S}_b$.

В этом случае, $\overline{S}_b = 0{,}04224/2 = 0{,}02112$

Тогда $s^2_{an} = \overline{S}_w$ и $s^2_{sam} = \left(\overline{S}_b - \overline{S}_w\right)/2$

В этом случае, $s^2_{an} = 0{,}006\,91$ и $s^2_{sam} = \left(0{,}021\,12 - 0{,}006\,91\right)/2 = 0{,}007\,104$

Значения для F_1 и F_2 зависят от числа проб, проанализированных в испытании. Для 10 проб $F_1 = 1{,}88$ и $F_2 = 1{,}01$ (значения для другого количества проб приведены в [11]).

Если целевое стандартное отклонение, которое будет применяться к результатам проверки квалификации, σ_p, равно 0,25 $\log_{10}$ единиц, тогда

$$F_1\left(0{,}3\sigma_p\right)^2 + F_2 s^2_{an} = 1{,}88 \times \left(0{,}3 \times 0{,}25\right)^2 + 1{,}01 \times 0{,}006\,91 = 0{,}017\,55$$

Это значение больше s^2_{sam} (0,007104). Следовательно, условие (B.5) выполняется, и испытуемый материал является достаточно однородным.

Приложение С
(справочное)

Практический метод оценки долгосрочных показателей участников программы проверки квалификации с использованием методов подсчета

С.1 Подготовка данных для анализа

Для анализа результатов подсчета требуется таблица из четырех столбцов:

a) результат подсчета, сообщенный участником (n_R-счет);

b) результат подсчета, который будет использован для карт и гистограмм и/или для оценки показателей (n_S-счет);

c) результат подсчета для анализа (n_A-счет);

d) столбец с примечаниями (текстовое поле) (n_C-счет) для записи замечаний, касающихся результатов участников.

n_R-счет обычно следует вводить как числовое поле (например, 1 100) или экспоненциальное число (например, 1.1e3). Если результат сообщается как цензурированное значение, тогда должно использоваться текстовое поле и перед числом вводиться значок «меньше» или «больше» (например, < 10, > 1 100, и т. д.).

n_R -счет также можно вводить как другой текст, например, NE (не исследовано), ND (не обнаружено), и UA (невозможно оценить). Во все поля столбца необходимо осуществить запись.

Если n_R -счет невозможно проанализировать (например, он введен как NE), то дальнейшего анализа или назначения (статистического) показателя не будет.

Если n_R -счет невозможно включить в статистический анализ, например, результат был сообщен как цензурированное значение, но показатель можно назначить и/или результат нанести на график, тогда числовое значение должно быть отнесено к n_S -счету.

Такое значение должно обеспечить правильное назначение показателя и правильное нанесение результата на график. Например, показатели не могут назначаться результатам, которые присланы как «не обнаружено», но может оказаться полезным включение этих результатов в контрольную карту. В этом случае n_S -счет можно ввести как –99, а n_A-счет следует оставить пустым.

Если сообщенный результат должен быть локализован, необходимо включить показатель в статистические расчеты; тогда n_A-счет = n_S -счет.

С.2 Обработка цензурированных данных

Все низкие цензурированные результаты анализируют одним из следующих способов.

a) Всем результатам присваивается значение n_S-счета равное 0,2, но они не включаются в анализ (n_A -счет = 0). Это происходит, когда отчеты о низком цензурированном значении или отчеты о нулевых результатах или результатах «не обнаружено» четко зависят от лабораторной погрешности, поскольку уровень содержания целевого микроорганизма или группы микроорганизмов в образце был достаточно высок.

b) Всем низким цензурированным значениям и результатам типа ноль или «не обнаружено» присваивают n_S-счет равный 0,2[1)] и включают их в анализ, поскольку уровень содержания целевого микроорганизма или группы микроорганизмов в образце был относительно низким, и эти результаты могли получиться случайно (n_S -счет = n_A-счет = 0,2). Существуют исключения, например, когда сообщенное низкое цензурированное значение (<*x*) показывает несоответствующий уровень обнаружения и значение *x* фактически выше, чем медиана (в первоначальном расчете). В таких исключительных случаях n_A-счет следует оставить пустым.

c) Показатели не присваиваются низким цензурированным значениям. В общем, показатели следует назначать, если микробиологические причины не делать этого отсутствуют. В этом случае поля n_A-счета и n_S -счета оставляют пустыми.

Высокие цензурированные значения записывают как 1,0 $\log_{10}$ над максимальным сообщенным показателем. Если, по какой-либо причине, результаты нужно исключить из карт и анализа, и не нужно присваивать показатели, тогда поля n_S -счета и n_A -счета следует оставить

[1)] Значение 0,2 используют, поскольку 0 не может быть назначенным значением десятичного логарифма.

пустыми. Если результат сообщают в виде $>x$, где значение x-меньше медианы, тогда поле n_A -счета следует оставить пустым.

С.3 Нанесение результатов на график

Графики основаны на значениях n_S -счета. Существует два основных типа графиков, используемых для результатов программ проверки квалификации: гистограммы (или столбчатые диаграммы) и диаграммы рассеяния (разброса). Пункты, которые необходимо рассмотреть при выборе, какой тип диаграммы использовать, включают тип исследования (НВЧ, подсчет колоний и т.д.) и количество участников, осуществляющих исследования.

