



D3.2 SOPs (standard operation procedures) for samples and data flow among surveillance sites and national PH labs

Work Package 3: Enhancement & Consolidation of WGS- & PCR-based Methods for Public Health Action

Author(s): Grigorios Spanakos, Ioanna Spiliopoulou, Anastasia Flountzi



This project has received funding from the European Union's Health and Digital Executive Agency (HaDEA) under Grant Agreement No 101102440.

Disclaimer

Funded by the European Union. Views and opinions expressed are however those of the author(s) only and do not necessarily reflect those of the European Union or HaDEA. Neither the European Union nor the granting authority can be held responsible for them.

Copyright message

© HERA 2 Consortium, 2024

This deliverable contains original unpublished work except where clearly indicated otherwise. Acknowledgement of previously published material and of the work of others has been made through appropriate citation, quotation or both. Reproduction is authorized provided the source is acknowledged.

Document Information

Grant Agreement Number	101102440	Acronym	HERA 2	
Full Title	Consolidation of WGS/RT-PCR and infrastructure processes in surveillance and outbreak investigation activities			
Call	EU4H-2022-DGA-MS-IBA-1			
Topic	EU4H-2022-DGA-MS-IBA-01-02			
Type of Action	EU4H-PJG			
Start Date	01.10.2022	Duration (in months)	42	
HaDEA Project Officer	Marie de Looz-Corswarem			
Task	T3.1			
Work Package	3			
Date of Delivery	Contractual	M15/Dec 2023	Actual	M16/Jan 2024
Nature	R – document, report	Dissemination Level	PU - Public	
Lead Beneficiary	EODY			
Lead Author	Grigorios Spanakos	Organization	EODY	
Other authors	Ioanna Spiliopoulou, Anastasia Flountzi			
Reviewer(s)	Daniel Polzer, Julia Steger			

Document History

Version	Issue Date	Stage	Changes	Contributor
0.1	02.10.2023	First draft generated in Zadar steering meeting		Whole consortium
0.2	19.12.2023	Draft shared with consortium		GS, IS, AF
0.3	16.01.2024	Updated draft with translations into all national languages for proofreading by		GS
1.0	31.01.2024	Revised and quality-checked draft		DP, JS

1. EXECUTIVE SUMMARY	5
2. ABBREVIATIONS AND ACRONYMS	5
3. BACKGROUND INFORMATION	6
4. ENVIRONMENTAL SAMPLES	7
5. HUMAN AND ANIMAL SAMPLES	7
6. METADATA.....	7
7. STATUS OF CONSORTIUM PARTNERS	9
8. DISCUSSION	10
9. SOP – Clinical (and veterinary) samples	11
10. SOP - Water samples.....	15
11. SOP - Food Samples	18
12. German Translation	22
12.1 SOP - Klinische (und tierärztliche) Proben.....	22
12.2 SOP - Wasserproben	26
12.3 SOP - Lebensmittelproben	29
13. Croatian translation	33
13.1 SOP – humani i veterinarski (životinjski) uzorci	33
13.2 SOP – uzorci vode.....	37
13.3 SOP – Uzorci hrane	40
14. Hungarian translation	44
14.1 SOP - Klinikai (és állatgyógyászati) minták.....	44
14.2 SOP - Vízminták.....	48
14.3 SOP - Élelmiszerminták	51
15. Greek translation.....	56
15.1 SOP – Κλινικά (και κτηνιατρικά) δείγματα	56
15.2 SOP – Δείγματα ύδατος.....	60
15.3 SOP – Δείγματα τροφής	63

1. EXECUTIVE SUMMARY

Sample analysis may be divided to preanalytical, analytical and post analytical stages. The preanalytical stage is of major importance as errors during this stage affect the validity of the results, even if subsequent stages were performed correctly. The preanalytical stage includes sampling and transport of the sample and metadata to the laboratory. Sampling and transport are described in detail in various documents published by the ISO, or National and International Health agencies, like World Health Organization (WHO).

Molecular Laboratories of Public Health Institutions in the context of the One Health approach, have to cope with a variety of sample types and aims. Samples may be of environmental, food, animal, and human origin, while the aim could be epidemiologic surveillance, outbreak investigation or diagnosis.

Environmental samples such as water, wastewater, and food, usually require the application of methods that increase the pathogen's concentration, and this fact defines transport conditions. Official procedures are described in International Organization for Standardization (ISO) documents. Clinical and veterinary samples are usually used directly for nucleic acid extraction, and freezing is considered the best method of preservation during transport to the laboratory. In practice however less demanding alternative methods are usually used.

Metadata are information associated with characteristics of the sample. Metadata make the sample and the data derived from the sample useful. In the context of Public Health, metadata may be useful to the laboratory or to the epidemiology department. Clinical specimens' metadata may include personal data, and in certain cases this is also true for veterinary specimens. The existence of personal data poses a problem regarding the transfer of the information from the person collecting the specimen to the laboratory and finally to the epidemiology department, as personal data should not become publicly available.

To fulfil the requirements for General Data Protection Regulation (GDPR) compliance only trained and authorised personnel should have access to personal data. This can be attained using database linked to a web platform for data entry, and data will be accessible only to predefined competent personnel. As all consortium partners do not currently have such a suitable infrastructure, GDPR compliance can be achieved with trained authorized personnel and encryption for data transfer.

2. ABBREVIATIONS AND ACRONYMS

CDC	Centers for Disease Control and Prevention
GDPR	General Data Protection Regulation
ISO	International Organization for Standardization
LIMS	Laboratory Information Management Systems
SOPs	Standard Operating Procedures
WHO	World Health Organization

3. BACKGROUND INFORMATION

Standard Operating Procedures (SOPs) are written step-by-step instructions to perform a task. SOPs aim to avoid ununiform performance and errors during the task execution. SOPs should be clear, comprehensive, and well written, easy to understand and follow and finally applicable and up to date.

Public Health Laboratories, among other tasks, detect, analyse, and characterize pathogenic microorganisms in various types of samples, originating from patients, animals, or the environment, aiming to public health protection from infectious agents that may pose threat to people's health. Microbiological results are important for diagnosis and treatment of patients, surveillance, and intervention. Nowadays, pathogenic microorganisms "travel" across large distances, with the most recent example being the SARS-CoV-2 coronavirus that originated from China and spread all over the world causing, in a short time, the COVID-19 pandemic. It is therefore necessary to ensure that Public Health laboratory results are reliable, accurate, consistent, and reproducible across laboratories.

The activities of a Microbiological laboratory can be divided in three stages:

- the preanalytical step comprising sampling, transportation, and storage until analysis
- the analytical stage that includes the analytical process
- the postanalytical stage that deals with reporting and interpretation

While every stage is important for results accuracy, the preanalytical stage directly affects all subsequent procedures. The preanalytical stage includes two parts; one is the sample collection and handling up to introduction to the analytical stage; the other is the collection, storage, and transfer to the competent authority, of the information that is related to the characteristics of the sample (metadata) which are necessary for the interpretation and evaluation of the results produced during the analytical stage. Wrong metadata or wrong sampling or even wrong type of sample lowers the validity and usefulness of the results produced during the subsequent stages.

Public Health Laboratories performing molecular detection and NGS under the One Health approach have to deal with several different types of samples. One crucial factor for differentiation of the sample types is the sample's origin, that affects the sampling procedure, transport conditions, and required metadata. Depending on the origin, samples may be environmental (water, wastewater, food, feed), animal or human. Additionally, for all types of samples, nucleic acid isolation for NGS applications may be performed directly on the sample or on bacterial colonies derived from culture of the sample and this is affecting the transport and storage conditions required.

An important aspect of the preanalytical stage is the preservation of the sample. All samples are biologically active and removal of the sample from the natural environment results in changes in the microbial composition, as microorganisms could die or grow depending on the conditions. To avoid such changes, the sample should ideally be processed immediately after collection, but this is seldom the case for Public Health laboratories. To maintain the original composition of the sample, specific measures should be taken depending on the pathogen(s) of interest. Chemical preservation, which is common in classical clinical microbiology practices, is not usable for molecular analysis as chemicals render nucleic acids useless.

Besides the type of samples, the analysis's purpose also adds another degree of complexity to the information (metadata) provided with the sample. Simple surveillance population studies do not always require personal information of the participants, while the opposite is true for outbreak investigation, that may require detailed health status reports and communication details. Also, depending on the pathogen, different information is necessary. For example, for STDs information on sexual behaviour is needed, while for COVID-19 it is not.

4. ENVIRONMENTAL SAMPLES

Environmental samples usually are complex and have low numbers of pathogens per unit of mass or volume. To facilitate detection, samples are subjected to various procedures to increase the concentration and/or remove unwanted materials (e.g., centrifugation, filtration, pre-enrichment, etc). The efficiency of these procedures depends on the integrity of the pathogens' structure, consequently such samples should be maintained until analysis in a way that preserves the structure of the microbes. The usual way is to refrigerate the sample and keep it at a low temperature. Such samples should not be frozen, unless they already are e.g., frozen food.

Procedures of environmental sampling are included in various ISO methods, which are official guidelines therefore they should be considered as the best approach for sampling, transfer, storing and processing of these types of samples. ISO 19458:2006 describes sampling of water for microbiological analysis, while ISO/TS 17728:2015 describes sampling of food or feed for microbiological analysis. Furthermore, ISO 18593:2018 specifies horizontal methods for surface sampling.

5. HUMAN AND ANIMAL SAMPLES

Samples such as blood, urine, stool, or tissue, are usually subjected directly to nucleic acid isolation for application of molecular methods, therefore it is recommended to be transported frozen (-20 °C or lower) to the laboratory. Frozen samples should not melt until the extraction of DNA and/or RNA, as repeated cycles of freezing and melting result in breaking of nucleic acid molecules.

Frozen samples, however, require dry ice and special packaging, which are not always available. Alternative specific transport mediums may be used, and refrigeration to inhibit growth, until arrival to the laboratory. Transport media are buffered solutions containing minimum nutrients that support viability of the microbe of interest and does not favour growth of others. If bacterial culture before molecular analysis is needed, samples should not be frozen. They should be refrigerated and maintained at a low temperature.

WHO (WHO. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance 19 March 2020), CDC and other Health Agencies have published guidelines for collection, transport, and storage of human specimens, such as blood, stool, nasopharyngeal swabs etc.

6. METADATA

Metadata are information relevant to the sample that answer basic questions about the sample, like "when, who, why," and more, that are registered during the whole analysis procedure by all persons dealing with the sample, such as the person who collected the sample, the person that received the sample, the analysts, and the laboratory supervisor. Metadata in the context of Public Health authorities can be divided into those necessary for the laboratory and those necessary for epidemiology. Table 1 presents laboratory useful metadata for different sample types.

Environmental sample's metadata do not include information that could reveal personal data. On the contrary, clinical sample's metadata usually include personal information, while veterinary sample's metadata may include personal data such as the animal owner's name. The inclusion of personal data could pose a problem when communicating the information to all involved stakeholders of the Institution, as this information should not be publicly available due to restrictions imposed by the GDPR. Consequently, specific measures should be applied. Indicative metadata for animal and human samples are presented in Table 2.

As already mentioned, the list of metadata varies depending on the purpose of the analysis and the pathogen.

Table 1. Necessary laboratory metadata until analysis for environmental, animal, and clinical samples.

	Environmental samples	Animal samples	Clinical samples
1	Sample ID or Barcode	Sample ID or Barcode	Sample ID or Barcode
2	Date and time of sampling	Date and time of sampling	Date and time of sampling
3	Type of sample (e.g. wastewater, milk, lake water, meat etc)	Type of sample (e.g. urine, stool, biopsy etc)	Type of sample (e.g. blood, nasopharyngeal swab, etc)
4	Additional sample information	Additional sample information	Additional sample information
5	List of parameters to analyze	List of parameters to analyze	List of parameters to analyze
6	Location of sample collection	Location of sampling or owner or farm address	Patient name and address
7	Date and time of arrival at the laboratory	Date and time of arrival at the laboratory	Date and time of arrival at the laboratory
8	Sample Temperature	Sample Temperature	Sample Temperature
9	Reasons to reject the sample	Reasons to reject the sample	Reasons to reject the sample
10	Laboratory ID	Laboratory ID	Laboratory ID
11	Person that received the sample	Person that received the sample	Person that received the sample
12	Date and time that laboratory analysis started	Date and time that laboratory analysis started	Date and time that laboratory analysis started

Table 2. Animal and human samples' indicative metadata.

Veterinarian sample	Human sample
Animal species	Patient name
Animal age or sex	Patient age and sex
Animal symptoms (if any)	Patient symptoms (if any)
Onset of symptoms (if applicable)	Onset of symptoms (if applicable)
Travel history	Travel history
Vaccination status (if applicable) (for serological tests)	Vaccination status (if applicable)
	Co-morbidities
Medication (if applicable)	Medication (if applicable)
Additional information on the animal	Additional information on the patient

7. STATUS OF CONSORTIUM PARTNERS

Partner's laboratories responses regarding SOPs and accreditations were as follows:

The department of molecular biology of the veterinary department in AGES Austria is accredited according to ISO 17025 for PCR. There is a SOP regarding sample logistics within the institute in the veterinary department.

The National Public Health Center (NCPHP) of Hungary is accredited by the National Accreditation Authority according to the current ISO 15189 and ISO 17025 standards, regarding NGS, and only *Listeria* WGS is involved in this accreditation period. There is a limited number of SOPs.

The Genotyping Department (Division for Microbiology) of Croatian Institute of Public Health is not accredited and is currently in the process of writing SOPs.

In Greece none of the Public Health laboratories are accredited for WGS. Only the Regional Public Health Laboratory of Thessaly is accredited according to ISO 17025 for detection of SARS-CoV-2 using real time PCR.

Table 3. Metadata used by the consortium partners.

Austria	Hungary	Croatia	Greece
Sample provider (name, address)	Patient name		Patient name
Laboratory ID	Laboratory ID	Laboratory number	Laboratory ID
Type of sample (tissue, blood, swab, semen)	Type of sample	Type of sample (clinical sample/bacterial isolate/DNA or RNA extract)	Type of sample
about the sample species (pig, chicken....) Host	Host	Host	
Collection date	Collection date	Sampling date	Sampling date
Sampling location (in case of wild animals gps coordinates, in case of domestic animals the farm ID)	Location (just country)	Location (county)	Location
	Gender		Gender
	Patient status if possible, travel history, animal contact, symptoms, vaccination status (if applicable)		
Requested analysis			Requested analysis

All consortium partners reported that they use excel files for data storage, while Austria uses LIMS for data storage. Samples are accompanied by a form filled with sample ID and metadata. Laboratory personnel fill in spreadsheet files with samples' metadata along with the laboratory results and send them by mail to the epidemiology department, or through LIMS.

In Greece, for COVID-19 samples' entry, a web platform is used, and sample barcode and metadata are recorded on site, stored in a database and are immediately available to the Directorate of Epidemiology. Laboratory submits the results through the same web platform, using only the barcode of the sample. In that way the laboratory does not have any information that could infringe the GDPR. This approach resulted in lower turnaround times from sample entry at the laboratory to results and lower laboratory workload.

8. DISCUSSION

Ideally the laboratory should only receive metadata required for the analysis, so that analysis is objective and GDPR is not violated. This would be possible using a database linked to a web platform accessible for data entry to all parties involved, i.e. physicians, veterinarians, samplers, epidemiologists, and laboratory personnel. The person collecting the sample enters all required data (including personal data), but all other parties may access only a restricted set of data relevant to their role in the procedure. Any data that could infringe the GDPR should be accessible only to trained and authorized personnel. The laboratory supervisor, for example, who is responsible for the final approval for results release should have access to the clinical condition of the patient, for evaluation of the results, as in certain cases additional analysis or repetition of the test may be necessary. As mentioned above a similar approach was applied successfully in Greece.

Currently all consortium partners do not have suitable databases for remote data entry but use spreadsheets, while Austria uses additionally the Ridom SeqSphere+ Software and LIMS software for local data management. A possible scenario for data communication among involved parties, i.e. person performing sampling, laboratory, and department of epidemiology, with respect to GDPR would be:

The person who collects the sample, fills in the form with the necessary data (either paper or spreadsheet).

Depending on the form, transport along with the sample, or send (encrypted and secured with a strong password) by email to the laboratory. At the laboratory, authorised personnel, may also import the data into LIMS software if available.

Only authorized laboratory personnel process the data, adds the results, and sends the file to the department of epidemiology encrypted and secured as above, or data are disseminated through LIMS software.

9. SOP – Clinical (and veterinary) samples

Clinical and veterinary samples' testing is performed at Public Health Laboratories for surveillance, outbreak investigation, and diagnosis.

Collection of clinical samples is described in various documents such as “J. Michael Miller, Ph.D. Handbook of Specimen Collection and Handling in Microbiology. Second Edition. 1985”, “WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks (available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66348/WHO_CDS_CSR_EDC_2000.4.pdf), “Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-IHM-GIP-2018.2>)” and “Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition”.

Veterinary sample collection is described in “Bildfell R. Collection and submission of laboratory samples from animals. Merck Veterinary Manual” (available at: merckvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/collection-and-submission-of-laboratory-samples/collection-and-submission-of-laboratory-samples-from-animals), accessed November 2023.

Clinical samples should be collected by a physician (or a veterinarian in case of animals), or other competent and authorized personnel. Samples should be placed in suitable containers with size proportional to the sample size. They should be identified with a properly marked strip of masking tape, or a barcode strip.

The person responsible for sampling, should fill in the relevant data fields of the sample form (Annexes I and II for clinical (human) and veterinary samples respectively).

If the sample form is in a paper form, it is sealed in a plastic bag and inserted in the sample packaging. If it is a spreadsheet it is sent, encrypted, and secured by a strong password, by email to the receiving laboratory.

In general, specimens for virus detection should reach the laboratory as soon as possible after collection. For most clinical samples, the recommended shipment time is maximum 2 days at 2-8 °C. If delivery will be delayed for more than the recommended shipment time of the specific specimen type, specimen should be frozen at -70 °C. In case the samples will be directly subjected to DNA and/or RNA extraction without prior processing e.g., centrifugation, they should be sent to the laboratory frozen at -70 °C (dry ice), when possible. In case bacteriological analysis (culture) is required before the application of molecular methods, the sample must be delivered at the laboratory within 24 hours at 4 °C for stool or lower respiratory specimens, or at room temperature for rectal swabs and upper respiratory specimens.

(WHO Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance (<https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>).

If delivery time is expected to be less than the maximum acceptable, the sample is placed on refrigerant gel packs, or at 2-8 °C until shipment, unless it is otherwise indicated.

The sample is packed in suitable container that maintains the recommended temperature (2-8 °C or -70 °C) and is in accordance with the local/international regulations about transportation of hazardous material class B.

Upon arrival at the laboratory, an analyst who is authorized to access personal data, records the temperature, and notes its physical condition. Accordingly fills in the relevant fields in the sample form.

Samples are stored at appropriate conditions, as indicated, until analysis.

The sample is rejected if:

Samples are unlabelled or mislabelled.

Sample temperature is not the indicated with respect to the sample type and requested test.

Length of time between sample collection and receipt is longer than the recommended

Sample container leaks

There are visible cracks or any form of damage to the container

Sample volume is less than the recommended

Mandatory fields in the data form are not filled in

If rejected, in the "Reasons to reject the sample" field of the form the exact reason for rejection should be mentioned.

The laboratory analyst (authorized to access personal data) completes the "Date and time that laboratory analysis started" field when starting the analysis procedure. If LIMS software is available all metadata are imported.

When results are ready, the form and the results report are sent by email, encrypted, and secured by a strong password, to the epidemiology department, or data may be accessible through LIMS software.

ANNEX I

Metadata for clinical (human) samples

	Clinical sample
1	Sample ID or Barcode*
2	Date and time of sampling*
3	Type of sample (e.g. blood, nasopharyngeal swab, etc)*
4	Sample shipment condition (frozen, refrigerated, room temperature)*
5	Location of sample collection (country only)*
6	List of parameters to analyze*
7	Patient name and address
8	Date and time of arrival at the laboratory*
9	Sample temperature*
10	Reasons to reject the sample (Yes/No, description)*
11	Laboratory ID*
12	Name of the person that received the sample*
13	Date and time that laboratory analysis started*
14	Location of sample collection (exact)
15	Patient name
16	Patient age
17	Patient sex
18	Patient symptoms (if any)
19	Onset of symptoms (if applicable)
20	Travel history
21	Vaccination status (if applicable)
22	Co-morbidities
23	Medication (if applicable)
24	Additional information on the patient

Data fields 1-7 and 14-24 are completed by the person performing the sampling, while 8-14 are completed by the laboratory personnel (fields marked with asterisk are mandatory).

Note that patient data fields (14-24) are subjected to changes depending on the pathogen and the purpose of the analysis. Also, fields that are not indicated as mandatory, may become mandatory if for example “contact tracing” of the patient is required.

ANNEX II

Metadata for veterinary samples

	Veterinary sample
1	Sample ID or Barcode*
2	Date and time of sampling*
3	Animal species*
4	Type of sample (e.g. urine, stool, biopsy etc)*
5	Additional sample information
6	List of parameters to analyze*
7	Location of sampling or farm address*
8	Date and time of arrival at the laboratory*
9	Sample temperature*
10	Reasons to reject the sample*
11	Laboratory ID*
12	Name of the person that received the sample*
13	Date and time that laboratory analysis started*
14	Animal age or sex
15	Animal symptoms (if any)
16	Onset of symptoms (if applicable)
17	Medication (if applicable)
18	Additional information on the animal

Data fields 1-8 and 14-18 are completed by the person performing the sampling, while 8-13 are completed by the laboratory personnel (fields marked with asterisk are mandatory).

Note that fields (14-24) are subjected to changes depending on the pathogen and the purpose of the analysis.

10. SOP - Water samples

Water from various sources and wastewater samples are subjected to regular testing to assess quality parameters and presence of pathogens for Public Health surveillance. They are also useful for detecting the source of a waterborne outbreak, measuring the pathogens' load in a community for epidemiological reasons, or detecting antibiotic resistance markers in animal husbandry farms, etc.

Sampling should be performed according to ISO 19458:2006 and/or ISO methods corresponding to specific pathogens listed below (Annex I). Wastewater based SARS-CoV-2 surveillance should be performed according to the WHO guidelines available in <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1> (accessed 2023-12-10)

Water samples should be collected in clean sterile bottles, that may be made either from glass, being reusable after sterilization, or from plastic material. Whatever the material, bottles intended for sampling water for human consumption should contain sodium thiosulfate (20mg/L) to neutralize residual chlorine.

If a large volume of water is required (e.g. for *Cryptosporidium*, Norovirus), larger containers may be used, but they should always be clean and sterile. Alternatively, filtration or sedimentation may be performed in situ, to avoid complexities related with the transport and refrigeration of large volumes of liquids.

If sampling should be performed by submerging the bottle, it should be sterile both inside and outside, and kept in a suitable containment, e.g. in a plastic bag or in aluminum foil until used for sampling. For submergence, the bottle should be held with a sterile glove, or a sterile tool (e.g. sterilizable poles or forceps).

Finally, sampling can be performed using water pumps or special samplers suitable for the sampling purpose. Regardless of the sampling method applied, contamination of the sample from the sampling equipment or the environment must be avoided.

After sampling the bottle is sealed and the cap is wrapped with aluminum foil or parafilm to prevent contamination.

The sample should be identified with a properly marked strip of masking tape, or a barcode strip.

The person that performed the sampling fills in the sample form in the relevant data fields (Annex II).

If it is in a paper form, it is sealed in a plastic bag and inserted in the sample packaging. If the form is a spreadsheet it is sent by email to the receiving laboratory.

Samples should be sent to the laboratory refrigerated, and sample temperature ideally should be maintained at 5 ± 3 °C until analysis, unless other conditions are indicated for the specific pathogen.

Upon arrival at the lab, the person who receives the sample records the temperature and notes its physical condition. Accordingly fills in the relevant fields in the sample form. Samples are stored at appropriate conditions, as indicated.

The sample is rejected if:

Samples are unlabelled or mislabelled.

Sample temperature is over 10 °C (unless it is differently specified in the corresponding ISO method)

Time from sampling is longer than the recommended

Sample container leaks

There are visible cracks or any form of damage to the containers

Sample volume is less than the recommended

Mandatory fields in the data form are not filled in

If rejected, in the “Reasons to reject the sample” field of the form the exact reason for rejection should be mentioned.

The laboratory analyst completes the "Date and time that laboratory analysis started" field when starting the analysis procedure. If LIMS software is available all metadata are imported.

When results are ready, the form is sent by email to the epidemiology department along with the results report, or data may be accessible through LIMS software.

ANNEX I

Official guidelines for pathogen detection and/or enumeration.

For bacterial colony isolation to perform WGS:

ISO 11731:2017. Water quality. Enumeration of *Legionella*

ISO 7899-2:2000 Water quality — Detection and enumeration of intestinal enterococci — Part 2: Membrane filtration method

ISO 19250:2010 Water quality — Detection of *Salmonella* spp.

ISO 14189:2013 Water quality — Enumeration of *Clostridium perfringens* — Method using membrane filtration

ISO 9308-3:1998/Cor 1:2000 Water quality — Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and wastewater — Technical Corrigendum 1

ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016 Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora — Amendment 1

ISO 6461-2:1986 Water quality — Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia) — Part 2: Method by membrane filtration

For molecular detection of pathogens by qPCR:

ISO/TS 12869:2019 Water quality. Detection and quantification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR).

“Environmental surveillance for SARS-CoV-2 to complement other public health surveillance” The most recent guidelines for SARS-CoV-2 detection and enumeration in Wastewater samples (<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1>). The procedure may be used for surveillance of other viruses shed in feces, such as influenza viruses, RSV.

As official molecular detection methods are limited, concentration methods described in ISO documents may be used such as ISO 15553:2006 (Water quality — Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water) and nucleic acids are isolated from the concentrate for molecular detection.

For metagenomic analysis, and/or WGS by selective whole genome amplification, DNA and/or RNA may be isolated from sample concentrates, or directly from the sample.

ANNEX II

Metadata for water samples

	Water or wastewater sample
1	Sample ID or Barcode*
2	Date and time of sampling*
3	Type of sample (e.g. wastewater, lake water, tap water, etc)*
4	Additional sample information (surface sampling, sampling depth, etc)
5	List of parameters to analyze*
6	Location of sample collection*
7	Link to outbreak (if it is applicable)
8	Date and time of arrival at the laboratory*
9	Sample temperature*
10	Reasons to reject the sample (Yes/No, description)*
11	Other remarks (if any)
12	Laboratory ID*
13	Name of the person that received the sample*
14	Date and time that laboratory analysis started*

Data fields 1-7 are completed by the person performing the sampling, while 8-14 are completed by the laboratory personnel (fields marked with asterisk are mandatory).

11. SOP - Food Samples

Food samples are tested regularly for Public Health surveillance and/or during foodborne outbreak investigations. Sampling must be performed according to ISO/TS 17728:2015 and/or ISO methods corresponding to specific pathogens listed below (Annex I).

Samples should be properly collected and handled and be representative of the sampled lot. Sampling procedures must be applied uniformly. A representative sample is essential when pathogens or toxins are sporadically distributed within the food. The number of units that comprise a representative sample from a designated lot of a food product must be statistically significant.

Sample units should consist of at least 100gr of the sample whether alone or split in parts, e.g., four 25 g containers could constitute a sample unit.

Sample units should be collected randomly to ensure that a sample is representative of the lot. Empty sample containers should be used as controls when containers are used to collect samples.

Samples should be sent to the laboratory in the original unopened containers, whenever this is possible. If not possible, representative portions should be transferred to sterile containers under aseptic conditions with the use of sterilized stainless-steel spoons, forceps, spatulas, and scissors.

Containers should be clean, dry, leak-proof, wide-mouthed, sterile, and of a size suitable for samples of the product. Where necessary, containers (metal boxes, cans, bags, packets, etc) should be hermetically sealed. Glass containers should be avoided to minimize the danger of breaking and contaminating the food product. Bags should not be overfilled to avoid puncture by wire closure.

Dry or canned foods that are not perishable and are collected at ambient temperatures need not be refrigerated. Frozen or refrigerated products should be transferred in approved insulated containers to maintain temperatures unchanged. Frozen samples should be collected in pre-chilled containers.

Each sample unit should be identified with a properly marked strip of masking tape or barcode strip. Be aware that the ink of felt pen may penetrate the plastic container.

The person that performed the sampling fills in the sample form in the relevant data fields.

If it is in a paper form, it is sealed in a plastic bag and inserted in the sample packaging. If the form is a spreadsheet it is sent by email to the receiving laboratory.

The time and date of arrival of each sample should be recorded at the laboratory. Frozen samples should be always kept frozen. The containers should be capable of maintaining temperatures of 0-4 °C from collection to arrival at the laboratory for all refrigerated samples, except shellfish and shell stock. Refrigerated products should not be frozen and should be analysed within 36 hours from collection, unless otherwise specified. Shucked shellfish should be kept above freezing but below 10 °C and examined within 6 h of collection but in no case more than 24 h after collection.

As soon as the sample arrives at the laboratory, the analyst should note its general physical condition and record the temperature. Sampling containers should be checked for gross physical defects. Plastic bags and bottles should be inspected for tears, pinholes, and puncture marks. If sample units were collected in plastic bottles, bottles should be checked for fractures and loose lids. If plastic bags were used for sampling, twist wires should not have punctured surrounding bags.

The sample is rejected if:

Sample temperature is not as specified above

Time from sampling is longer than the recommended

Sample container leaks

There are visible cracks or any form of damage to the containers

Sample quantity is less than the recommended

Mandatory fields in the data form are not filled in

If rejected, in the “Reasons to reject the sample” field of the form the exact reason for rejection should be mentioned.

If the sample cannot be analyzed immediately, it should be stored at -20 °C (already frozen samples) or at 0-4 °C (refrigerated unfrozen perishable samples) until examination and for no longer than 36h. Nonperishable, canned, or low-moisture foods should be stored at room temperature until analysis.

Depending on the requested tests, samples are processed according to various ISO methods, or according to recommendations of international or national authorities describing the processing of the sample.

The laboratory analyst completes the "Date and time that laboratory analysis started" field when starting the analysis procedure. If LIMS software is available all metadata are imported.

When results are ready the form is sent by email to the epidemiology department along with the results report, or data may be accessible through LIMS software.

ANNEX I

Official guidelines for pathogen detection and/or enumeration.

For bacterial colony isolation to perform WGS:

ISO 23418:2022 Microbiology of the food chain — Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of bacteria — General requirements and guidance

ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. — Amendment 1: Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSR/V and SC

ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium — Amendment 1

ISO 6888-2:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium — Amendment 1

ISO 7251:2005/Amd 1:2023. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique — Amendment 1: Inclusion of performance testing of culture media and reagents

ISO 7932:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* — Colony-count technique at 30 °C

ISO 10272-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 2: Colony-count technique

ISO 10273:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*

ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method

ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 2: Enumeration method

ISO 21528-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 1: Detection of Enterobacteriaceae

ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

ISO 15213-2:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. — Part 2: Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique

ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method — Amendment 1: Inclusion of methods for molecular confirmation and identification of thermotolerant *Campylobacter* spp., the use of growth supplement in Preston broth and changes in the performance testing of culture media

ISO 11866-2:2005. Milk and milk products — Enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Part 2: Colony-count technique at 44 °C using membranes

For molecular detection of pathogens by qPCR:

ISO 22174:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions

ISO/TS 13136:2012. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups

ISO/TS 18867:2015. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*

ISO 15216-2:2019. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 2: Method for detection

ISO/TS 17919:2013. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of botulinum type A, B, E and F neurotoxin-producing clostridia

ISO 15216-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 1: Method for quantification

As official molecular detection methods are limited, methods described in ISO documents may be used such as ISO 18744:2016 (Microbiology of the food chain — Detection and enumeration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in fresh leafy green vegetables and berry fruits) and instead of microscopy, nucleic acids are isolated from the eluate for molecular detection.

For metagenomic analysis, and/or WGS by selective whole genome amplification, DNA and/or RNA may be isolated directly from the sample.

ANNEX II

Metadata for food samples

	Food sample
1	Sample ID or Barcode*
2	Date and time of sampling*
3	Type of sample/species (e.g. bovine meat, chicken, shells, etc)*
4	Sample condition (frozen, refrigerated, etc)*
5	Additional sample information (e.g., brand name)
6	List of parameters to analyze*
7	Location of sample collection*
8	Link to outbreak (if it is applicable)
9	Date and time of arrival at the laboratory*
10	Sample temperature*
11	Reasons to reject the sample (Yes/No, description)*
12	Other remarks (if any)
13	Laboratory ID*
14	Name of the person that received the sample*
15	Date and time that laboratory analysis started*

Data fields 1-8 are completed by the person performing the sampling, while 9-15 are completed by the laboratory personnel (fields marked with asterisk are mandatory).

12. German Translation

12.1 SOP - Klinische (und tierärztliche) Proben

Klinische und veterinärmedizinische Proben werden in den Laboratorien des öffentlichen Gesundheitswesens zur Überwachung, Untersuchung von Krankheitsausbrüchen und Diagnose untersucht.

Die Entnahme von klinischen Proben wird in verschiedenen Dokumenten beschrieben, z. B. in "J. Michael Miller, Ph.D. Handbook of Specimen Collection and Handling in Microbiology. Second Edition. 1985", "WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks (verfügbar unter: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66348/WHO_CDS_CSR_EDC_2000.4.pdf), "Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (verfügbar unter: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-IHM-GIP-2018.2>)" und "Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition".

Die tierärztliche Probenentnahme wird in "Bildfell R. Collection and submission of laboratory samples from animals" beschrieben. Merck Veterinary Manual" (verfügbar unter: merckvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/collection-and-submission-of-laboratory-samples/collection-and-submission-of-laboratory-samples-from-animals), abgerufen im November 2023.

Klinische Proben sollten von einem Arzt (oder bei Tieren von einem Tierarzt) oder anderem kompetenten und autorisierten Personal entnommen werden. Die Proben sollten in geeigneten Behältern aufbewahrt werden, deren Größe proportional zur Probengröße ist. Sie sollten mit einem ordnungsgemäß gekennzeichneten Streifen Klebeband oder einem Strichcode gekennzeichnet werden.

Die für die Probenahme verantwortliche Person sollte die entsprechenden Datenfelder des Probenahmeformulars ausfüllen (Anhänge I und II für klinische (Human-) bzw. tierärztliche Proben).

Liegt das Probenformular in Papierform vor, wird es in einer Plastiktüte versiegelt und der Probenverpackung beigelegt. Handelt es sich um eine Tabellenkalkulation, wird sie verschlüsselt und mit einem starken Passwort gesichert per E-Mail an das Empfängerlabor geschickt.

Im Allgemeinen sollten die Proben für den Virusnachweis so schnell wie möglich nach der Entnahme im Labor eintreffen. Für die meisten klinischen Proben beträgt die empfohlene Versandzeit maximal 2 Tage bei 2-8° C. Wenn sich die Lieferung um mehr als die empfohlene Versandzeit für den spezifischen Probentyp verzögert, sollten die Proben bei -70 °C eingefroren werden. Falls die Proben direkt einer DNA- und/oder RNA-Extraktion unterzogen werden, ohne dass sie vorher bearbeitet werden, z. B. durch Zentrifugation, sollten sie nach Möglichkeit bei -70° C (Trockeneis) eingefroren an das Labor geschickt werden. Falls vor der Anwendung molekularer Methoden eine bakteriologische Analyse (Kultur) erforderlich ist, muss die Probe innerhalb von 24 Stunden bei 4° C für Stuhlproben oder Proben der unteren Atemwege bzw. bei Raumtemperatur für rektale Abstriche und Proben der oberen Atemwege im Labor abgegeben werden.

(WHO-Labortests für Coronavirus-Erkrankungen (COVID-19) bei Verdachtsfällen beim Menschen: vorläufige Leitlinien (<https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>).

Wenn die voraussichtliche Lieferzeit unter der zulässigen Höchstdauer liegt, wird die Probe bis zum Versand auf Kühlgelpacks oder bei 2-8° C gelagert, sofern nichts anderes angegeben ist.

Die Probe wird in einem geeigneten Behälter verpackt, der die empfohlene Temperatur (2-8° C oder -70° C) beibehält und den lokalen/internationalen Vorschriften für den Transport von Gefahrgut der Klasse B entspricht.

Bei der Ankunft im Labor erfasst ein Analytiker, der zum Zugriff auf personenbezogene Daten berechtigt ist, die Temperatur und notiert den physischen Zustand der Probe. Dementsprechend füllt er die entsprechenden Felder im Probenformular aus.

Die Proben werden unter den angegebenen Bedingungen bis zur Analyse gelagert.

Die Probe wird zurückgewiesen, wenn:

Die Proben nicht oder falsch etikettiert sind.

Die Probentemperatur nicht die angegebene Temperatur für den Probentyp und den gewünschten Test ist.

Die Zeitspanne zwischen der Probenahme und dem Erhalt der Probe länger als die empfohlene ist.

Probenbehälter undicht sind.

Es sichtbare Risse oder irgendeine Form von Beschädigung des Behälters gibt.

Das Probenvolumen kleiner als das Empfohlene ist.

Pflichtfelder im Datenformular nicht ausgefüllt sind.

Im Falle einer Ablehnung sollte im Feld "Gründe für die Ablehnung der Probe" des Formulars der genaue Grund für die Ablehnung angegeben werden.

Der (zum Zugriff auf personenbezogene Daten berechtigte) Laborant füllt das Feld "Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse" aus, wenn er den Analysevorgang startet. Wenn eine LIMS-Software verfügbar ist, werden alle Metadaten importiert.

Wenn die Ergebnisse vorliegen, werden das Formular und der Ergebnisbericht per E-Mail verschlüsselt und durch ein sicheres Passwort geschützt an die Epidemiologie-Abteilung gesendet, oder die Daten können über die LIMS-Software abgerufen werden.

ANHANG I

Metadaten für klinische (menschliche) Proben

	Klinische Probe
1	Proben-ID oder Barcode*
2	Datum und Uhrzeit der Probenahme*
3	Art der Probe (z. B. Blut, Nasopharyngealabstrich usw.)*
4	Versandbedingungen der Probe (gefroren, gekühlt, Raumtemperatur)*
5	Ort der Probenahme (nur Land)*
6	Liste der zu analysierenden Parameter*
7	Name und Adresse des Patienten
8	Datum und Uhrzeit der Ankunft im Labor*
9	Temperatur der Probe*
10	Gründe für die Zurückweisung der Stichprobe (Ja/Nein, Beschreibung)*
11	Labor-ID*
12	Name der Person, die die Probe erhalten hat*
13	Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse*
14	Ort der Probenentnahme (genau)
15	Name des Patienten
16	Alter des Patienten
17	Geschlecht des Patienten
18	Symptome des Patienten (falls vorhanden)
19	Auftreten der Symptome (falls zutreffend)
20	Geschichte des Reisens
21	Impfstatus (falls zutreffend)
22	Co-Morbiditäten
23	Medikation (falls zutreffend)
24	Zusätzliche Informationen über den Patienten

Die Datenfelder 1-7 und 14-24 werden von der Person ausgefüllt, die die Probenahme durchführt, während die Felder 8-14 vom Laborpersonal ausgefüllt werden (die mit einem Sternchen gekennzeichneten Felder sind obligatorisch).

Beachten Sie, dass die Patientendatenfelder (14-24) je nach Erreger und Zweck der Analyse Änderungen unterliegen. Auch Felder, die nicht als obligatorisch angegeben sind, können obligatorisch werden, wenn z. B. eine "Kontaktverfolgung" des Patienten erforderlich ist.

ANHANG II

Metadaten für tierärztliche Proben

	Tierärztliche Probe
1	Proben-ID oder Barcode*
2	Datum und Uhrzeit der Probenahme*
3	Tierarten*
4	Art der Probe (z. B. Urin, Stuhl, Biopsie usw.)*
5	Zusätzliche Informationen zum Beispiel
6	Liste der zu analysierenden Parameter*
7	Ort der Probenahme oder Adresse des Betriebs*
8	Datum und Uhrzeit der Ankunft im Labor*
9	Temperatur der Probe*
10	Gründe für die Zurückweisung der Stichprobe*
11	Labor-ID*
12	Name der Person, die die Probe erhalten hat*
13	Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse*
14	Alter oder Geschlecht des Tieres
15	Tierische Symptome (falls vorhanden)
16	Auftreten der Symptome (falls zutreffend)
17	Medikation (falls zutreffend)
18	Zusätzliche Informationen über das Tier

Die Datenfelder 1-8 und 14-18 werden von der Person ausgefüllt, die die Probenahme durchführt, während die Felder 8-13 vom Laborpersonal ausgefüllt werden (die mit einem Sternchen gekennzeichneten Felder sind obligatorisch).

Beachten Sie, dass die Felder (14-24) je nach Erreger und Zweck der Analyse Änderungen unterliegen.

12.2 SOP - Wasserproben

Wasser aus verschiedenen Quellen und Abwasserproben werden regelmäßig untersucht, um die Qualitätsparameter und das Vorhandensein von Krankheitserregern für die Überwachung der öffentlichen Gesundheit zu bewerten. Sie sind auch nützlich, um die Quelle eines wasserbedingten Ausbruchs zu ermitteln, die Belastung einer Gemeinde mit Krankheitserregern aus epidemiologischen Gründen zu messen oder Antibiotikaresistenzmarker in Tierhaltungsbetrieben nachzuweisen usw.

Die Probenahme sollte gemäß der ISO-Norm 19458:2006 und/oder den ISO-Methoden für die unten aufgeführten spezifischen Erreger (Anhang I) durchgeführt werden. Die abwasserbasierte SARS-CoV-2-Überwachung sollte gemäß den WHO-Leitlinien durchgeführt werden, die unter <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1> (Zugriff am 2023-12-10) verfügbar sind.

Wasserproben sollten in sauberen, sterilen Flaschen gesammelt werden, die entweder aus Glas, das nach der Sterilisation wiederverwendbar ist, oder aus Kunststoff bestehen können. Unabhängig vom Material sollten Flaschen, die für die Entnahme von Wasser für den menschlichen Gebrauch bestimmt sind, Natriumthiosulfat (20mg/L) enthalten, um Restchlor zu neutralisieren.

Wenn ein großes Wasservolumen benötigt wird (z. B. für Cryptosporidium, Norovirus), können größere Behälter verwendet werden, die jedoch immer sauber und steril sein sollten. Alternativ kann die Filtration oder Sedimentation an Ort und Stelle durchgeführt werden, um die mit dem Transport und der Kühlung großer Flüssigkeitsmengen verbundenen Probleme zu vermeiden.

Wenn die Probenahme durch Eintauchen der Flasche erfolgt, sollte diese sowohl innen als auch außen steril sein und bis zur Verwendung für die Probenahme in einem geeigneten Behältnis aufbewahrt werden, z. B. in einem Plastikbeutel oder in Aluminiumfolie. Zum Eintauchen sollte die Flasche mit einem sterilen Handschuh oder einem sterilen Werkzeug (z. B. sterilisierbare Stöcke oder Pinzetten) gehalten werden.

Schließlich kann die Probenahme mit Wasserpumpen oder speziellen, für den Zweck der Probenahme geeigneten Probenehmern durchgeführt werden. Unabhängig von der angewandten Methode der Probenentnahme muss eine Verunreinigung der Probe durch die Probeentnahmegерäte oder die Umwelt vermieden werden.

Nach der Probenahme wird die Flasche versiegelt und der Deckel mit Aluminiumfolie oder Parafilm umwickelt, um eine Kontamination zu verhindern.

Die Probe sollte mit einem ordnungsgemäß gekennzeichneten Streifen Klebeband oder einem Strichcode gekennzeichnet werden.

Die Person, die die Probenahme durchgeführt hat, füllt das Probenahmeformular in den entsprechenden Datenfeldern aus (Anhang II).

Wenn es sich um ein Papierformular handelt, wird es in einer Plastiktüte versiegelt und der Probenverpackung beigelegt. Handelt es sich um ein Tabellenkalkulationsformular, wird es per E-Mail an das Empfängerlabor geschickt.

Die Proben sollten gekühlt an das Labor geschickt werden, und die Probentemperatur sollte bis zur Analyse idealerweise bei $5\pm 3^{\circ}$ C gehalten werden, es sei denn, für den jeweiligen Erreger sind andere Bedingungen angezeigt.

Bei der Ankunft im Labor erfasst die Person, die die Probe entgegennimmt, die Temperatur und notiert den physischen Zustand der Probe. Dementsprechend füllt sie die entsprechenden Felder im Probenformular aus. Die Proben werden, wie angegeben, unter geeigneten Bedingungen gelagert.

Die Probe wird zurückgewiesen, wenn:

Die Proben nicht oder falsch etikettiert sind.

Die Probentemperatur über 10° C (sofern in der entsprechenden ISO-Methode nicht anders angegeben) liegt.

Die Zeitspanne ab der Probenahme länger als die Empfohlene ist.

Probenbehälter undicht sind.

Es sichtbare Risse oder irgendeine Form von Beschädigung des Behälters gibt.

Das Probenvolumen kleiner als das Empfohlene ist.

Pflichtfelder im Datenformular nicht ausgefüllt sind.

Im Falle einer Ablehnung sollte im Feld "Gründe für die Ablehnung der Probe" des Formulars der genaue Grund für die Ablehnung angegeben werden.

Der Laboranalytiker füllt das Feld "Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse" aus, wenn er das Analyseverfahren startet. Wenn eine LIMS-Software verfügbar ist, werden alle Metadaten importiert.

Wenn die Ergebnisse vorliegen, wird das Formular zusammen mit dem Ergebnisbericht per E-Mail an die epidemiologische Abteilung geschickt, oder die Daten können über die LIMS-Software abgerufen werden.

ANHANG I

Amtliche Leitlinien für den Nachweis und/oder die Auszählung von Krankheitserregern.

Für die Isolierung von Bakterienkolonien zur Durchführung von WGS:

ISO 11731:2017. Wasserqualität. Auszählung von *Legionellen*

ISO 7899-2:2000 Wasserqualität - Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken - Teil 2: Membranfiltrationsverfahren

ISO 19250:2010 Wasserqualität - Nachweis von *Salmonella* spp.

ISO 14189:2013 Wasserqualität - Auszählung von *Clostridium perfringens* - Verfahren mit Membranfiltration

ISO 9308-3:1998/Cor 1:2000 Wasserqualität - Nachweis und Auszählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien - Teil 3: Miniaturisiertes Verfahren (Most Probable Number) zum Nachweis und zur Auszählung von *E. coli* in Oberflächen- und Abwasser - Technische Korrektur 1

ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016 Wasserqualität - Auszählung von *Escherichia coli* und coliformen Bakterien - Teil 1: Membranfiltrationsverfahren für Wässer mit geringer bakterieller Hintergrundflora - Änderung 1

ISO 6461-2: 1986 Wasserqualität - Nachweis und Auszählung der Sporen von sulfitreduzierenden Anaerobiern (Clostridien) - Teil 2: Verfahren durch Membranfiltration

Für den molekularen Nachweis von Krankheitserregern mittels qPCR:

ISO/TS 12869:2019 Wasserqualität. Nachweis und Quantifizierung von *Legionella* spp. und/oder *Legionella pneumophila* durch Konzentration und genetische Amplifikation mittels quantitativer Polymerase-Kettenreaktion (qPCR).

"Environmental surveillance for SARS-CoV-2 to complement other public health surveillance" (Umweltüberwachung für SARS-CoV-2 zur Ergänzung anderer Überwachungsmaßnahmen im Bereich der öffentlichen Gesundheit). Die neuesten Leitlinien für den Nachweis und die Auszählung von SARS-CoV-2 in Abwasserproben (<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1>). Das Verfahren kann auch für die Überwachung anderer Viren verwendet werden, die mit dem Stuhl ausgeschieden werden, z. B. Influenzaviren und RSV.

Da die offiziellen molekularen Nachweismethoden begrenzt sind, können in ISO-Dokumenten beschriebene Konzentrationsmethoden verwendet werden, wie z. B. ISO 15553:2006 (Wasserqualität - Isolierung und Identifizierung von Cryptosporidium-Oozysten und Giardia-Zysten aus Wasser), und aus dem Konzentrat werden Nukleinsäuren für den molekularen Nachweis isoliert.

Für die metagenomische Analyse und/oder WGS durch selektive Ganzgenom-Amplifikation können DNA und/oder RNA aus Probenkonzentraten oder direkt aus der Probe isoliert werden.

ANHANG II

Metadaten für Wasserproben

	Wasser- oder Abwasserprobe
1	Proben-ID oder Barcode*
2	Datum und Uhrzeit der Probenahme*
3	Art der Probe (z. B. Abwasser, Seewasser, Leitungswasser usw.)*
4	Zusätzliche Informationen zur Probe (Oberflächenprobenahme, Probentiefe usw.)
5	Liste der zu analysierenden Parameter*
6	Ort der Probenahme*
7	Link zum Ausbruch (falls zutreffend)
8	Datum und Uhrzeit der Ankunft im Labor*
9	Temperatur der Probe*
10	Gründe für die Zurückweisung der Stichprobe (Ja/Nein, Beschreibung)*
11	Sonstige Bemerkungen (falls zutreffend)
12	Labor-ID*
13	Name der Person, die die Probe erhalten hat*
14	Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse*

Die Datenfelder 1-7 werden von der Person ausgefüllt, die die Probenahme vornimmt, während die Felder 8-14 vom Laborpersonal ausgefüllt werden (die mit einem Sternchen gekennzeichneten Felder sind obligatorisch).

12.3 SOP - Lebensmittelproben

Lebensmittelproben werden regelmäßig zur Überwachung des öffentlichen Gesundheitswesens und/oder bei Untersuchungen von lebensmittelbedingten Krankheitsausbrüchen untersucht. Die Probenahme muss gemäß ISO/TS 17728:2015 und/oder ISO-Methoden erfolgen, die den unten aufgeführten spezifischen Krankheitserregern entsprechen (Anhang I).

Die Proben sollten ordnungsgemäß entnommen und gehandhabt werden und repräsentativ für die beprobte Partie sein. Die Probenentnahmeverfahren müssen einheitlich angewandt werden. Eine repräsentative Probe ist unerlässlich, wenn Krankheitserreger oder Toxine sporadisch im Lebensmittel verteilt sind. Die Anzahl der Einheiten, aus denen eine repräsentative Probe aus einer bestimmten Partie eines Lebensmittels besteht, muss statistisch signifikant sein.

Probeneinheiten sollten aus mindestens 100 g der Probe bestehen, unabhängig davon, ob sie einzeln oder in Teilen entnommen wurden, z. B. könnten vier 25-g-Behälter eine Probeneinheit bilden.

Die Proben sollten nach dem Zufallsprinzip entnommen werden, um sicherzustellen, dass eine Probe repräsentativ für die gesamte Partie ist. Bei der Verwendung von Behältern zur Probenahme sollten leere Probenbehälter als Kontrollen verwendet werden.

Die Proben sollten, wenn möglich, in den ungeöffneten Originalbehältern an das Labor geschickt werden. Ist dies nicht möglich, sollten repräsentative Portionen unter aseptischen Bedingungen mit sterilisierten Edelstahlöffeln, Pinzetten, Spateln und Scheren in sterile Behälter überführt werden.

Die Behältnisse sollten sauber, trocken, auslaufsicher, weithalsig und steril sein und eine für die Produktproben geeignete Größe haben. Erforderlichenfalls sollten die Behältnisse (Metall Dosen, Dosen, Beutel, Pakete usw.) hermetisch verschlossen sein. Glasbehälter sollten vermieden werden, um die Gefahr zu minimieren, dass sie zerbrechen und das Lebensmittel kontaminieren. Tüten sollten nicht überfüllt werden, um ein Durchstechen durch den Drahtverschluss zu vermeiden.

Trockene oder konservierte Lebensmittel, die nicht verderblich sind und bei Raumtemperatur gesammelt werden, müssen nicht gekühlt werden. Gefrorene oder gekühlte Produkte sollten in zugelassenen Isolierbehältern transportiert werden, um die Temperatur unverändert zu halten. Gefrorene Proben sollten in vorgekühlten Behältern gesammelt werden.

Jede Probeneinheit sollte mit einem ordnungsgemäß gekennzeichneten Streifen Klebeband oder einem Barcode-Streifen versehen werden. Beachten Sie, dass die Tinte des Filzstiftes den Kunststoffbehälter durchdringen kann.

Die Person, die die Stichprobe durchgeführt hat, füllt das Stichprobenformular in den entsprechenden Datenfeldern aus.

Wenn es sich um ein Papierformular handelt, wird es in einer Plastiktüte versiegelt und der Probenverpackung beigelegt. Handelt es sich um ein Tabellenkalkulationsformular, wird es per E-Mail an das Empfängerlabor geschickt.

Uhrzeit und Datum des Eingangs jeder Probe sollten im Labor aufgezeichnet werden. Gefrorene Proben sollten stets gefroren aufbewahrt werden. Die Behältnisse sollten in der Lage sein, eine Temperatur von 0-4 °C von der Entnahme bis zum Eintreffen im Labor für alle gekühlten Proben zu halten, ausgenommen Muscheln und Muschelbestand. Gekühlte Produkte sollten nicht eingefroren werden und innerhalb von 36 Stunden nach der Entnahme analysiert werden, sofern nicht anders angegeben. Geschälte Muscheln sollten über dem Gefrierpunkt, aber unter 10° C aufbewahrt und innerhalb von 6 Stunden nach der Entnahme, aber auf keinen Fall später als 24 Stunden nach der Entnahme untersucht werden.

Sobald die Probe im Labor eintrifft, sollte der Analytiker ihren allgemeinen physischen Zustand notieren und die Temperatur aufzeichnen. Die Probenbehälter sollten auf grobe physische Defekte überprüft werden. Plastikbeutel und -flaschen sollten auf Risse, Nadellöcher und Einstichstellen untersucht werden. Wurden die Proben in Plastikflaschen entnommen, sollten die Flaschen auf Brüche und lose Deckel untersucht werden. Wurden für die Probenahme Plastikbeutel verwendet, so sollten die umliegenden Beutel nicht von Drähten durchstochen sein.

Die Probe wird zurückgewiesen, wenn:

Die Probentemperatur nicht wie oben angegeben ist.

Die Zeit ab der Probenahme länger als die Empfohlene ist.

Probenbehälter undicht sind.

Es sichtbare Risse oder irgendeine Form von Beschädigung an den Behältern gibt.

Die Probenmenge geringer als empfohlene ist.

Pflichtfelder im Datenformular nicht ausgefüllt sind.

Im Falle einer Ablehnung sollte im Feld "Gründe für die Ablehnung der Probe" des Formulars der genaue Grund für die Ablehnung angegeben werden.

Wenn die Probe nicht sofort analysiert werden kann, sollte sie bis zur Untersuchung bei -20 °C (bereits gefrorene Proben) oder bei 0-4 °C (gekühlte, nicht gefrorene, verderbliche Proben) gelagert werden, jedoch nicht länger als 36 Stunden. Nicht verderbliche, konservierte oder feuchtigkeitsarme Lebensmittel sollten bis zur Analyse bei Raumtemperatur gelagert werden.

Je nach den geforderten Tests werden die Proben nach verschiedenen ISO-Methoden oder nach den Empfehlungen internationaler oder nationaler Behörden, die die Verarbeitung der Proben beschreiben, bearbeitet.

Der Laboranalytiker füllt das Feld "Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse" aus, wenn er das Analyseverfahren startet. Wenn eine LIMS-Software verfügbar ist, werden alle Metadaten importiert.

Wenn die Ergebnisse vorliegen, wird das Formular zusammen mit dem Ergebnisbericht per E-Mail an die epidemiologische Abteilung geschickt, oder die Daten können über die LIMS-Software abgerufen werden.

ANHANG I

Amtliche Leitlinien für den Nachweis und/oder die Auszählung von Krankheitserregern.

Für die Isolierung von Bakterienkolonien zur Durchführung von WGS:

ISO 23418:2022 Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Ganzgenomsequenzierung zur Typisierung und genomischen Charakterisierung von Bakterien - Allgemeine Anforderungen und Anleitung

ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis, zur Zählung und zur Serotypisierung von *Salmonella* - Teil 1: Nachweis von *Salmonella* spp. - Änderung 1: Erweiterter Bereich von Inkubationstemperaturen, Änderung des Status von Anhang D und Korrektur der Zusammensetzung von MSR/V und SC

ISO 6579-1:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis, zur Zählung und zur Serotypisierung von *Salmonellen* - Teil 1: Nachweis von *Salmonella* spp.

ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Auszählung von koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Arten) - Teil 1: Verfahren unter Verwendung von Baird-Parker-Agar-Medium - Änderung 1

ISO 6888-2:2021/Amd 1:2023. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Auszählung von Koagulase-positiven Staphylokokken (*Staphylococcus aureus* und andere Arten) - Teil 2: Verfahren unter Verwendung von Kaninchenplasma-Fibrinogen-Agar-Medium - Änderung 1

ISO 7251:2005/Amd 1:2023. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von präsumptiven *Escherichia coli* - Verfahren der wahrscheinlichsten Anzahl - Änderung 1: Aufnahme der Leistungsprüfung von Kulturmedien und Reagenzien

ISO 7932:2004. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren zur Auszählung von mutmaßlichem *Bacillus cereus* - Koloniezahlverfahren bei 30 °C

ISO 10272-2:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelherstellungskette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von *Campylobacter* spp - Teil 2: Koloniezahlverfahren

ISO 10273:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis von pathogenen *Yersinia enterocolitica*

ISO 11290-1:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von *Listeria monocytogenes* und *Listeria* spp. - Teil 1: Nachweismethode

ISO 11290-2:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von *Listeria monocytogenes* und von *Listeria* spp.

ISO 21528-1:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von Enterobacteriaceae - Teil 1: Nachweis von Enterobacteriaceae

ISO 21528-2:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Zählung von Enterobacteriaceae - Teil 2: Koloniezahlverfahren

ISO 21567:2004. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Horizontales Verfahren zum Nachweis von *Shigella* spp.

ISO 15213-2:2023. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von *Clostridium* spp. - Teil 2: Auszählung von *Clostridium perfringens* mittels Koloniezahlverfahren

ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zum Nachweis und zur Auszählung von *Campylobacter* spp. - Teil 1: Nachweisverfahren - Änderung 1: Aufnahme von Verfahren zur molekularen Bestätigung und Identifizierung von thermotoleranten *Campylobacter* spp., die Verwendung von Wachstumszusätzen in Preston-Bouillon und Änderungen bei der Leistungsprüfung von Nährmedien

ISO 11866-2:2005. Milch und Milcherzeugnisse - Auszählung von präsumptiven *Escherichia coli* - Teil 2: Koloniezahlverfahren bei 44 °C unter Verwendung von Membranen

Für den molekularen Nachweis von Krankheitserregern mittels qPCR:

ISO 22174:2005. Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von lebensmittelbedingten Krankheitserregern - Allgemeine Anforderungen und Definitionen

ISO/TS 13136:2012. Mikrobiologie von Lebens- und Futtermitteln - Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR)-basiertes Verfahren zum Nachweis von lebensmittelbedingten Krankheitserregern - Horizontales Verfahren zum Nachweis von Shiga-Toxin produzierenden *Escherichia coli* (STEC) und zur Bestimmung der Serogruppen O157, O111, O26, O103 und O145

ISO/TS 18867:2015. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von lebensmittelbedingten Krankheitserregern - Nachweis von pathogenen *Yersinia enterocolitica* und *Yersinia pseudotuberculosis*

ISO 15216-2:2019. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Bestimmung von Hepatitis-A-Virus und Norovirus mittels RT-PCR in Echtzeit - Teil 2: Verfahren zum Nachweis

ISO/TS 17919:2013. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von lebensmittelbedingten Krankheitserregern - Nachweis von Botulinum Typ A, B, E und F Neurotoxin produzierenden Clostridien

ISO 15216-1:2017. Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren zur Bestimmung von Hepatitis-A-Virus und Norovirus mittels Echtzeit-RT-PCR - Teil 1: Verfahren zur Quantifizierung

Da die offiziellen molekularen Nachweismethoden begrenzt sind, können in ISO-Dokumenten beschriebene Methoden verwendet werden, wie z. B. ISO 18744:2016 (Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Nachweis und Auszählung von *Cryptosporidium* und *Giardia* in frischem Blattgemüse und Beerenfrüchten), wobei anstelle der Mikroskopie Nukleinsäuren aus dem Eluat für den molekularen Nachweis isoliert werden.

Für Metagenomanalysen und/oder WGS durch selektive Ganzgenom-Amplifikation kann die DNA und/oder RNA direkt aus der Probe isoliert werden.

ANHANG II

Metadaten für Lebensmittelproben

	Lebensmittelprobe
1	Proben-ID oder Barcode*
2	Datum und Uhrzeit der Probenahme*
3	Art der Probe/Arten (z. B. Rinderfleisch, Hühnerfleisch, Muscheln usw.)*
4	Zustand der Probe (gefroren, gekühlt, usw.)*
5	Zusätzliche Informationen zur Probe (z. B. Markenname)
6	Liste der zu analysierenden Parameter*
7	Ort der Probenentnahme*
8	Link zum Ausbruch (falls zutreffend)
9	Datum und Uhrzeit der Ankunft im Labor*
10	Temperatur der Probe*
11	Gründe für die Zurückweisung der Stichprobe (Ja/Nein, Beschreibung)*
12	Sonstige Bemerkungen (falls zutreffend)
13	Labor-ID*
14	Name der Person, die die Probe erhalten hat*
15	Datum und Uhrzeit des Beginns der Laboranalyse*

Die Datenfelder 1-8 werden von der Person ausgefüllt, die die Probenahme vornimmt, während die Felder 9-15 vom Laborpersonal ausgefüllt werden (die mit einem Sternchen gekennzeichneten Felder sind obligatorisch).

13. Croatian translation

13.1 SOP – humani i veterinarski (životinjski) uzorci

Ispitivanje humanih i životinjskih uzoraka odvija se u javnozdravstvenim laboratorijima predviđenima za zdravstveni nadzor, istragu epidemija i dijagnostiku.

Prikupljanje kliničkih uzoraka opisano je u brojnim dokumentima poput: "J. Michael Miller, Ph.D. Handbook of Specimen Collection and Handling in Microbiology. Second Edition. 1985", "WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks (available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66348/WHO_CDS_CSR_EDC_2000.4.pdf), "Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (available at: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-IHM-GIP-2018.2>)" and "Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition".

Prikupljanje veterinarskih uzoraka opisano je u: "Bildfell R. Collection and submission of laboratory samples from animals. Merck Veterinary Manual" (available at: merckvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/collection-and-submission-of-laboratory-samples/collection-and-submission-of-laboratory-samples-from-animals), pristupljeno studeni, 2023.

Osoba koja uzorkuje treba biti liječnik (veterinar) ili pak druge struke, sposobna i ovlaštena za izvršenje danog zadatka.

Osoba odgovorna za uzorkovanje, ispunjava relevantne podatke na obrascu uzorka. (Dodatak I za humane i Dodatak II za veterinarske uzorke).

Ako je obrazac uzorka u papirnatom obliku, sprema se u plastičnu vrećicu i potom stavlja u ambalažu uzorka. Ako je obrazac uzorka u elektroničkom obliku, tada se enkriptira i osigurava snažnom zaporkom te potom šalje elektroničkom poštom laboratoriju.

U pravilu, uzorci za dokazivanje virusa trebaju stići u laboratorij u što kraćem roku nakon uzorkovanja. Za većinu kliničkih uzoraka, preporučeno vrijeme dostave iznosi najviše 2 dana na temperaturi od 2 do 8 °C. Ako je pošiljka odgođena za vrijeme dulje od preporučenog (za specifičnu vrstu uzorka), tada je potrebno zamrznuti uzorak na temperaturi od -70 °C. U slučaju da bi uzorci bili podvrgnuti procesu DNA i/ili RNA ekstrakcije bez prethodne obrade (npr. centrifugiranje), tada se također dostavljaju zamrznuti na -70 °C (suhi led). U slučaju potrebe bakteriološke analize (kultivacije) prije podvrgavanja uzorka molekularnim metodama, uzorak mora biti dostavljen laboratoriju unutar 24 sata pri temperaturi od 4 °C za stolicu i uzorke donjeg dijela dišnog sustava, ili na sobnoj temperaturi za obriske rektuma i gornjeg dišnog sustava.

(WHO Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance (<https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>)).

Ako je očekivano vrijeme dostave kraće od najduljeg preporučenog vremena, uzorak se treba smjestiti na ohlađene pakete gela, ili čuvati na temperaturi od 2 do 8 °C do trenutka slanja, osim ako nije drugačije naznačeno.

Uzorak se treba smjestiti u prikladni spremnik koji održava preporučenu temperaturu (2-8 °C ili -70 °C) i koji postoji u skladu s lokalnim i internacionalnim propisima transporta opasnog materijala razreda B.

Po dolasku u laboratorij, ovlaštenu analitičar s dopuštenjem za pristup osobnim podacima, mjeri temperaturu i bilježi fizičko stanje uzorka te sukladno tome popunjava relevantna polja na obrascu uzorka.

Do trenutka analize uzorci se skladište u primjerenim uvjetima, koji su za njih predviđeni.

Uzorak se odbija ako:

- Uzorak nije označen ili je pogrešno označen
- Temperatura uzorka nije navedena u vezi s vrstom uzorka i zahtijevanim testom
- Vrijeme između uzorkovanja i primitka uzorka je dulje od preporučenog
- Spremnik uzorka curi
- Postoje vidljive pukotine ili kakav oblik oštećenja na spremniku uzorka
- Volumen uzorka je manji od preporučenog
- Obvezna polja na obrascu nisu ispunjena

Ako se uzorak odbija, prikladni razlozi se navode u polje „Razlozi odbijanja uzorka“

Laboratorijski analitičar (ovlašten za pristup osobnim informacijama) ispunjuje polje „Datum i vrijeme početka laboratorijske analize“ po početku analitičke procedure. Svi se podatci unose, ako je LIMS (engl. *Laboratory information management system*) dostupan.

Kada su rezultati spremni, obrazac i rezultati šalju se kao izvješće putem elektroničke pošte, prethodno enkriptirani i osigurani zaporkom, epidemiološkoj službi.

DODATAK I

Podaci za humane uzorke

	Klinički uzorak
1	Identifikacijski broj uzorka ili barkod (crtični kod)*
2	Datum i vrijeme uzorkovanja*
3	Vrsta uzorka (npr. krv, obrisak nazofarinksa, i sl.)*
4	Uvjeti čuvanja uzorka (zamrznut, čuvan na temperaturi hladnjaka, sobne temperature)*
5	Mjesto uzorkovanja (država)*
6	Popis parametara za analizu*
7	Ime i adresa pacijenta
8	Datum i vrijeme prispjeća u laboratorij*
9	Temperatura uzorka*
10	Razlozi odbijanja uzorka (Da/Ne, objašnjenje)*
11	Identifikacijski broj laboratorija*
12	Ime osobe koja je primila uzorak*
13	Datum i vrijeme početka laboratorijske analize*
14	Mjesto uzorkovanja (točno koje)
15	Ime pacijenta
16	Dob pacijenta
17	Spol pacijenta
18	Simptomi bolesti u pacijenta (ako postoje)
19	Početak pojave simptoma (ako je primjenjivo)
20	Povijest putovanja
21	Cijepni status (ako je primjenjivo)
22	Komorbiditeti
23	Farmakoterapija (ako je primjenjivo)
24	Dodatne informacije o pacijentu

Polja 1-7 i 14-24 ispunjava osoba koja izvodi uzorkovanje, dok polja 8-13 ispunjava laboratorijsko osoblje (polja označena sa zvjezdicom (*) su obvezna).

Imajte na umu da su polja koja se odnose na pacijenta (14-24) podložna promjenama u skladu s vrstom patogena i svrhom analize. Također, polja koja nisu označena kao obvezna, mogu postati obvezna ako je to potrebno (npr. praćenje kontakta oboljelih).

DODATAK II

Podatci za veterinarske uzorke

	Veterinarski uzorak
1	Identifikacijski broj uzorka ili barkod (crtični kod)*
2	Datum i vrijeme uzorkovanja*
3	Životinjska vrsta*
4	Vrsta uzorka (npr. urin, stolica, bioptat, i sl.)*
5	Dodatne informacije o uzorku
6	Popis parametara za analizu*
7	Mjesto uzorkovanja ili adresa farme*
8	Datum i vrijeme prispjeća u laboratorij*
9	Temperatura uzorka*
10	Razlozi odbijanja uzorka (Da/Ne, objašnjenje)*
11	Identifikacijski broj laboratorija*
12	Ime osobe koja je primila uzorak*
13	Datum i vrijeme početka laboratorijske analize*
14	Dob ili spol životinje
15	Simptomi bolesti u životinje (ako postoje)
16	Početak pojave simptoma (ako je primjenjivo)
17	Farmakoterapija
18	Dodatne informacije o pacijentu

Polja 1-7 i 14-18 ispunjava osoba koja izvodi uzorkovanje, dok polja 8-13 ispunjava laboratorijsko osoblje (polja označena sa zvjezdicom (*) su obvezna).

Imajte na umu da su polja (14-18) podložna promjenama u skladu s vrstom patogena i svrhom analize.

13.2 SOP – uzorci vode

U svrhu javnozdravstvenog nadzora, vode iz različitih izvora i uzorci otpadnih voda redovito se ispituju radi procjene parametara kvalitete i prisustva patogena. Ti su uzorci korisni za dokazivanje izvora bolesti koje se prenose vodom, za praćenje nastanka rezistencije na antibiotike na farmama i sl.

Uzorkovanje se provodi sukladno ISO 19458:2006 i/ili ISO metodama odgovarajućim za specifične patogene navedene ispod (Dodatak I). Zdravstveni nadzor nad SARS-CoV-2 putem otpadnih voda provodi se sukladno smjernicama Svjetske zdravstvene organizacije, dostupnima na linku: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1> (pristupljeno 2023-12-10).

Uzorci vode prikupljaju se u (čistim) sterilnim bocama. Boce mogu biti staklene, koje se mogu ponovno se koristiti nakon sterilizacije, ili plastične. Neovisno o materijalu, boce namijenjene za uzorkovanje vode za piće moraju sadržavati natrijev tiosulfat (20mg/L) radi neutralizacije rezidualnog klorida.

Ako je potreban veći volumen vode (npr. za identifikaciju *Cryptosporidium* spp., *Norovirus* spp.) mogu se koristiti i veći spremnici, koji također trebaju biti čisti i sterilni. U tom slučaju, mogu se izvesti filtracija i sedimentacija *in situ*, kako bi se izbjegle prepreke vezane uz transport i održavanje niske temperature većeg volumena tekućine.

Ako se uzorkovanje izvodi uranjanjem boce, tada ona treba biti sterilna s vanjske i s unutarnje strane i kao takva biti skladištena u prikladnome spremniku (npr. plastičnoj vrećici ili aluminijskoj foliji) do trenutka uzorkovanja.

Konačno, uzorkovanje se može izvoditi korištenjem pumpi ili posebnog pribora za uzorkovanje. Bez obzira na metodu uzorkovanja, mora se izbjeći kontaminacija uzorka putem pribora za uzorkovanje.

Nakon uzorkovanja i zatvaranja boce, čep se omata aluminijskom folijom ili parafilmom kako bi se izbjegla kontaminacija.

Uzorak se mora moći jasno identificirati s oznakom na samoljepljivoj traci ili s barkodom.

Osoba koja je uzorkovala ispunjava relevantna polja na obrascu uzorka (Dodatak II).

Ako je obrazac uzorka u papirnatom obliku, sprema se u plastičnu vrećicu i potom stavlja u ambalažu uzorka. Ako je obrazac uzorka u elektroničkom obliku, tada se šalje elektroničkom poštom laboratoriju.

Uzorci se šalju laboratoriju čuvani na temperaturi hladnjaka. Idealna temperatura uzorka trebala bi se održavati na razini od 5 ± 3 °C do analize, osim ako nisu navedeni drugačiji uvjeti za specifičnog patogena.

Po dolasku u laboratorij, osoba koja zaprima uzorak bilježi njegovu temperaturu i stanje te potom ispunjava relevantna polja u obrascu uzorka. Uzorci se skladište u odgovarajućim uvjetima, kako je naznačeno.

Uzorak se odbija ako:

- Uzorak nije označen ili je pogrešno označen
- Temperatura uzorka viša je od 10 °C (osim ako nije drugačije naznačeno u odgovarajućoj ISO metodi)
- Vrijeme između uzorkovanja i primitka uzorka je dulje od preporučenog
- Spremnik uzorka curi
- Postoje vidljive pukotine ili kakav oblik oštećenja na spremniku uzorka
- Volumen uzorka je manji od preporučenog
- Obvezna polja na obrascu nisu ispunjena

Ako se uzorak odbija, prikladni razlozi se navode u polje „Razlozi odbijanja uzorka“.

Laboratorijski analitičar ispunjava polje „Datum i vrijeme početka laboratorijske analize“ po početku analitičke procedure. Svi se podatci unose, ako je LIMS dostupan.

Kada su rezultati spremni, obrazac i rezultati šalju se kao izvješće putem elektroničke pošte epidemiološkoj službi

DODATAK I

Službene smjernice za detekciju i/ili brojanje patogena.

Za izolaciju bakterija te izvođenje WGS-a:

ISO 11731:2017. Water quality. Enumeration of *Legionella*

ISO 7899-2:2000 Water quality — Detection and enumeration of intestinal enterococci — Part 2: Membrane filtration method

ISO 19250:2010 Water quality — Detection of *Salmonella* spp.

ISO 14189:2013 Water quality — Enumeration of *Clostridium perfringens* — Method using membrane filtration

ISO 9308-3:1998/Cor 1:2000 Water quality — Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and wastewater — Technical Corrigendum 1

ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016 Water quality - Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora - Amendment 1

ISO 6461-2:1986 Water quality — Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia) — Part 2: Method by membrane filtration

Za molekularno dokazivanje patogena putem qPCR:

ISO/TS 12869:2019 Water quality. Detection and quantification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR).

“Environmental surveillance for SARS-CoV-2 to complement other public health surveillance” The most recent guidelines for SARS-CoV-2 detection and enumeration in Wastewater samples (<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1>). Postupak se može koristiti i za nadzor drugih virusa koji se izlučuju u fecesu, poput virusa influence i RSV-a.

Kako su službene molekularne metode ograničene, mogu se koristiti koncentracijske metode opisane u ISO dokumentima; poput ISO 15553:2006 (Water quality — Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water) i nukleinske su kiseline izolirane iz koncentrata radi molekularne detekcije.

Za metagenomsku analizu, i/ili WGS prema selektivnoj amplifikaciji cijeloga genoma, DNA i/ili RNA mogu se izolirati iz koncentrata uzoraka ili direktno iz uzorka.

DODATAK II

Podatci za uzorke vode

	Uzorak vode (otpadne vode)
1	Identifikacijski broj uzorka ili barkod (crtični kod)*
2	Datum i vrijeme uzorkovanja*
3	Vrsta uzorka (npr. otpadna voda, jezerska voda, vodovodna voda, i sl.)*
4	Dodatne informacije o uzorku (površinsko uzorkovanje, dubina uzorkovanja, i sl.)
5	Popis parametara za analizu*
6	Mjesto uzorkovanja*
7	Povezanost s izbijanjem epidemije (ako je primjenjivo)
8	Datum i vrijeme prispjeća u laboratorij*
9	Temperatura uzorka*
10	Razlozi odbijanja uzorka (Da/Ne, objašnjenje)*
11	Ostale napomene (ako postoje)
12	Identifikacijski broj laboratorija*
13	Ime osobe koja je primila uzorak*
14	Datum i vrijeme početka laboratorijske analize*

Polja 1-7 ispunjava osoba koja izvodi uzorkovanje, dok polja 8-14 ispunjava laboratorijsko osoblje (polja označena sa zvjezdicom (*) su obvezna).

13.3 SOP – Uzorci hrane

Uzorci hrane redovito se ispituju u svrhu javno zdravstvenog nadzora i/ili tijekom epidemija koje se prenose hranom. Uzorkovanje se mora izvoditi u skladu s ISO/TS 17728:2015 i/ili ISO metodama odgovarajućim za specifične patogene navede ispod (Dodatak I).

Uzorkovanje i rukovanje uzorcima treba biti ispravno, a uzorak treba biti reprezentativan za cjelinu koja se uzorkuje. Postupci uzorkovanja izvode se jednoznačno. Reprezentativni uzorak je ključan kada su patogeni i toksini sporadično raspodijeljeni unutar hrane. Broj jedinica koji sačinjavaju jedan reprezentativni uzorak iz namijenjene cjeline prehranbene namirnice moraju biti statistički značajni.

Jedinice uzorka trebaju imati minimalno 100 grama uzorka kao jedničan uzorak ili podijeljeno, npr. četiri uzorka mase 25 grama u različitim spremnicima mogu sačinjavati jednu jedinicu uzorka.

Jedinice uzorka uzorkuju se nasumično kako bi osigurali reprezentativnost uzorka. Prazni se spremnici uzorka koriste kao kontrole kada se spremnici koriste za uzorkovanje.

Ako je to moguće, uzorci se šalju laboratoriju u originalnim neotvorenim spremnicima. Ako to nije moguće, reprezentativni dio premješta se u sterilne spremnike u aseptičkim uvjetima koristeći sterilizirane žlice, pincete, špatule i škare od nehrđajućeg čelika.

Spremnici trebaju biti čisti, suhi, nepropusni, širokog-grla, sterilni i veličine prikladne vrsti uzorka. Po potrebi spremnici (metalne kutije, konzerve, paketi, i sl.) trebaju biti hermetički zatvoreni. Stakleni se spremnici izbjegavaju kako bi se minimizirala opasnost loma i posljedične kontaminacije uzorka hrane. Vrećice se ne smiju prepuniti kako bi se izbjeglo probijanje kod zatvaranja žicom.

Suha ili konzervirana hrana koja nije kvarljiva, i koja je uzorkovana na sobnoj temperaturi, ne treba se čuvati na temperaturi hladnjaka (od 3 do 8 °C). Prehrambeni proizvodi koji su zamrznuti ili koji se moraju čuvati u hladnjaku prenose se kao takvi u spremnike s dobrom izolacijom kako bi njihova temperatura ostala nepromijenjena. Zamrznuti uzorci prenose se u prethodno ohlađenim spremnicima.

Svaka jedinica uzorka mora se moći jasno identificirati s oznakom na samoljepljivoj traci ili s barkodom. Imajte na umu da tinta flomastera može prodrijeti kroz plastični spremnik.

Osoba koja je uzorkovala ispunjava relevantna polja na obrascu uzorka.

Ako je obrazac uzorka u papirnatom obliku, sprema se u plastičnu vrećicu i potom stavlja u ambalažu uzorka. Ako je obrazac uzorka u elektroničkom obliku, tada se šalje elektroničkom poštom laboratoriju.

Datum i vrijeme dolaska svakog uzorka treba se zabilježiti u laboratoriju. Zamrznuti uzorci uvijek se čuvaju zamrznuti. Spremnici trebaju biti u stanju održavati temperaturu između 0 i 4 °C od trenutka uzorkovanja do dospjeća u laboratorij svim uzorcima koji se čuvaju na temperaturi hladnjaka, osim u slučaju školjki i temeljca od školjki. Uzorci koji se čuvaju na temperaturi hladnjaka ne bi se smjeli zamrznuti i analiziraju se unutar 36 sati od uzorkovanja, osim ako to nije drugačije naznačeno. Oljuštene školjke čuvaju se iznad temperature ledišta te ispod 10 °C, a pregledavaju se idealno unutar 6 sati i ni u kojem slučaju nakon što je prošlo 24 sata od uzorkovanja.

Po dolasku u laboratorij, osoba koja prima uzorak bilježi njegovu temperaturu i stanje. Spremnici se pregledavaju radi nekih grubljih oštećenja. Plastične vrećice i boce pregledavaju se zbog poderotina, rupica i tragova uboda. Ako su jedinice uzorka čuvane u plastičnim bocama, boce se pregledavaju radi lomova i labavih poklopaca. Ako su se koristile plastične vrećice, žicama kojima su zatvorene, ne bi smjele biti probušene susjedne vrećice.

Uzorak se odbija ako:

Temperatura uzorka nije u skladu s navedenim preporukama

Vrijeme između uzorkovanja i primitka uzorka je dulje od preporučenog

Spremnik uzorka curi

Postoje vidljive pukotine ili kakav oblik oštećenja na spremniku uzorka

Količina uzorka je manja od preporučene

Obvezna polja na obrascu nisu ispunjena

Ako se uzorak odbija, prikladni razlozi se navode u polje „Razlozi odbijanja uzorka“.

Ako se uzorak ne može odmah analizirati, skladišti se na -20 °C (ako je već zamrznut) ili na temperaturi od 0 do 4 °C (rashlađeni nesmrznuti kvarljivi uzorci) do trenutka analize. Vrijeme skladištenja ne bi smjelo biti dulje od 36 sati. Nekvarljiva, konzervirana ili suha hrana čuva se na sobnoj temperaturi do analize.

Ovisno o zahtjevima testiranja, uzorci se obrađuju po različitim ISO metodama ili u skladu s preporukama internacionalnih ili nacionalnih tijela koja opisuju postupak obrade uzoraka.

Laboratorijski analitičar ispunjuje polje „Datum i vrijeme početka laboratorijske analize“ po početku analitičke procedure. Svi se metapodatci unose, ako je LIMS dostupan.

Kada su rezultati spremni, obrazac i rezultati šalju se kao izvješće putem elektroničke pošte epidemiološkom zavodu, osim u slučaju da im je omogućen uvid u podatke putem LIMS-a.

DODATAK I

Službene smjernice za detekciju i/ili brojanje patogena.

Za izolaciju bakterija te izvođenje WGS-a:

ISO 23418:2022 Microbiology of the food chain — Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of bacteria — General requirements and guidance

ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. — Amendment 1: Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSR/V and SC

ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium — Amendment 1

ISO 6888-2:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium — Amendment 1

ISO 7251:2005/Amd 1:2023. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique — Amendment 1: Inclusion of performance testing of culture media and reagents

ISO 7932:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* — Colony-count technique at 30 °C

ISO 10272-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 2: Colony-count technique

ISO 10273:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*

ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method

ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 2: Enumeration method

ISO 21528-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 1: Detection of Enterobacteriaceae

ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

ISO 15213-2:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. — Part 2: Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique

ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method — Amendment 1: Inclusion of methods for molecular confirmation and identification of thermotolerant *Campylobacter* spp., the use of growth supplement in Preston broth and changes in the performance testing of culture media

ISO 11866-2:2005. Milk and milk products — Enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Part 2: Colony-count technique at 44 °C using membranes

For molecular detection of pathogens by qPCR:

ISO 22174:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions

ISO/TS 13136:2012. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups

ISO/TS 18867:2015. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*

ISO 15216-2:2019. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 2: Method for detection

ISO/TS 17919:2013. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of botulinum type A, B, E and F neurotoxin-producing clostridia

ISO 15216-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 1: Method for quantification

As official molecular detection methods are limited, methods described in ISO documents may be used such as ISO 18744:2016 (Microbiology of the food chain — Detection and enumeration of

Cryptosporidium and *Giardia* in fresh leafy green vegetables and berry fruits) and instead of microscopy, nucleic acids are isolated from the eluate for molecular detection.

Za metagenomsku analizu, i/ili WGS selektivnom cjelogenomskom amplifikacijom, DNA i/ili RNA se mogu izolirati direktno iz uzorka.

DODATAK II

Metapodatci za uzorke hrane

	Uzorak hrane
1	Identifikacijski broj uzorka ili barkod (crtični kod)*
2	Datum i vrijeme uzorkovanja*
3	Vrsta uzorka (npr. goveđe meso, piletina, školjke, i sl.)*
4	Stanje uzorka (zamrznuto, ohlađeno na temperaturi hladnjaka, i sl.)*
5	Dodatne informacije o uzorku (npr. naziv proizvođača)
6	Popis parametara za analizu*
7	Mjesto uzorkovanja*
8	Povezanost s izbijanjem epidemije (ako je primjenjivo)
9	Datum i vrijeme prispjeća u laboratorij*
10	Temperatura uzorka*
11	Razlozi odbijanja uzorka (Da/Ne, objašnjenje)*
12	Ostale napomene (ako postoje)
13	Identifikacijski broj laboratorija*
14	Ime osobe koja je primila uzorak*
15	Datum i vrijeme početka laboratorijske analize*

Polja 1-8 ispunjava osoba koja izvodi uzorkovanje, dok polja 9-15 ispunjava laboratorijsko osoblje (polja označena sa zvjezdicom (*) su obvezna).

14. Hungarian translation

14.1 SOP - Klinikai (és állatgyógyászati) minták

A közegészségügyi laboratóriumokban klinikai és állatgyógyászati minták vizsgálatát végzik surveillance tevékenység, a járványkitörések kivizsgálása és a diagnózis felállítása céljából.

A klinikai minták gyűjtését különböző dokumentumok írják le, mint például a "J. Michael Miller, Ph.D. Handbook of Specimen Collection and Handling in Microbiology". Második kiadás. 1985", "WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. Guidelines for the collection of clinical specimens during the field investigation of outbreaks (elérhető: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66348/WHO_CDS_CSR_EDC_2000.4.pdf), "Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Genf: Egészségügyi Világszervezet; 2018. (elérhető: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-IHM-GIP-2018.2>)" és "Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition".

Az állatorvosi mintavételt a "Bildfell R. Az állatokból származó laboratóriumi minták gyűjtése és benyújtása" című dokumentum ismerteti. Merck Veterinary Manual" (elérhető a következő címen: merckvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/collection-and-submission-of-laboratory-samples/collection-and-submission-of-laboratory-samples-from-animals), elérés: 2023. november.

A klinikai mintákat orvosnak (állatok esetében állatorvosnak) vagy más illetékes és felhatalmazott személynek kell gyűjtenie. A mintákat a minta méretével arányos méretű, megfelelő tárolóedényekbe kell helyezni. A mintákat megfelelően megjelölt ragasztószalaggal vagy vonalkódcsíkkal kell azonosítani.

A mintavételért felelős személynek ki kell töltenie a mintaformanyomtatvány megfelelő adatmezőit (I. és II. melléklet a klinikai (humán), illetve az állatgyógyászati minták esetében).

Ha a mintapapír formanyomtatvány papíralapú, azt műanyag zacskóba zárják, és a mintacsomagolásba helyezik. Ha ez egy táblázat, akkor titkosítva és erős jelszóval védve e-mailben elküldik a fogadó laboratóriumnak.

Általában a vírus kimutatására szánt mintáknak a gyűjtés után a lehető leghamarabb be kell érkezniük a laboratóriumba. A legtöbb klinikai minta esetében a javasolt szállítási idő legfeljebb 2 nap 2-8° C-on. Ha a szállítás az adott mintatípusra ajánlott szállítási időnél hosszabb ideig késik, a mintát -70 °C-on kell lefagyasztani. Amennyiben a mintákat közvetlenül DNS és/vagy RNS extrakciónak vetik alá előzetes feldolgozás, pl. centrifugálás nélkül, a mintákat lehetőség szerint -70° C-on (szárzajégen) fagyaszttva kell a laboratóriumba küldeni. Amennyiben a molekuláris módszerek alkalmazása előtt bakteriológiai elemzésre (tenyésztésre) van szükség, a mintát széklet vagy alsó légúti minták esetén 24 órán belül 4° C-on, illetve végbéltampon és felső légúti minták esetén szobahőmérsékleten kell a laboratóriumba szállítani.

(A WHO ideiglenes iránymutatása koronavírusos megbetegedés (COVID-19) gyanús humán esetek laboratóriumi vizsgálatára: (<https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>).

Ha a szállítási idő várhatóan rövidebb lesz, mint a maximálisan elfogadható, a mintát a szállításáig hűtőgél-csomagokra vagy 2-8° C-ra kell tenni, kivéve, ha másképp nem jelzik.

A mintát megfelelő tárolóedénybe kell csomagolni, amely megtartja az ajánlott hőmérsékletet (2-8° C vagy -70° C), és megfelel a B osztályú veszélyes anyagok szállítására vonatkozó helyi/nemzetközi előírásoknak.

A laboratóriumba érkezéskor a személyes adatokhoz való hozzáférésre jogosult elemző rögzíti a hőmérsékletet, és feljegyzi annak fizikai állapotát. Ennek megfelelően kitölti a mintaúrlap megfelelő mezőit.

A mintákat az eredmények elemzéséig megfelelő körülmények között, a jelzetteknek megfelelően kell tárolni.

A mintát el kell utasítani, ha:

A minták nem vagy tévesen vannak címkézve.

A minta hőmérséklete nem a minta típusának és a kért vizsgálatnak előírt tartományban van.

A mintagyűjtés és a minta átvétele között eltelt idő hosszabb, mint az ajánlott időtartam.

A mintatartály szivárog

A tartályon repedések vagy bármilyen sérülés látható.

A minta mennyisége kevesebb, mint az ajánlott

Az adatlap kötelező mezői nincsenek kitöltve

Elutasítás esetén a formanyomtatvány "A minta elutasításának okai" mezőjében meg kell jelölni az elutasítás pontos okát.

A (személyes adatokhoz való hozzáférésre jogosult) laboratóriumi elemző a vizsgálati folyamat indításakor kitölti a "Dátum és időpont, a a laboratóriumi vizsgálat megkezdésekor" mezőt. Ha a LIMS szoftver rendelkezésre áll, az összes metaadatot importálja.

Amikor az eredmények elkészültek, az űrlapot és a laboratóriumi leletet titkosítva és erős jelszóval védve e-mailben elküldik a járványügyi osztályra, vagy az adatok LIMS szoftveren keresztül is elérhetőek.

I. MELLÉKLET

Klinikai humán minták metaadatai

	Klinikai minta
1	Mintaazonosító vagy vonalkód*
2	A mintavétel dátuma és időpontja*
3	A minta típusa (pl. vér, orrgarati tampon stb.)*
4	A minta szállítási állapota (fagyasztva, hűtve, szobahőmérsékleten)*
5	A mintavétel helye (csak ország)*
6	Az elemzendő paraméterek listája*
7	A beteg neve és címe
8	A laboratóriumba érkezés dátuma és időpontja*
9	A minta hőmérséklete*
10	A minta elutasításának okai (igen/nem, leírás)*
11	Laboratóriumi azonosító*
12	A mintát átvevő személy neve*
13	A laboratóriumi elemzés megkezdésének dátuma és időpontja*
14	A mintavétel helye (pontos)
15	Páciens neve
16	A beteg életkora
17	A beteg neme
18	A beteg tünetei (ha vannak)
19	A tünetek kezdete (adott esetben)
20	Utazási anamnézis
21	Oltási státusz (adott esetben)
22	Társbetegségek
23	Gyógyszerek (ha van ilyen)
24	További információk a betegről

Az 1-7. és 14-24. adatmezőt a mintavételt végző személy tölti ki, míg a 8-14. adatmezőt a laboratóriumi személyzet (a csillaggal jelölt mezők kitöltése kötelező).

Vegye figyelembe, hogy a betegadat-mezők (14-24) a kórokozótól és az elemzés céljától függően módosulhatnak. A nem kötelezőnek feltüntetett mezők is kötelezővé válhatnak, ha például a beteg "kontaktuskövetésére" van szükség.

II. MELLÉKLET

Állatorvosi minták metaadatai

	Állatorvosi minta
1	Mintaazonosító vagy vonalkód*
2	A mintavétel dátuma és időpontja*
3	Állatfaj*
4	A minta típusa (pl. vizelet, széklet, biopszia stb.)*
5	További mintainformációk
6	Az elemzendő paraméterek listája*
7	A mintavétel helye vagy a gazdaság címe*
8	A laboratóriumba érkezés dátuma és időpontja*
9	A minta hőmérséklete*
10	A minta elutasításának okai*
11	Laboratóriumi azonosító*
12	A mintát átvevő személy neve*
13	A laboratóriumi elemzés megkezdésének dátuma és időpontja*
14	Az állat kora vagy neme
15	Állati tünetek (ha vannak)
16	A tünetek kezdete (adott esetben)
17	Gyógyszerek (ha van ilyen)
18	További információk az állatról

Az 1-8. és 14-18. adatmezőt a mintavételt végző személy tölti ki, míg a 8-13. adatmezőt a laboratóriumi személyzet (a csillaggal jelölt mezők kitöltése kötelező).

Megjegyzendő, hogy a (14-24) mezők a kórokozótól és az elemzés céljától függően változhatnak.

14.2 SOP - Vízminták

A közegészségügyi surveillance-ok keretében a különböző forrásokból származó viz- és a szennyvízmintákat rendszeres vizsgálatoknak vetik alá a minőségi paraméterek és a kórokozók jelenlétének felmérése céljából. Továbbá használhatóak a vízzel terjedő járványok forrásának felderítésére, járványügyi okokból végzettkórokozó-terhelés mérésére a közösségben, vagy antibiotikum-rezisztencia markerek kimutatására állattenyésztő gazdaságokban stb.

A mintavételt az ISO 19458:2006 és/vagy az alábbiakban felsorolt specifikus kórokozóknak megfelelő ISO-módszereknek megfelelően kell elvégezni (I. melléklet). A szennyvízalapú SARS-CoV-2 felügyeletet a WHO iránymutatásai szerint kell végezni, amelyek a <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1> oldalon található (hozzáférés: 2023-12-10).

A vízmintákat tiszta, steril palackokba kell gyűjteni, amelyek készülhetnek üvegből, mivel sterilizálás után újra felhasználhatók, vagy műanyagból. Az emberi fogyasztásra szánt víz mintavételére szánt palackoknak az anyagtól függetlenül nátrium-tioszulfátot (20 mg/l) kell tartalmazniuk a maradék klór semlegesítésére.

Ha nagy mennyiségű vízre van szükség (pl. Cryptosporidium, Norovírus), nagyobb tartályok is használhatók, de ezeknek mindig tisztának és sterilnek kell lenniük. Alternatív megoldásként a szűrés vagy ülepítés helyben is elvégezhető, hogy elkerülhetőek legyenek a nagy mennyiségű folyadék szállításával és hűtésével kapcsolatos nehézségek.

Ha a mintavételt a palack alámerítésével kell végezni, akkor azt kívül és belül sterilnek kell lennie, és a mintavételig megfelelő tárolóeszközben, pl. műanyag zacskóban vagy alumíniumfóliában kell tartani. A merítéshez a palackot steril kesztyűvel vagy steril eszközzel (pl. sterilizálható rúd vagy csipesz) kell megfogni.

Végső soron a mintavétel vízszivattyúkkal vagy a mintavétel céljára alkalmas speciális mintavevőkkel is végezhető. Az alkalmazott mintavételi módszertől függetlenül el kell kerülni a minta a mintavételi berendezésből vagy a környezetből adódó szennyeződését.

A szennyeződések megelőzése érdekében a mintavétel után a palackot le kell zárni, és a kupakot alumíniumfóliával vagy parafilmmel kell becsomagolni.

A mintát egy megfelelően jelölt maszkolószalaggal vagy vonalkódcsíkkal kell azonosítani.

A mintavételt végző személy kitölti a mintavételi úrlapon a megfelelő adatmezőket (II. melléklet).

Ha papíralapú az úrlap, akkor műanyag zacskóba kell zárni, és a mintacsomagolásba helyezni. Ha a nyomtatvány egy elektronikus táblázat, akkor azt e-mailben elküldik a fogadó laboratóriumnak.

A mintákat hűtve kell a laboratóriumba küldeni, és a minták hőmérsékletét ideális esetben $5\pm 3^\circ\text{C}$ -on kell tartani a vizsgálatig, kivéve, ha az adott kórokozó esetében más feltételek szükségesek.

A laboratóriumba érkezéskor a mintát átvevő személy rögzíti a hőmérsékletet és feljegyzi a minta fizikai állapotát. Ennek megfelelően kitölti a minta formanyomtatvány megfelelő rovatait. A mintákat a jelzetteknek megfelelően megfelelő körülmények között kell tárolni.

A mintát elutasítják, ha:

A minták nem vagy tévesen vannak címkézve.

A minta hőmérséklete meghaladja a 10°C -ot (kivéve, ha a megfelelő ISO-módszerben másként van meghatározva).

A mintavételtől számított idő hosszabb, mint az ajánlott

A mintatartály szivárog

A tartályokon repedések vagy bármilyen sérülés látható.

A minta mennyisége kisebb, mint az ajánlott

Az adatlap kötelező mezői nincsenek kitöltve

Elutasítás esetén a formanyomtatvány "A minta elutasításának okai" mezőjében meg kell jelölni az elutasítás pontos okát.

A laboratóriumi elemző a vizsgálat indításakor kitölti a "" Dátum és időpont, a a laboratóriumi vizsgálat megkezdésekor " mezőt. Ha a LIMS szoftver rendelkezésre áll, az összes metaadat importálásra kerül.

Amikor az eredmények elkészülnek, a nyomtatványt az eredményjelentéssel együtt e-mailben elküldik a járványügyi osztályra, vagy az adatok a LIMS szoftveren keresztül is elérhetők.

I. MELLÉKLET

Hivatalos iránymutatások a kórokozók kimutatására és/vagy mennyiségi meghatározására.

Baktériumtelepek izolálása a WGS elvégzéséhez:

ISO 11731:2017. Vízhinőség. A *Legionella* mennyiségi meghatározása

ISO 7899-2:2000 Vízhinőség. A bél-eredetű enterococcusok kimutatása és mennyiségi meghatározása. 2. rész: Membránszűrési módszer.

ISO 19250:2010 Vízhinőség - A *Salmonella* spp. kimutatása.

ISO 14189:2013 Vízhinőség - A *Clostridium perfringens* mennyiségi meghatározása - Membránszűréssel végzett módszer

ISO 9308-3:1998/Cor 1:2000 Vízhinőség - *Escherichia coli* és coliform baktériumok kimutatása és mennyiségi meghatározása - 3. rész: Miniaturizált módszer (legvalószínűbb szám) az *E. coli* kimutatására és mennyiségi meghatározására felszíni és szennyvízben - 1. módosítás.

ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016 Vízhinőség. *Escherichia coli* és coliform baktériumok mennyiségi meghatározása. 1. rész: Membránszűrési módszer kis baktériumszámú vizekhez. 1. módosítás.

ISO 6461-2:1986 Vízhinőség - A szulfitredukáló anaerobok (clostridiumok) spóráinak kimutatása és mennyiségi meghatározása - 2. rész: Membránszűrési módszer.

A kórokozók molekuláris kimutatására qPCR segítségével:

ISO/TS 12869:2019 Vízhinőség. A *Legionella* spp. és/vagy *Legionella pneumophila* kimutatása és mennyiségi meghatározása bekonzentrálással és kvantitatív polimeráz láncreakció (qPCR) alapú génamplifikációval.

"A SARS-CoV-2 környezeti surveillance más közegészségügyi surveillance rendszerek kiegészítésére" A legújabb iránymutatások a SARS-CoV-2 kimutatására és mennyiségi meghatározására szennyvízmintákban <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1>. Az eljárás alkalmazható más, széklettel ürülő vírusok, például influenzavírusok, RSV surveillance-ára.

Mivel a hivatalos molekuláris kimutatási módszerek korlátozottak, az ISO-dokumentumokban leírt koncentrációs módszerek alkalmazhatók, mint például az ISO 15553:2006 (Vízhinőség - *Cryptosporidium*

oociszták és *Giardia* ciszták izolálása és azonosítása vízből), és molekuláris kimutatás céljából a koncentrátumból nukleinsavat lehet izolálni.

Metagenomikai elemzéshez és/vagy szelektív teljes genom-amplifikációval végzett WGS-hez a DNS és/vagy RNS izolálható a koncentrált vagy a direkt mintából.

II. MELLÉKLET

A vízminták metaadatai

	Víz- vagy szennyvízminta
1	Mintaazonosító vagy vonalkód*
2	A mintavétel dátuma és időpontja*
3	A minta típusa (pl. szennyvíz, tóvíz, csapvíz stb.)*
4	További mintainformációk (felszíni mintavétel, mintavételi mélység stb.)
5	Az elemzendő paraméterek listája*
6	A mintavétel helye*
7	Link a járványhoz (ha alkalmazható)
8	A laboratóriumba érkezés dátuma és időpontja*
9	A minta hőmérséklete*
10	A minta elutasításának okai (igen/nem, leírás)*
11	Egyéb megjegyzések (ha vannak)
12	Laboratóriumi azonosító*
13	A mintát átvevő személy neve*
14	A laboratóriumi elemzés megkezdésének dátuma és időpontja*

Az 1-7. adatmezőt a mintavételt végző személy tölti ki, míg a 8-14. adatmezőt a laboratóriumi személyzet (a csillaggal jelölt mezők kitöltése kötelező).

14.3 SOP - Élelmiszerminták

Az élelmiszermintákat rendszeresen vizsgálják a közegészségügyi surveillance keretében és/vagy az élelmiszerral összefüggő járványkitörések kivizsgálásakor. A mintavételt az ISO/TS 17728:2015 és/vagy az alábbiakban felsorolt specifikus kórokozónak megfelelő ISO-módszereknek megfelelően kell elvégezni (I. melléklet).

A mintákat megfelelően kell gyűjteni és kezelni, és a mintázott tételre nézve reprezentatívnak kell lenniük. A mintavételi eljárásokat egységesen kell alkalmazni. A reprezentatív minta elengedhetetlen, ha a kórokozók vagy toxinok szórványosan oszlanak el az élelmiszerben. Az élelmiszertermék egy kijelölt tételéből vett reprezentatív mintát alkotó egységek számának statisztikailag szignifikánsnak kell lennie.

A mintaegységeknek legalább 100 gramm mintából kell állniuk, akár önmagukban, akár részekre bontva, pl. négy 25 grammos tartály is alkothat egy mintaegységet.

A mintaegységeket véletlenszerűen kell gyűjteni annak biztosítása érdekében, hogy a minta reprezentatív legyen a tételre nézve. A mintagyűjtéshez használt konténereknél üres mintatartályokat kell használni kontrollként.

A mintákat lehetőség szerint az eredeti, bontatlan csomagolásban kell elküldeni a laboratóriumba. Ha ez nem lehetséges, a reprezentatív adagokat steril tartályokba kell átvinni aseptikus körülmények között, sterilizált rozsdamentes acélkanál, csipesz, spatula és olló használatával.

A tartályoknak tisztának, száraznak, szivárgásmentesnek, széles szájúnak, sterilnek és a termékminták számára megfelelő méretűnek kell lenniük. Ahol szükséges, a tárolóedényeket (fémdobozok, konzervdobozok, zacskók, csomagok stb.) hermetikusan le kell zárni. Az üvegedényeket kerülni kell, hogy minimálisra csökkentsék a törés és az élelmiszertermék szennyeződésének veszélyét. A zsákokat nem szabad túltölteni, így elkerülhető a drótzáras megoldásnál, hogy a drót felsértse a zsákot.

A nem romlandó és környezeti hőmérsékleten gyűjtött száraz vagy konzervált élelmiszereket nem kell hűteni. A fagyasztott vagy hűtött termékeket jóváhagyott, szigetelt tárolóedényekben kell szállítani, hogy a hőmérséklet változatlan maradjon. A fagyasztott mintákat előhűtött tartályokban kell gyűjteni.

Minden mintaegységet megfelelően megjelölt maszkolószalaggal vagy vonalkódcsíkkal kell azonosítani. Vegye figyelembe, hogy a filctoll tintája áthatolhat a műanyag tartályon.

A mintavételt végző személy kitölti a mintaúrlapon a megfelelő adatmezőket.

Ha papíralapú az úrlap, akkor műanyag zacskóba kell zárni, és a mintacsomagolásba helyezni. Ha a nyomtatvány egy elektronikus táblázat, akkor azt e-mailben elküldik a fogadó laboratóriumnak.

A laboratóriumban fel kell jegyezni az egyes minták beérkezésének időpontját és dátumát. A fagyasztott mintákat mindig fagyasztva kell tartani. A tárolóedényeknek alkalmasnak kell lenniük a 0-4 °C-os hőmérséklet fenntartására a gyűjtéstől a laboratóriumba érkezésig minden hűtött minta esetében, kivéve a kagyló- és kagylóállományt. A hűtött termékeket nem szabad lefagyasztani, és vizsgálatukat a mintavételtől számított 36 órán belül el kell kezdeni, hacsak nincs más előírás. A héj nélküli kagylókat fagyponthoz felett, de 10° C alatt kell tartani, és a gyűjtéstől számított 6 órán belül, de legfeljebb 24 órán belül meg kell vizsgálni.

Amint a minta megérkezik a laboratóriumba, az elemzőnek fel kell jegyeznie a minta általános fizikai állapotát és fel kell jegyeznie a hőmérsékletet. A mintavételi tartályokat ellenőrizni kell a durva fizikai sérülések miatt. A műanyag zacskókat és palackokat meg kell vizsgálni szakadások, lyukak és szúrásnyomok szempontjából. Ha a mintaegységeket műanyag palackokba gyűjtötték, a palackokat

ellenőrizni kell törések és laza fedelek tekintetében. Ha a mintavételhez műanyag zacskókat használtak, a csavarodó drótok nem lyukaszthatják ki a környező zacskókat.

A mintát elutasítják, ha:

A minta hőmérséklete nem a fent megadottak szerint alakul

A mintavételtől számított idő hosszabb, mint az ajánlott

A mintatartály szivárog

A tartályokon látható repedések vagy bármilyen sérülés látható.

A minta mennyisége kevesebb, mint az ajánlott

Az adatlap kötelező mezői nincsenek kitöltve

Elutasítás esetén a formanyomtatvány "A minta elutasításának okai" mezőjében meg kell jelölni az elutasítás pontos okát.

Ha a mintát nem lehet azonnal elemezni, akkor a vizsgálatig -20 °C-on (már fagyasztott minták) vagy 0-4 °C-on (fagyasztatlan, hűtve tárolt, romlandó minták) kell tárolni, de legfeljebb 36 órán keresztül. A nem romlandó, konzervált vagy alacsony nedvességtartalmú élelmiszereket a vizsgálatig szobahőmérsékleten kell tárolni.

A kért vizsgálatoktól függően a minták feldolgozása különböző ISO-módszerekkel, illetve a nemzetközi vagy nemzeti hatóságok által a minta feldolgozására vonatkozóan kiadott ajánlások szerint történik.

A laboratóriumi elemző az elemzési eljárás indításakor kitölti a " Dátum és időpont, a a laboratóriumi vizsgálat megkezdésekor " mezőt. Ha a LIMS szoftver rendelkezésre áll, az összes metaadat importálásra kerül.

Amikor az eredmények elkészülnek, a nyomtatványt az eredményjelentéssel együtt e-mailben elküldik a járványügyi osztályra, vagy az adatok a LIMS szoftveren keresztül is elérhetők.

I. MELLÉKLET

Hivatalos iránymutatások a kórokozók kimutatására és/vagy számbavételére.

Baktériumtelepek izolálásához a WGS elvégzéséhez:

ISO 23418:2022 Az élelmiszerlánc mikrobiológiája - Teljes genomszekvenálás a baktériumok tipizálására és genomikai jellemzésére - Általános követelmények és útmutató

ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *salmonella* kimutatására, mennyiségi meghatározására és szerotipizálására. 1. rész: *Salmonella* spp. kimutatása. 1. módosítás: Az inkubációs hőmérsékletek szélesebb tartománya, a D. melléklet státuszának módosítása, valamint az MSRV és az SC összetételének korrekciója.

ISO 6579-1:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *salmonella* kimutatására, mennyiségi meghatározására és szerotipizálására. 1. rész: A *Salmonella* spp. kimutatása.

ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a koaguláz-pozitív staphylococcusok (*Staphylococcus aureus* és más fajok) mennyiségi meghatározására. 1. rész: Baird-Parker agar táptalajon végzett módszer. 1. módosítás.

ISO 6888-2:2021/Amd 1:2023. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a koaguláz-pozitív staphylococcusok (*Staphylococcus aureus* és más fajok) mennyiségi meghatározására. 2. rész: Nyúlplazma-fibrinogén agar táptalajon végzett módszer. 1. módosítás.

ISO 7251:2005/Amd 1:2023. Élelmiszerek és állati takarmányok mikrobiológiája - Horizontális módszer a feltételezett *Escherichia coli* kimutatására és mennyiségi meghatározására - Legvalószínűbb szám technika - 1. módosítás: A táptalajok és reagensek teljesítményvizsgálatának felvétele.

ISO 7932:2004. Élelmiszerek és állati takarmányok mikrobiológiája. Horizontális módszer a feltételezett *Bacillus cereus* mennyiségi meghatározására. 30 °C-on végzett kolóniaszámlálós módszer.

ISO 10272-2:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Campylobacter* spp. kimutatására és mennyiségi meghatározására. 2. rész: Telepszámlálási technika.

ISO 10273:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a patogén *Yersinia enterocolitica* kimutatására.

ISO 11290-1:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Listeria monocytogenes* és a *Listeria* spp. kimutatására és mennyiségi meghatározására. 1. rész: Kimutatási módszer

ISO 11290-2:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Listeria monocytogenes* és a *Listeria* spp. kimutatására és mennyiségi meghatározására. 2. rész: mennyiségi meghatározás módszere.

ISO 21528-1:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer az Enterobacteriaceae kimutatására és mennyiségi meghatározására. 1. rész: Enterobacteriaceae kimutatása

ISO 21528-2:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer az Enterobacteriaceae kimutatására és mennyiségi meghatározására. 2. rész: Telepszámlálási technika.

ISO 21567:2004. Élelmiszerek és állati takarmányok mikrobiológiája - Horizontális módszer a *Shigella* spp. kimutatására.

ISO 15213-2:2023. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Clostridium* spp. kimutatására és mennyiségi meghatározására. 2. rész: A *Clostridium perfringens* megszámlálása telepszámlálási technikával.

ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a *Campylobacter* spp. kimutatására és mennyiségi meghatározására. 1. rész: Kimutatási módszer. 1. módosítás: A termotoleráns *Campylobacter* spp. molekuláris megerősítésére és azonosítására szolgáló módszerek felvétele, a Preston-lében lévő növekedési kiegészítő használata és a táptalajok teljesítményvizsgálatának változásai.

ISO 11866-2:2005. Tej és tejtermékek. A feltételezett *Escherichia coli* mennyiségi meghatározása. 2. rész: Telepszámlálási technika 44 °C-on, membránok használatával.

A kórokozók molekuláris kimutatása qPCR segítségével:

ISO 22174:2005. Élelmiszerek és állati takarmányok mikrobiológiája - Polimeráz láncreakció (PCR) az élelmiszerrel terjedő kórokozók kimutatására - Általános követelmények és fogalom meghatározások.

ISO/TS 13136:2012. Élelmiszerek és állati takarmányok mikrobiológiája. Valós idejű polimeráz láncreakción (PCR) alapuló módszer az élelmiszer eredetű kórokozók kimutatására. Horizontális módszer a Shiga toxint termelő *Escherichia coli* (STEC) kimutatására és az O157, O111, O26, O103 és O145 szerocsoportok meghatározására.

ISO/TS 18867:2015. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Polimeráz láncreakció (PCR) az élelmiszerrel terjedő kórokozók kimutatására. A patogén *Yersinia enterocolitica* és *Yersinia pseudotuberculosis* kimutatása.

ISO 15216-2:2019. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a hepatitis A vírus és a norovírus meghatározására valós idejű RT-PCR segítségével. 2. rész: Kimutatási módszer.

ISO/TS 17919:2013. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Polimeráz láncreakció (PCR) az élelmiszerrel terjedő kórokozók kimutatására. A, B, E és F típusú botulinum neurotoxint termelő clostridiumok kimutatása.

ISO 15216-1:2017. Az élelmiszerlánc mikrobiológiája. Horizontális módszer a hepatitis A vírus és a norovírus meghatározására valós idejű RT-PCR segítségével. 1. rész: Kvantitatív módszer

Mivel a hivatalos molekuláris kimutatási módszerek korlátozottak, az ISO-dokumentumokban leírt módszerek alkalmazhatók, mint például az ISO 18744:2016 (Az élelmiszerlánc mikrobiológiája - A *Cryptosporidium* és a *Giardia* kimutatása és mennyiségi meghatározása friss zöld leveles zöldségekben és bogyós gyümölcsökben), és mikroszkópia helyett az eluátumból nukleinsavakat izolálnak a molekuláris kimutatáshoz.

A metagenomikai elemzéshez és/vagy a szelektív teljes genom-amplifikációval végzett WGS-hez a DNS és/vagy RNS közvetlenül a mintából izolálható.

II. MELLÉKLET

Élelmiszer-minták metaadatai

	Élelmiszer-minta
1	Mintaazonosító vagy vonalkód*
2	A mintavétel dátuma és időpontja*
3	A minta típusa/faj (pl. szarvasmarhahús, csirke, kagyló stb.)*
4	A minta állapota (fagyasztva, hűtve stb.)*
5	További mintainformációk (pl. márkanev)
6	Az elemzendő paraméterek listája*
7	A mintavétel helye*
8	Link a járványhoz (ha alkalmazható)
9	A laboratóriumba érkezés dátuma és időpontja*
10	A minta hőmérséklete*
11	A minta elutasításának okai (igen/nem, leírás)*
12	Egyéb megjegyzések (ha vannak)
13	Laboratóriumi azonosító*
14	A mintát átvevő személy neve*
15	A laboratóriumi elemzés megkezdésének dátuma és időpontja*

Az 1-8. adatmezőt a mintavételt végző személy tölti ki, míg a 9-15. adatmezőt a laboratóriumi személyzet (a csillaggal jelölt mezők kitöltése kötelező).

15. Greek translation

15.1 SOP – Κλινικά (και κτηνιατρικά) δείγματα

Η εργαστηριακή εξέταση κλινικών και κτηνιατρικών δειγμάτων πραγματοποιείται στα Εργαστήρια Δημόσια Υγείας με σκοπό την επιτήρηση, την διερεύνηση επιδημιών και για διαγνωστικούς λόγους.

Η λήψη των κλινικών δειγμάτων περιγράφεται σε διάφορα εγχειρίδια όπως “J. Michael Miller, Ph.D. Handbook of Specimen Collection and Handling in Microbiology. Second Edition. 1985”, “WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks (διαθέσιμο στην διαδικτυακή διεύθυνση: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/66348/WHO_CDS_CSR_EDC_2000.4.pdf), “Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (διαθέσιμο στην διαδικτυακή διεύθυνση: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WHE-IHM-GIP-2018.2>)” and “Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th Edition”.

Η λήψη κτηνιατρικών δειγμάτων περιγράφεται στο “Bildfell R. Collection and submission of laboratory samples from animals. Merck Veterinary Manual” (διαθέσιμο στην διαδικτυακή διεύθυνση: merckvetmanual.com/clinical-pathology-and-procedures/collection-and-submission-of-laboratory-samples/collection-and-submission-of-laboratory-samples-from-animals), προσπελάστηκε τον November 2023.

Τα κλινικά δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται από ένα ιατρό (ή κτηνίατρο στην περίπτωση ζωικού δείγματος), ή κάποιο άλλο ικανό και εξουσιοδοτημένο προσωπικό. Τα δείγματα πρέπει να τίθενται σε κατάλληλους περιέκτες με μέγεθος ανάλογο του μεγέθους του δείγματος. Θα πρέπει δε να σημαίνονται με κατάλληλα σημασμένη ετικέτα ή ετικέτα ραβδοκώδικα.

Το προσωπικό που είναι υπεύθυνο για την δειγματοληψία θα πρέπει να συμπληρώσει τα σχετικά πεδία δεδομένων για το δείγμα στην φόρμα δειγματοληψίας (Παραρτήματα I και II για κλινικά και κτηνιατρικά δείγματα αντίστοιχα).

Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε έντυπη μορφή, σφραγίζεται σε πλαστική σακούλα και εισάγεται στην συσκευασία που περιέχει το δείγμα. Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε ψηφιακή μορφή, αποστέλλεται κρυπτογραφημένη και ασφαλισμένη με ισχυρό κωδικό με μήνυμα ηλεκτρονικής αλληλογραφίας στο εργαστήριο που θα αποσταλεί και το δείγμα.

Γενικά, τα δείγματα για ανίχνευση ιών θα πρέπει να φτάνουν στο εργαστήριο όσο το δυνατόν ταχύτερα μετά την δειγματοληψία. Για την πλειονότητα των κλινικών δειγμάτων ο συνιστώμενος χρόνος μεταφοράς είναι το πολύ 2 ημέρες σε θερμοκρασία 2-8 °C. Εάν η παράδοση στο εργαστήριο θα καθυστερήσει για μεγαλύτερο χρόνο από τον συνιστώμενο, το δείγμα θα πρέπει καταψυχθεί σε θερμοκρασία -70 °C. Στην περίπτωση που το δείγμα θα χρησιμοποιηθεί άμεσα για εκχύλιση DNA ή/και RNA χωρίς να προηγηθεί κάποια άλλη κατεργασία, π.χ. φυγοκέντρηση, θα πρέπει να αποστέλλεται στο εργαστήριο παγωμένο σε θερμοκρασία -70 °C (σε ξηρό πάγο), όποτε είναι δυνατό. Στην περίπτωση που στο δείγμα θα πρέπει να προηγηθεί μικροβιολογική ανάλυση (καλλιέργεια), πριν την εφαρμογή μοριακών μεθόδων, το δείγμα πρέπει να παραδίδεται στο εργαστήριο εντός 24 ωρών σε θερμοκρασία 4 °C για δείγματα του κατώτερου αναπνευστικού ή δείγματα κοπράνων, ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για δείγματα ορθικού επιχρίσματος και δείγματα από το ανώτερο αναπνευστικό.

(WHO Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance (<https://www.who.int/publications/i/item/10665-331501>).

Εάν ο χρόνος παράδοσης αναμένεται να είναι μικρότερος του μέγιστου αποδεκτού, το δείγμα συσκευάζεται με ψυχρά gel packs, ή σε θερμοκρασία 2-8 °C έως την αποστολή, εκτός αν ενδείκνυται διαφορετικά για το συγκεκριμένο δείγμα.

Το δείγμα συσκευάζεται σε κατάλληλους περιέκτες που διατηρούν την συνιστώμενη θερμοκρασία (2-8 °C or -70 °C) και είναι σύμφωνα με του διεθνείς και τοπικούς κανονισμούς που αφορούν την μεταφορά επικίνδυνων υλικών class B.

Με την άφιξη στο εργαστήριο ένας αναλυτής που είναι εξουσιοδοτημένος να επεξεργάζεται προσωπικά δεδομένα, καταγράφει την θερμοκρασία του δείγματος, σημειώνει την φυσική του κατάσταση και τα καταγράφει στα σχετικά πεδία της φόρμας δειγματοληψίας.

Τα δείγματα αποθηκεύονται σε κατάλληλες συνθήκες, όπως ενδείκνυται, μέχρι την ανάλυση στο εργαστήριο.

Το δείγμα απορρίπτεται και δεν εξετάζεται εάν:

Τα δείγματα δεν φέρουν σήμανση ή η σήμανση δεν είναι ορθή.

Η θερμοκρασία του δείγματος δεν είναι η ενδεικνυόμενη για το είδος του δείγματος και την αιτούμενη εξέταση.

Ο χρόνος μεταξύ της λήψης του δείγματος και της παραλαβής στο εργαστήριο είναι μεγαλύτερος του συνιστώμενου

Ο περιέκτης του δείγματος έχει διαρροή

Υπάρχουν ορατές ρωγμές ή άλλης μορφής ζημιές στον περιέκτη

Ο όγκος του δείγματος είναι μικρότερος του συνιστώμενου

Τα πεδία υποχρεωτικής συμπλήρωσης στην φόρμα δείγματος δεν έχουν συμπληρωθεί

Εάν το δείγμα απορριφθεί στο πεδίο «Λόγοι απόρριψης του δείγματος» της φόρμας δειγματοληψίας θα πρέπει να αναγραφεί ο ακριβής λόγος απόρριψης του δείγματος.

Ο αναλυτής του εργαστηρίου (που θα πρέπει να είναι εξουσιοδοτημένος να επεξεργάζεται προσωπικά δεδομένα) συμπληρώνει το πεδίο «Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος», μόλις θα ξεκινήσει η διαδικασία ανάλυσης του δείγματος. Εάν είναι διαθέσιμο στο εργαστήριο λογισμικό LIMS, εισαγάγει όλα τα δεδομένα του δείγματος από την φόρμα δειγματοληψίας.

Όταν έχουν παραχθεί τα αποτελέσματα, η φόρμα δειγματοληψίας και το αποτέλεσμα αποστέλλονται μέσω ηλεκτρονικής αλληλογραφίας κρυπτογραφημένα και ασφαλισμένα με ισχυρό κωδικό στο Τμήμα Επιδημιολογίας, ή άλλως τα δεδομένα μπορεί να είναι διαθέσιμα μέσω του λογισμικού LIMS.

Παράρτημα Ι

Μεταδεδομένα για κλινικά (ανθρώπινα) δείγματα

	Κλινικό δείγμα
1	Αριθμός δείγματος ή ραβδοκώδικας*
2	Ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας*
3	Είδος δείγματος (π.χ. αίμα, ρινοφαρυγγικό επίχρισμα κλπ)*
4	Συνθήκες μεταφοράς δείγματος (παγωμένο, απλή ψύξη, θερμοκρασία περιβάλλοντος)*
5	Τοποθεσία λήψης δείγματος (μόνο χώρα)*
6	Αιτούμενες εξετάσεις*
7	Όνοματεπώνυμο και διεύθυνση ασθενούς
8	Ημερομηνία και ώρα άφιξης στο εργαστήριο*
9	Θερμοκρασία δείγματος*
10	Λόγοι απόρριψης του δείγματος (Ναι/Όχι, αιτιολόγηση)*
11	Αριθμός εργαστηρίου*
12	Όνοματεπώνυμο του ατόμου που πραγματοποίησε την δειγματοληψία*
13	Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος*
14	Τοποθεσία λήψης του δείγματος (ακριβής)
15	Όνοματεπώνυμο ασθενούς
16	Ηλικία ασθενούς
17	Φύλο του ασθενούς
18	Συμπτώματα του ασθενούς (εάν παρουσιάζει)
19	Έναρξη των συμπτωμάτων (εάν υπάρχουν)
20	Ταξιδιωτικό ιστορικό
21	Κατάσταση εμβολιασμού (εάν υπάρχει)
22	Συν νοσηρότητα
23	Λήψη φαρμάκων (εάν υπάρχει)
24	Πρόσθετες πληροφορίες για τον ασθενή

Τα πεδία 1-7 και 14-24 συμπληρώνονται από τον δειγματολήπτη, ενώ τα πεδία 8-14 συμπληρώνονται από το προσωπικό του εργαστηρίου (τα πεδία με αστερίσκο είναι υποχρεωτικά).

Σημειώνεται ότι τα πεδία που αφορούν δεδομένα του ασθενή (14-24) υπόκειται σε μεταβολές ανάλογα με το προς αναζήτηση παθογόνο και τον σκοπό της ανάλυσης. Επίσης πεδία τα οποία δεν είναι υποχρεωτικά μπορεί να καταστούν υποχρεωτικά εάν για παράδειγμα απαιτείται «ιχνηλάτηση των επαφών» του ασθενούς.

Παράρτημα II

Μεταδεδομένα για κτηνιατρικά δείγματα

	Κτηνιατρικό δείγμα
1	Αριθμός δείγματος ή ραβδοκώδικας *
2	Ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας *
3	Είδος ζώου*
4	Είδος δείγματος (π.χ. ούρα, κόπρανα, βιοψία κλπ.)*
5	Πρόσθετες πληροφορίες για το δείγμα
6	Αιτούμενες εξετάσεις *
7	Τοποθεσία λήψης δείγματος ή διεύθυνση του αγροκτήματος*
8	Ημερομηνία και ώρα άφιξης στο εργαστήριο*
9	Θερμοκρασία δείγματος*
10	Λόγοι απόρριψης του δείγματος *
11	Αριθμός εργαστηρίου *
12	Όνοματεπώνυμο του ατόμου που παρέλαβε το δείγμα*
13	Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος*
14	Ηλικία ζώου και φύλο
15	Συμπτώματα του ζώου (εάν παρουσιάζει)
16	Έναρξη των συμπτωμάτων (εάν υπάρχουν)
17	Λήψη φαρμάκων (εάν υπάρχει)
18	Πρόσθετες πληροφορίες για το ζώο

Τα πεδία 1-8 και 14-18 συμπληρώνονται από τον δειγματολήπτη, ενώ τα 8-13 συμπληρώνονται από το προσωπικό του εργαστηρίου (τα πεδία με αστερίσκο είναι υποχρεωτικά).

Σημειώνεται ότι τα πεδία (14-24) υπόκεινται σε αλλαγές ανάλογα με το παθογόνο και τον σκοπό της ανάλυσης.

15.2 SOP – Δείγματα ύδατος

Δείγματα ύδατος από διάφορες πηγές και δείγματα αποβλήτων (λύματα) υπόκεινται σε τακτικούς ελέγχους για να εκτιμηθούν ποιοτικοί παράμετροι και η παρουσία παθογόνων για την επιτήρηση της Δημόσιας Υγείας. Επίσης δείγματα ύδατος είναι χρήσιμα για την ανίχνευση της πηγής προέλευσης υδατογενών επιδημιών, ή για την ανίχνευση δεικτών ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά, την μέτρηση του φορτίου παθογόνων στην κοινότητα κλπ.

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται βάσει της μεθόδου ISO 19458:2006 και ή των μεθόδων ISO που αντιστοιχούν στο υπό εξέταση παθογόνο, όπως αναφέρονται κάτωθι (Παράρτημα I). Η επιτήρηση για τον ιό SARS-CoV-2 βάσει μετρήσεων σε λύματα θα πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, οι οποίες διατίθενται στην διαδικτυακή διεύθυνση <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1> (προσπελάσθηκε την 2023-12-10)

Τα δείγματα ύδατος θα πρέπει να συλλέγονται σε καθαρές αποστειρωμένες φιάλες, οι οποίες μπορεί να είναι κατασκευασμένες από γυαλί, οπότε και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μετά από αποστείρωση, ή από πλαστικό υλικό. Ανεξαρτήτως του υλικού, οι φιάλες που προορίζονται για δειγματοληψία ύδατος ανθρώπινης κατανάλωσης θα πρέπει να περιέχουν θειοθειικό νάτριο (20mg/L) για την εξουδετέρωση του υπολλειματικού χλωρίου.

Εάν απαιτείται μεγάλος όγκος ύδατος (όπως για παράδειγμα για ανίχνευση Κρυπτοσποριδίου ή Νοροϊού), μπορούν να χρησιμοποιηθούν μεγάλοι περιέκτες, που σε κάθε περίπτωση πρέπει να είναι καθαροί και αποστειρωμένοι. Εναλλακτικά φιλτράρισμα ή καταβύθιση μπορούν να πραγματοποιηθούν επί τόπου για να αποφευχθούν οι δυσκολίες που σχετίζονται με την μεταφορά και ψύξη μεγάλων όγκων υγρών.

Εάν η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιηθεί με βύθιση της φιάλης, η φιάλη θα πρέπει να είναι στείρα και στο εξωτερικό και να περιέχεται σε κατάλληλο περιέκτη, όπως σε πλαστική σακούλα ή αλουμινόχαρτο, μέχρι την χρησιμοποίησή της. Κατά την βύθιση η φιάλη πρέπει να κρατείται με αποστειρωμένα γάντια ή αποστειρωμένο εργαλείο (π.χ. ράβδους ή λαβίδες).

Τελικώς, η δειγματοληψία μπορεί να πραγματοποιηθεί με χρήση αντλιών ύδατος ή ειδικούς δειγματολήπτες κατάλληλους για την διαδικασία της δειγματοληψίας. Ανεξαρτήτως της μεθόδου δειγματοληψίας που θα εφαρμοστεί, θα πρέπει να αποφευχθεί η μόλυνση του δείγματος από τον εξοπλισμό δειγματοληψίας.

Μετά την δειγματοληψία η φιάλη σφραγίζεται και το πώμα τυλίγεται με αλουμινόχαρτο ή parafilm για να αποφευχθεί η επιμόλυνση.

Το δείγμα θα πρέπει να σημαίνεται με κατάλληλα σημασμένη ετικέτα ή ετικέτα ραβδοκώδικα.

Το προσωπικό που πραγματοποίησε την δειγματοληψία θα πρέπει να συμπληρώσει τα σχετικά πεδία δεδομένων για το δείγμα στην φόρμα δειγματοληψίας (Παράρτημα II).

Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε έντυπη μορφή, σφραγίζεται σε πλαστική σακούλα και εισάγεται στην συσκευασία που περιέχει το δείγμα. Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε ψηφιακή μορφή, αποστέλλεται με μήνυμα ηλεκτρονικής αλληλογραφίας στο εργαστήριο που θα αποσταλεί και το δείγμα.

Τα δείγματα θα πρέπει να αποστέλλονται στο εργαστήριο ψυχρά, και η θερμοκρασία του δείγματος ιδανικά πρέπει να διατηρείται στους 5 ± 3 °C έως την ανάλυση, εκτός και αν συνιστώνται άλλες συνθήκες για το συγκεκριμένο παθογόνο για το οποίο αιτείται εξέταση.

Με την άφιξη στο εργαστήριο ο εργαζόμενος που παραλαμβάνει το δείγμα μετρά την θερμοκρασία του δείγματος, παρατηρεί την φυσική του κατάσταση και καταγράφει τις παρατηρήσεις του στην φόρμα δειγματοληψίας. Τα δείγματα αποθηκεύονται στο εργαστήριο όπως συνίσταται.

Το δείγμα απορρίπτεται και δεν εξετάζεται εάν:

Τα δείγματα δεν φέρουν σήμανση ή η σήμανση δεν είναι ορθή.

Η θερμοκρασία του δείγματος είναι μεγαλύτερη των 10 °C (εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά στην αντίστοιχη μέθοδο ISO).

Ο χρόνος μεταξύ της λήψης του δείγματος και της παραλαβής στο εργαστήριο είναι μεγαλύτερος του συνιστώμενου

Ο περιέκτης του δείγματος έχει διαρροή

Υπάρχουν ορατές ρωγμές ή άλλης μορφής ζημιές στον περιέκτη

Ο όγκος του δείγματος είναι μικρότερος του συνιστώμενου

Τα πεδία υποχρεωτικής συμπλήρωσης στην φόρμα δείγματος δεν έχουν συμπληρωθεί

Εάν το δείγμα απορριφθεί στο πεδίο «Λόγοι απόρριψης του δείγματος» της φόρμας δειγματοληψίας θα πρέπει να αναγραφεί ο ακριβής λόγος απόρριψης του δείγματος.

Ο αναλυτής του εργαστηρίου συμπληρώνει το πεδίο «Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος», όταν εκκινήσει την ανάλυση. Εάν είναι διαθέσιμο λογισμικό LIMS software εισάγονται όλα τα μεταδεδομένα του δείγματος.

Όταν έχουν παραχθεί τα αποτελέσματα, η φόρμα δειγματοληψίας και το αποτέλεσμα αποστέλλονται μέσω ηλεκτρονικής αλληλογραφίας στο Τμήμα Επιδημιολογίας, ή άλλως τα δεδομένα μπορεί να είναι διαθέσιμα μέσω του λογισμικού LIMS.

Παράρτημα Ι

Επίσημες οδηγίες για την ανίχνευση και/ή καταμέτρηση παθογόνων

Για απομόνωση αποικιών προκειμένου να πραγματοποιηθεί WGS:

ISO 11731:2017. Water quality. Enumeration of *Legionella*

ISO 7899-2:2000 Water quality — Detection and enumeration of intestinal enterococci — Part 2: Membrane filtration method

ISO 19250:2010 Water quality — Detection of *Salmonella* spp.

ISO 14189:2013 Water quality — Enumeration of *Clostridium perfringens* — Method using membrane filtration

ISO 9308-3:1998/Cor 1:2000 Water quality — Detection and enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 3: Miniaturized method (Most Probable Number) for the detection and enumeration of *E. coli* in surface and wastewater — Technical Corrigendum 1

ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016 Water quality — Enumeration of *Escherichia coli* and coliform bacteria — Part 1: Membrane filtration method for waters with low bacterial background flora — Amendment 1

ISO 6461-2:1986 Water quality — Detection and enumeration of the spores of sulfite-reducing anaerobes (clostridia) — Part 2: Method by membrane filtration

Για μοριακή ανίχνευση παθογόνων με qPCR:

ISO/TS 12869:2019 Water quality. Detection and quantification of *Legionella* spp. and/or *Legionella pneumophila* by concentration and genic amplification by quantitative polymerase chain reaction (qPCR).

“Environmental surveillance for SARS-CoV-2 to complement other public health surveillance” The most recent guidelines for SARS-CoV-2 detection and enumeration in Wastewater samples (<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/372995/9789240080638-eng.pdf?sequence=1>). The procedure may be used for surveillance of other viruses shed in feces, such as influenza viruses, RSV.

Καθώς επίσημες μέθοδοι για την μοριακή ανίχνευση παθογόνων είναι περιορισμένες, οι μέθοδοι συγκέντρωση των παθογόνων οι οποίες περιγράφονται σε αρχεία ISO μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όπως η οδηγία ISO 15553:2006 (Water quality — Isolation and identification of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts from water) και από το συγκεντρωμένο δείγμα απομονώνονται νουκλεϊκά οξέα για να πραγματοποιηθεί μοριακή ανίχνευση.

Για μεταγενωμική ανάλυση και/ή επιλεκτική ανίχνευση όλου του γονιδιώματος, μπορεί να απομονωθεί DNA και/ή RNA από συγκεντρωμένα δείγματα ή άμεσα από το δείγμα.

Παράρτημα II

Μεταδεδομένα για δείγματα ύδατος

	Δείγμα ύδατος ή λύματος
1	Αριθμός δείγματος ή ραβδοκώδικας *
2	Ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας *
3	Είδος δείγματος (π.χ. λύμα, νερό λίμνης, νερό δικτύου ύδρευσης κλπ.)*
4	Πρόσθετες πληροφορίες για το δείγμα (δειγματοληψία επιφάνειας, βάθος δειγματοληψίας κλπ.)
5	Αιτούμενες εξετάσεις *
6	Τοποθεσία δειγματοληψίας*
7	Σύνδεση με επιδημία (εάν υπάρχει)
8	Ημερομηνία και ώρα άφιξης στο εργαστήριο *
9	Θερμοκρασία δείγματος*
10	Λόγοι απόρριψης του δείγματος (Ναι/Όχι, περιγραφή)*
11	Άλλες παρατηρήσεις (εάν υπάρχουν)
12	Αριθμός εργαστηρίου*
13	Όνοματεπώνυμο του ατόμου που παρέλαβε το δείγμα*
14	Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος*

Τα πεδία 1-7 συμπληρώνονται από τον δειγματολήπτη, ενώ τα πεδία 8-14 συμπληρώνονται από το προσωπικό του εργαστηρίου (τα πεδία με αστερίσκο είναι υποχρεωτικά).

15.3 SOP – Δείγματα τροφής

Δείγματα τροφής ελέγχονται τακτικά για επιτήρηση της Δημόσιας Υγείας και/ή κατά την διερεύνηση τροφιμογενών επιδημιών. Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με το ISO/TS 17728:2015 και/ή μεθόδων ISO οι οποίες αντιστοιχούν σε συγκεκριμένα παθογόνα, οι οποίες αναφέρονται κάτωθι (Παράρτημα I).

Τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται ορθά και ο χειρισμός τους να είναι ο ενδεδειγμένος και να είναι αντιπροσωπευτικά του συνόλου της παρτίδας του τρόφιμου. Οι διαδικασίες δειγματοληψίας πρέπει να εφαρμόζονται ομοιογενώς. Είναι σημαντικό το δείγμα να είναι αντιπροσωπευτικό όταν παθογόνα ή τοξίνες είναι διεσπαρμένες στο τρόφιμο. Το μέγεθος του δείγματος ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό πρέπει να εκτιμάται στατιστικά σημαντικό.

Το δείγμα πρέπει να είναι τουλάχιστον 100gr είτε ως ένα δείγμα είτε ως σύνολο επιμέρους δειγμάτων, για παράδειγμα τέσσερις περιέκτες με δείγματα 25 g θα πρέπει να αποτελούν ένα δείγμα.

Τα επί μέρους δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται τυχαία, ώστε να εξασφαλίζεται ότι το δείγμα είναι αντιπροσωπευτικό του συνόλου. Κενοί περιέκτες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως μάρτυρες, όταν χρησιμοποιούνται περιέκτες για συλλογή των δειγμάτων.

Τα δείγματα θα πρέπει να αποστέλλονται στο εργαστήριο στους αρχικούς κλειστούς περιέκτες, εφόσον είναι αυτό δυνατόν. Εάν δεν είναι δυνατόν, αντιπροσωπευτικές μερίδες θα πρέπει να μεταφέρονται σε στείρους περιέκτες υπό συνθήκες ασηψίας χρησιμοποιώντας αποστειρωμένα και κατασκευασμένα από ανοξείδωτο χάλυβα κοχλιάρια, λαβίδες, σπάτουλες και ψαλίδια.

Οι περιέκτες πρέπει να είναι καθαροί, στεγνοί, να μην παρουσιάζουν διαρροές, με ευρύ άνοιγμα, αποστειρωμένοι και με μέγεθος κατάλληλο για το δείγμα της τροφής. Όπου είναι αναγκαίο, οι περιέκτες (μεταλλικά δοχεία, κάνιστρα, σακούλες κλπ.) θα πρέπει να κλείνονται ερμητικά. Οι υάλινοι περιέκτες θα πρέπει να αποφεύγονται για να μειωθεί ο κίνδυνος θραύσης και επιμόλυνσης του δείγματος. Οι σακούλες επίσης δεν πρέπει να υπερπληρούνται για να αποφευχθεί το τρύπημα.

Ξηρές ή κονσερβοποιημένες τροφές, οι οποίες δεν υπόκεινται σε αλλοίωση και συλλέγονται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, δεν χρειάζεται να ψύχονται. Οι ψυχθείσες ή κατεψυγμένες τροφές θα πρέπει να μεταφέρονται σε εγκεκριμένους περιέκτες ώστε να διατηρούν αμετάβλητη την θερμοκρασία τους. Ιδιαίτερα τα κατεψυγμένα τρόφιμα θα πρέπει να συλλέγονται σε προκατεψυγμένους περιέκτες.

Το δείγμα θα πρέπει να σημαίνεται με κατάλληλα σημασμένη ετικέτα ή ετικέτα ραβδοκώδικα. Προσοχή στις πλαστικές συσκευασίες διότι μπορεί να τρυπηθούν από στυλό ή μαρκαδόρο.

Το προσωπικό που πραγματοποίησε την δειγματοληψία θα πρέπει να συμπληρώσει τα σχετικά πεδία δεδομένων για το δείγμα στην φόρμα δειγματοληψίας (Παράρτημα II).

Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε έντυπη μορφή, σφραγίζεται σε πλαστική σακούλα και εισάγεται στην συσκευασία που περιέχει το δείγμα. Εάν η φόρμα δειγματοληψίας είναι σε ψηφιακή μορφή, αποστέλλεται με μήνυμα ηλεκτρονικής αλληλογραφίας στο εργαστήριο που θα αποσταλεί και το δείγμα.

Η ημερομηνία και ώρα άφιξης του δείγματος στο εργαστήριο θα πρέπει να καταγραφεί.

Τα κατεψυγμένα δείγματα θα πρέπει να διατηρούνται κατεψυγμένα. Για τα ψυγμένα δείγματα οι περιέκτες θα πρέπει να διατηρούν θερμοκρασία 0-4 °C από την συλλογή μέχρι την άφιξη στο εργαστήριο, με εξαίρεση τα οστρακόδερμα. Τα ψυγμένα δείγματα δεν πρέπει να καταψυχθούν και θα πρέπει να αναλύονται εντός 36 ωρών από την συλλογή, εκτός αν καθορίζεται διαφορετικά. Τα οστρακόδερμα που τους έχει αφαιρεθεί το κέλυφος θα πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία κάτω των 10 °C αλλά να μην

καταψύχονται και να εξετάζονται ιδανικά εντός 6 ωρών από την συλλογή τους, αλλά σε καμία περίπτωση πέραν των 24 ωρών από την συλλογή.

Με την άφιξη του δείγματος στο εργαστήριο ο αναλυτής μετρά την θερμοκρασία και παρατηρεί την γεική φυσική τους κατάσταση. Οι περιέκτες των δειγμάτων πρέπει να ελεγχθούν για αδρά ελαττώματα. Οι πλαστικές σακούλες και οι φιάλες ελέγχονται διαρροές και τρυπήματα. Εάν τα δείγματα συλλέχθηκαν σε πλαστικές φιάλες, αυτές ελέγχονται για θραύσεις ή χαλαρά κλεισμένα πώματα. Εάν χρησιμοποιήθηκαν πλαστικές σακούλες ελέγχονται ιδιαίτερα για τρυπήματα από τα σύρματα που χρησιμοποιούνται για το κλείσιμο.

Το δείγμα απορρίπτεται και δεν εξετάζεται εάν:

Τα δείγματα δεν φέρουν σήμανση ή η σήμανση δεν είναι ορθή.

Η θερμοκρασία του δείγματος δεν είναι όπως περιεγράφηκε άνωθεν.

Ο χρόνος μεταξύ της λήψης του δείγματος και της παραλαβής στο εργαστήριο είναι μεγαλύτερος του συνιστώμενου

Ο περιέκτης του δείγματος έχει διαρροή

Υπάρχουν ορατές ρωγμές ή άλλης μορφής ζημιές στον περιέκτη

Η ποσότητα του δείγματος είναι μικρότερη του συνιστώμενου

Τα πεδία υποχρεωτικής συμπλήρωσης στην φόρμα δείγματος δεν έχουν συμπληρωθεί

Εάν το δείγμα απορριφθεί στο πεδίο «Λόγοι απόρριψης του δείγματος» της φόρμας δειγματοληψίας θα πρέπει να αναγραφεί ο ακριβής λόγος απόρριψης του δείγματος.

Ο αναλυτής του εργαστηρίου συμπληρώνει το πεδίο «Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος», όταν εκκινήσει την ανάλυση. Εάν είναι διαθέσιμο λογισμικό LIMS software εισάγονται όλα τα μεταδεδομένα του δείγματος.

Εάν το δείγμα δεν μπορεί να αναλυθεί άμεσα, θα πρέπει να διατηρηθεί στους -20 °C (για τα κατεψυγμένα δείγματα) ή στους 0-4 °C (ψυχρά – μη παγωμένα, δείγματα που μπορεί να αλλοιωθούν) μέχρι να αναλυθούν και σε καμία περίπτωση δεν πρέπει να μείνουν για περισσότερο από 36 ώρες. Τρόφιμα που δεν αλλοιώνονται, κονσερβοποιημένα, ή χαμηλής υγρασίας θα πρέπει να διατηρούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος μέχρι την ανάλυση.

Ανάλογα με τις αιτούμενες αναλύσεις τα δείγματα επεξεργάζονται σύμφωνα με διάφορες μεθόδους ISO, ή σύμφωνα με τις συστάσεις διεθνών ή εθνικών αρχών, που περιγράφουν την διαδικασία επεξεργασίας του δείγματος.

Ο αναλυτής του εργαστηρίου συμπληρώνει το πεδίο «Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος», όταν εκκινήσει την ανάλυση. Εάν είναι διαθέσιμο λογισμικό LIMS software εισάγονται όλα τα μεταδεδομένα του δείγματος.

Όταν έχουν παραχθεί τα αποτελέσματα, η φόρμα δειγματοληψίας και το αποτέλεσμα αποστέλλονται μέσω ηλεκτρονικής αλληλογραφίας στο Τμήμα Επιδημιολογίας, ή άλλως τα δεδομένα μπορεί να είναι διαθέσιμα μέσω του λογισμικού LIMS.

ANNEX I

Επίσημες οδηγίες για την ανίχνευση και/ή καταμέτρηση παθογόνων

Για απομόνωση αποικιών προκειμένου να πραγματοποιηθεί WGS:

ISO 23418:2022 Microbiology of the food chain — Whole genome sequencing for typing and genomic characterization of bacteria — General requirements and guidance

ISO 6579-1:2017/Amd 1:2020 Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. — Amendment 1: Broader range of incubation temperatures, amendment to the status of Annex D, and correction of the composition of MSR/V and SC

ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp.

ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium — Amendment 1

ISO 6888-2:2021/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) — Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium — Amendment 1

ISO 7251:2005/Amd 1:2023. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Most probable number technique — Amendment 1: Inclusion of performance testing of culture media and reagents

ISO 7932:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of presumptive *Bacillus cereus* — Colony-count technique at 30 °C

ISO 10272-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 2: Colony-count technique

ISO 10273:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica*

ISO 11290-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 1: Detection method

ISO 11290-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. — Part 2: Enumeration method

ISO 21528-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 1: Detection of Enterobacteriaceae

ISO 21528-2:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique

ISO 21567:2004. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Shigella* spp.

ISO 15213-2:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of *Clostridium* spp. — Part 2: Enumeration of *Clostridium perfringens* by colony-count technique

ISO 10272-1:2017/Amd 1:2023. Microbiology of the food chain — Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. — Part 1: Detection method — Amendment 1: Inclusion of methods for molecular confirmation and identification of thermotolerant *Campylobacter* spp., the use of growth supplement in Preston broth and changes in the performance testing of culture media

ISO 11866-2:2005. Milk and milk products — Enumeration of presumptive *Escherichia coli* — Part 2: Colony-count technique at 44 °C using membranes

Για μοριακή ανίχνευση παθογόνων με qPCR:

ISO 22174:2005. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — General requirements and definitions

ISO/TS 13136:2012. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups

ISO/TS 18867:2015. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*

ISO 15216-2:2019. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 2: Method for detection

ISO/TS 17919:2013. Microbiology of the food chain — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne pathogens — Detection of botulinum type A, B, E and F neurotoxin-producing clostridia

ISO 15216-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR — Part 1: Method for quantification

Καθώς επίσημες μέθοδοι για την μοριακή ανίχνευση παθογόνων είναι περιορισμένες, οι μέθοδοι συγκέντρωση των παθογόνων οι οποίες περιγράφονται σε αρχεία ISO μπορούν να χρησιμοποιηθούν, όπως η οδηγία ISO 18744:2016 (Microbiology of the food chain — Detection and enumeration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in fresh leafy green vegetables and berry fruits) αντί για μικροσκοπική εξέταση απομονώνονται νουκλεϊκά οξέα για μοριακή ανίχνευση.

Για μεταγενωμική ανάλυση και/ή επιλεκτική ανίχνευση όλου του γονιδιώματος, μπορεί να απομονωθεί DNA και/ή RNA από συγκεντρωμένα δείγματα ή άμεσα από το δείγμα.

Παράρτημα II

Μεταδεδομένα για δείγματα τροφής

	Δείγμα τροφής
1	Αριθμός δείγματος ή ραβδοκώδικας *
2	Ημερομηνία και ώρα δειγματοληψίας *
3	Είδος δείγματος/είδος οργανισμού (π.χ. κρέας μόσχου, κοτόπουλο, μύδια, κλπ.)*
4	Κατάσταση δείγματος (κατεψυγμένο, απλή ψύξη, κλπ.)*
5	Πρόσθετες πληροφορίες για το δείγμα (π.χ., εμπορική ονομασία)
6	Αιτούμενες εξετάσεις*
7	Τοποθεσία συλλογής δείγματος*
8	Σύνδεση με επιδημία (εάν υπάρχει)
9	Ημερομηνία και ώρα άφιξης στο εργαστήριο*
10	Θερμοκρασία δείγματος*
11	Λόγοι απόρριψης του δείγματος (Ναι/Όχι, περιγραφή)*
12	Άλλες παρατηρήσεις (εάν υπάρχουν)
13	Αριθμός εργαστηρίου*
14	Όνοματεπώνυμο του ατόμου που παρέλαβε το δείγμα*
15	Ημερομηνία και ώρα που ξεκίνησε η ανάλυση του δείγματος*

Τα πεδία 1-8 συμπληρώνονται από τον δειγματολήπτη, ενώ τα πεδία 9-15 συμπληρώνονται από το προσωπικό του εργαστηρίου (τα πεδία με αστερίσκο είναι υποχρεωτικά).