

**SISTEM ZAGOTAVLJANJA KAKOVOSTI LABORATORIJSKIH ANALIZ NA
MODELU DOLOČANJA BAKTERIJ KROMPIRJA**Maja RAVNIKAR¹, Manca PIRC², Špela PRIJATELJ NOVAK³, Tina DEMŠAR⁴, Tanja DREO⁵^{1,2,3,4,5}Nacionalni inštitut za biologijo, Oddelek za rastlinsko fiziologijo in biotehnologijo**IZVLEČEK**

Na Nacionalnem inštitutu za biologijo smo začeli z vzpostavljanjem sistema za zagotavljanje kakovosti laboratorijske diagnostike po letu 1997 z začetkom opravljanja analiz na obe karantenski bakteriji, ki okužujeta krompir: *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, ki povzroča rjavo gnilobo gomoljev krompirja in *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis *et al.* ssp. *sepedonicus* (Spieckermann and Kotthoff), Davis *et al.*, ki povzroča obročkasto gnilobo gomoljev krompirja. Pripravili smo prve postopke in navodila, ki so vključevala celotno shemo testiranja, ter opise posameznih testov, kakor tudi ustrezne obrazce. Celoten sistem smo stalno dograjevali ter sodelovali pri pripravi diagnostičnih protokolov v okviru EPPO (European Plant Protection Organization) Panela za bakteriologijo in v okviru Evropskega projekta Diagpro v ring testu v katerem se je preizkušala specifičnost in občutljivost posameznih metod, tudi najnovejših kot sta FISH (Fluorescent In Situ Hybridisation) in PCR v realnem času. Sodelovali smo tudi pri pripravi obeh EU direktiv. Na njuno implementacijo se je bilo potrebno dodatno pripraviti, saj sta uvedli dodatne teste (FISH in PCR) kot prve presejalne teste. Za njuno zanesljivo uporabo v presejalnih testih pa je potrebno zagotoviti primerno občutljivost in vključiti dodatne parametre, ki zagotavljajo nadzor inhibicije. V prispevku bodo opisani osnovni elementi zagotavljanja kakovosti na primeru laboratorijske diagnostike obeh karantenskih bakterij in rezultati testiranja vzorcev krompirja v letu 2003/2004. Opisali bomo tudi novosti ki jih prinašajo nove direktive in omogočajo skrajševanje časa analiz v primeru pozitivnega prvega presejalnega testa na podlagi uvedbe novih metod v diagnostiko omenjenih bakterij.

Gljučne besede: *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis*, detekcija, laboratorijske tehnike

ABSTRACT**QUALITY ASSURANCE FOR LABORATORY ANALYSIS SHOWN ON BACTERIA
INFECTING POTATO AS A MODEL SYSTEM**

National Institute of Biology started with introduction of quality assurance system in diagnostic laboratories after year 1997 when we began with diagnosis of quarantine potato bacteria *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, causative agent of potato brown rot and *Clavibacter michiganensis* (Smith) Davis *et al.* ssp. *sepedonicus* (Spieckermann and Kotthoff), Davis *et al.*, causative agent of potato ring rot. We elaborated standard operational procedures and schemes of testing, including different forms. The whole system has been continuously upgrading until now. We are active in EPPO (European Plant Protection Organization) Panel on bacteriology. We took part in preparation of EU Directives and in ring test in the frame of EU project DIAGPRO, where specificity and sensitivity of new methods FISH (Fluorescent in Situ Hybridisation) and Real time PCR were tested. During year 2004 we were preparing ourselves to introduction of FISH and PCR as one of the first screening tests with required sensitivity. Additional parameters were added to assure quality of analysis. We will present basic elements of quality assurance system in the case of potato quarantine bacteria and results of testing in years 2003/2004, as well as novelties in new directives which will shorten time needed for analysis performance.

Key words: *Ralstonia solanacearum*, *Clavibacter michiganensis*, laboratory detection

¹ prof. dr. biol. znan., Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana

² Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana

³ Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana

⁴ univ. dipl. biol., Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana

⁵ univ. dipl. mikrobiol., Večna pot 111, SI-1001 Ljubljana