Гистограммы получают из значений десятичных логарифмов n_R-счета, сгруппированных следующим образом:

<0, (0 - 0,05), (0,05 - 0,1), (0,1 - 0,15), (макс. $\log_{10} n_R$-счета), (макс. $\log_{10} n_R$ -счета + 0,05).

Любой нечисловой или специальный случаи, которые необходимо включить в диаграмму (например, –99) следует снабдить собственным столбиком.

В другом варианте гистограмму можно получить на основе значений десятичных логарифмов n_R-счета, округленных до 0,05. В этом случае группировки будут следующими.

0, 0,05, 0,1, 0,15 .... макс. ($\log_{10} n_R$-счет).

В этом случае столбик 0,1 включает все результаты от 0,075 до 0,124.

Диаграммы рассеяния можно получить, используя значения n_S-счета непосредственно и затем преобразуя ось y в логарифмическую шкалу. Нечисловые данные из диаграмм рассеяния исключаются.

Бин-размеры (группы) порядка 0,05 $\log_{10}$ обычно используют для гистограмм, так что диапазоны для назначения статистических показателей также округляют до 0,05 $\log_{10}$.

С.4 Назначение статистических показателей

Если результаты программы проверки квалификации оценивают с помощью статистических показателей, то критерии для назначения показателей следует указать в протоколах или отчетах по программе проверки. Статистический показатель для результата подсчета записывают в поле показателя (n_C-счет); и при необходимости его можно изменить вручную.

Необходимо отметить, что окончательный показатель для результата можно получить из n_C-счета, но при этом может потребоваться учет других факторов.

Приложение D
(справочное)

Пример справочного листка по безопасности

Справочный листок по безопасности образцов пищевых продуктов для программы проверки квалификации лабораторий – Образцы после сублимационной сушки

Срок годности:	дд-мм-гг
Дата контроля:	дд-мм-гг
Выдана:	Всем участникам программы

Идентификация продукта и учреждения

Продукт:	Имитированные пищевые продукты для общих микробиологических исследований
Учреждение:	Полный адрес и контакты организатора программы

Состав или информация по ингредиентам

Стеклянные ампулы с сублимированным материалом, содержащим смесь бактерий группы риска 2 в соответствии с национальными и международными нормами. Организм группы риска 2 может вызвать заболевание человека и представляет опасность для работников лаборатории, но вряд ли будет распространяться за стенами лаборатории.

Идентификация опасности

Физико-химическая опасность:	Отсутствует
Опасность для здоровья:	Минимальный риск заражения при условии соблюдения надлежащих правил безопасности в лаборатории
Опасность для окружающей среды:	Отсутствует

Оказание первой помощи

При случайном контакте с материалом персонал лаборатории должен применять меры по оказанию первой помощи, которые обычно применяются в таких случаях. После контакта с зараженным материалом образца необходимо обратиться к врачу.

Меры противопожарной безопасности

Не применяются.

Меры при случайном выпадении материала из емкости

Покрывают участок, на который попал материал, абсорбирующим материалом и заливают подходящим дезинфицирующим средством. Этот участок оставляют на 30 мин а затем убирают остатки большим количеством абсорбирующего материала. При этом необходимо пользоваться средствами индивидуальной защиты.

Обращение и хранение

Хранят в темном месте при комнатной температуре. Образцы подлежат обработке в условиях лаборатории, оборудование которой подходит в соответствии с национальным регламентом или руководством для микробиологических исследований. Персонал, работающий с материалом, должен быть обучен приемам работы с инфекционным биологическим материалом. С материалом следует обращаться так же осторожно как с образцами эквивалентных пищевых продуктов. Следует исключить контакты руки-рот при работе с образцами и соблюдать обычные процедуры мытья рук, применяемые при работе с повседневными образцами, в отношении образцов, применяемых в программе проверки квалификации.

Контроль вредного воздействия и средства индивидуальной защиты

Необходимо использовать методы надлежащей практики и надевать лабораторные халаты, перчатки и очки. Извлечение ампул из упаковки и восстановление следует производить в боксе, защищенном от выбросов.

Физические и химические свойства

Инертный материал без запаха.

Стабильность и реакционная способность

Хранение вряд ли может увеличить или уменьшить риск инфицирования, связанный с работой с материалом.

Токсикологическая информация

Не имеется.

Экологическая информация

Не имеется.

Проблемы утилизации

Использованный материал необходимо утилизировать, используя автоклав как для пищевых продуктов, содержащих инфекционные микроорганизмы, и в соответствии с местными и национальными регламентами.

Информация по транспортированию

См. национальные и международные регламенты по транспортированию бактерий группы риска 2 (биологическое вещество, категория B; UN3373).

Нормативная информация

ЕС Биологическое вещество, категория опасности/группа риска 2.

ВНИМАНИЕ! — Настоящий листок по безопасности не представляет собственные оценки пользователем рисков на рабочем месте, требуемых нормами охраны здоровья и безопасности.

Прочие сведения

В случае возникновения ситуации, когда персонал лаборатории подвергается воздействию материала, содержащегося в образцах, необходимо связаться с организаторами программы проверки квалификации лабораторий.

Дополнительную информацию по безопасности в отношении данной продукции участники программы могут прочитать в инструкциях, прилагаемых к образцам.

Библиография

[1] ISO 5725-2, *Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения*

[2] ISO 5725-4, *Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода измерения*

[3] ISO/TS 11133-1:2009, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству питательных сред. Часть 1. Общие руководящие указания по обеспечению качества приготовления питательных сред в лаборатории*

[4] ISO 16140, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Протокол проверки достоверности альтернативных методов*

[5] ISO/IEC 17025, *Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий*

[6] ISO/TS 19036, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по оценке неопределенности измерений для количественных определений*

[7] ISO/IEC Guide 99, *Международный словарь по метрологии. Основные и общие понятия и соответствующие термины (VIM)*

[8] ILAC-G13, *ILAC Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency schemes*. Available (2010-02-10) at: gost.e-ecolog.ru

[9] THOMPSON, M., ELLISON, L.R., WOOD, R. for IUPAC. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories. *Pure Appl. Chem*. 2006, **78**, pp. 145-196. Available (2010-10-08) at: gost.e-ecolog.ru

[10] AUGUSTIN, J.C., CARLIER, V. Lessons from the organization of a proficiency testing program in food microbiology by interlaboratory comparison: Analytical methods in use, impact of methods on bacterial counts and measurement uncertainty of bacterial counts. *Food Microbiol.* 2006, **23**, pp. 1-38

[11] FEARN, T., THOMPSON, M. A new test for "sufficient homogeneity". *Analyst* 2001, **126**, pp. 1414-1417

[12] HEISTERKAMP, S.H., HOEKSTRA, J.A., VAN STRIJP-LOCKEFEER, N.G.W.M., HAVELAAR, A.H., MOOIJMAN, K.A., IN 'T VELD, P.H., ПРИМЕЧАНИЕRMANS, S.H.W., MAIER, E. A. ; GRIEPINK, B. *Statistical analysis of certification trials for microbiological reference materials*. Luxembourg: Commission of the European Communities, 1993. 41 p. (Report EUR 15008 EN.)

[13] JARVIS, B. Sampling for microbiological analysis. In: LUND, B.M., BAIRD-PARKER, A.C., GOULD, G.W., editors. *The microbiological safety and quality of food*, Vol. 2, pp. 1691-1734. Gaithersburg, MD: Aspen, 2000

[14] JARVIS, B. *Statistical aspects of the microbiological examination of foods,* 2nd edition. Amsterdam: Academic Press, 2008. 306 p.

[15] JARVIS, B., HEDGES, A.J., CORRY, J.E.L. Assessment of measurement uncertainty for quantitative methods of analysis: Comparative assessment of the precision (uncertainty) of bacterial colony counts. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, **116**, pp. 44-51

[16] JARVIS, B., CORRY, J.E.L., HEDGES, A.J. Estimates of measurement uncertainty from proficiency testing schemes, internal laboratory quality monitoring and during routine enforcement examination of foods. *J. Appl. Microbiol*. 2007, **103**, pp. 462-467

[17] TILLETT, H.E., LIGHTFOOT, N.F. EATON, S., PLACE, B.M. External quality assessment of microbial counts from water: To score or not to score for proficiency. *J. Chart. Inst. Water Environ. Manage*. 2000, **14**, pp. 304-308

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным международным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
ISO 3534-1:2006 Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 1. Общие статистические термины и термины, используемые в теории вероятности	–	*
ISO 3534-2:2006 Статистика. Словарь и условные обозначения. Часть 2. Прикладная статистика	–	*
ISO 5725-1:1994 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения	IDT	ГОСТ ИСО 5725-1-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения
ISO 5725-5:1998 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений	IDT	ГОСТ ИСО 5725-5-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 5. Альтернативные методы определения прецизионности стандартного метода измерений
ISO 7218:2007 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям	IDT	ГОСТ ISO 7218-2011 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям
ISO 13528:2005 Статистические методы для проверки квалификации методом межлабораторных сличений	–	*
ISO/IEC 17043:2010 Оценка соответствия. Общие требования к проверке квалификации лабораторий	–	*

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта или гармонизированный с ним национальный (государственный) стандарт страны, на территории которой применяется настоящий стандарт. Информация о наличии перевода данного международного стандарта в национальном фонде стандартов или в ином месте, а также информация о действии на территории страны соответствующего национального (государственного) стандарта может быть приведена в национальных информационных данных, дополняющих настоящий стандарт.

В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

IDT – идентичные стандарты.

УДК 631:636.085:006.354 МКС 07.100.30 IDT

Ключевые слова: специальные требования, руководство, проверка квалификации, сравнительные испытания, целевой микроорганизм, фоновая флора, контрольный штамм

Подписано в печать 18.04.2016. Формат 60x84 1/8.

Усл. печ. л. 4,19. Тираж 24 экз. 1105.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru