

Деятельность ЕОКЗР по диагностике вредных для растений организмов

Р. АРНИТИС,
генеральный директор ЕОКЗР
Ф. ПЕТТЕР,
помощник генерального директора
А.Д. ОРЛИНСКИЙ,
научный советник
Н.А. ШЕРОКОЛАВА,
заместитель директора
ФГБУ «ВНИИКР»
Ю.А. ШНЕЙДЕР,
младший научный сотрудник
yury.shneyder@mail.ru

Разработка надежных систем управления качеством и создание условий для прохождения аккредитации приобретают огромную важность для лабораторий во всем мире. Лаборатории, выполняющие официальную диагностику регулируемых вредных организмов (насекомых, болезней и др.), должны соответствовать стандартам высокого уровня, так как их результаты оказывают большое влияние на международную торговлю, сельскохозяйственный и лесной сектор, а также на окружающую среду.

В 1998 г. Европейской и Средиземноморской организацией по карантину и защите растений (ЕОКЗР) принята программа работы в области диагностики для гармонизации процессов в регионе, включающая в себя различные функции. В рамках этой программы стала проводиться разработка диагностических протоколов, содержащих информацию по выявлению и идентификации вредных организмов из перечней А1 и А2 ЕОКЗР. Позднее были разработаны стандарты по аккредитации лабораторий и обеспечению качества работ по диагностике вредных организмов. Очередным этапом этой программы стало создание базы данных лабораторий в странах – членах ЕОКЗР, представленных в них экспертах и имеющемся у них опы-

те выявления и идентификации вредных организмов.

Диагностические протоколы являются важной составляющей при согласовании процедур выявления и идентификации регулируемых вредных организмов. Они способствуют сопоставимости и прозрачности диагностики этих организмов, могут помочь и при разрешении споров между торговыми партнерами. Стандарты ЕОКЗР могут рассматриваться как региональные стандарты в соответствии с Международной конвенцией по карантину и защите растений (МККЗР).

Разработка диагностических протоколов в рамках программы ЕОКЗР, начатой в 1998 г., предусмотрена для максимально возможного количества вредных организмов из перечней А1 и А2 ЕОКЗР [9]. При подготовке протоколов предполагается тесное сотрудничество между специалистами по диагностике вредных организмов различных групп экспертов ЕОКЗР: по диагностике и контролю качества (координирующая роль), по бактериальным болезням, по нематологии, энтомологии и микологии. Каждый проект готовится отдельным специалистом по общей форме и должен содержать полную информацию для выявления и точной идентификации вредного организма. Затем этот проект рассматривается на заседаниях соответствующих групп экспертов, согласовывается с группой экспертов по диагностике, изменяется при необходимости в соответствии с индивидуальными характеристиками вредных организмов [6].

Далее проект проходит этап консультации со странами – членами ЕОКЗР, когда каждая из пятидесяти Национальных организаций по ка-

рантину и защите растений (НОКЗР) может предложить свои поправки, после рассмотрения которых новый проект направляется Рабочей группе по фитосанитарным регламентациям ЕОКЗР, и в случае одобрения поступает на утверждение в Совет ЕОКЗР и только затем приобретает статус стандарта ЕОКЗР серии РМ 7.

Первые стандарты ЕОКЗР, разработанные Группой экспертов по диагностике, были опубликованы в 2001 г. [9]. В настоящее время утверждены уже 100 диагностических протоколов (в том числе для 30 видов, входящих в Перечень карантинных для Российской Федерации объектов [2] (табл. 1)) и 7 общих стандартов по диагностике (www.eppo.org) (табл. 2). 10 протоколов находятся на различных стадиях подготовки. Диагностические протоколы еще по 4 новым вредным организмам находятся в стадии разработки и согласования.

Каждый протокол начинается с общей информации о вредном организме (морфология, взаимодействие с другими организмами, растение-хозяева, воздействие на растение-хозяина, географическое распространение и другие характеристики), а затем описываются методы, которые должны использоваться для его выявления и идентификации (в том числе по сравнению с аналогичными видами), а также необходимые требования для диагностики. Как правило, в протоколе рекомендуются методы, которые рассматриваются как приоритетные (с учетом надежности, простоты использования и т.д.) по сравнению с другими тестами. Во всех протоколах собран многолетний опыт работы экспертов ЕОКЗР [7].

Аккредитация и контроль качества. С 1999 г. начал обсуждаться вопрос о возможности оказания помощи со стороны ЕОКЗР национальным диагностическим лабораториям при их аккредитации. Было принято решение, что ЕОКЗР следует разработать для диагностических лабораторий стандарт по управле-

нию качеством. В 2003 г. для этого была создана специальная группа, эксперты которой выработали два действующих в настоящее время стандарта: РМ 7/84(1) «Основные требования по управлению качеством в лабораториях по диагностике вредных для растений организмов» [4] и РМ 7/98(1) «Специфические требования к лабораториям, ведущим подготовку к аккредитации деятельности в сфере диагностики вредных для растений организмов» [5]. Стандарт РМ 7/84(1) доступен на русском и английском языках на официальном сайте ЕОКЗР (www.eppo.org). Стандарт РМ 7/98(1) доступен только на английском языке, однако в ближайшее время пла-

нируется добавление его русскоязычной версии на сайт ЕОКЗР.

Стандарт РМ 7/98(1) включает в себя конкретные требования для руководства по качеству для лабораторий, готовящихся к аккредитации в соответствии со Стандартом ИСО/МЭК (Международная организация по стандартизации/Международная электротехническая комиссия) 17025 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий» [1]. Он направлен на гармонизацию выполнения стандарта ИСО/МЭК 17025 для лабораторий по защите и карантину растений в регионе ЕОКЗР путем уточнения особенностей работы лабораторий данного

направления по сравнению с другими типами лабораторий, которые следуют Стандарту ИСО/МЭК [6].

Сотрудничество между ЕОКЗР и ЕА (Европейское сотрудничество по аккредитации, Европейская сеть национально признанных органов по аккредитации) началось в сентябре 2007 г. для решения вопроса по аккредитации лабораторий, диагностирующих вредных для растений организмов. Эксперты обеих организаций обсудили, в частности, могут ли Диагностические протоколы ЕОКЗР быть признаны в качестве региональных стандартов в системе ИСО. Во взаимном соглашении ЕОКЗР и ЕА говорится, что «ЕА будет рекомендовать экспертам орга-

Таблица 1

Диагностические протоколы ЕОКЗР по вредным организмам, входящим в Перечень карантинных для Российской Федерации объектов (согласно Приложению № 1 к Приказу Минсельхоза России от 26 декабря 2007 г. № 673 (<http://www.vniikr.ru/list.html>))

№ ¹	Латинское название карантинного вредного организма (согласно протоколу ЕОКЗР)	Русское название карантинного вредного организма
PM 7/1	<i>Ceratocystis fagacearum</i>	Усыхание дуба (сосудистый микоз)
ISPM27	<i>Thrips palmi</i> – перемещен в МФСМ № 27 ² – Диагностический протокол для <i>T. palmi</i> (www.ippc.int)	Пальмовый трипс
PM 7/4	<i>Bursaphelenchus xylophilus</i> – готовится новая версия	Сосновая стволовая нематода
PM 7/11	<i>Frankliniella occidentalis</i>	Западный (калифорнийский) цветочный трипс
PM 7/13	<i>Trogoderma granarium</i>	Капровый жук
PM 7/20	<i>Ergwinia amylovora</i> – готовится новая версия	Ожог плодовых деревьев
PM 7/21	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Бурая гниль картофеля
PM 7/27	<i>Puccinia horiana</i>	Белая ржавчина хризантем
PM 7/28	<i>Synchytrium endobioticum</i> – готовится новая версия	Рак картофеля
PM 7/29	<i>Tilletia indica</i>	Индийская головня пшеницы
PM 7/32	Plum pox potyvirus – готовится новая версия	Шарка (оспа) сливы
PM 7/35	<i>Bemisia tabaci</i>	Табачная белокрылка
PM 7/36	<i>Diabrotica virgifera</i>	Кукурузный жук диабротика
PM 7/40	<i>Globodera rostochiensis</i> and <i>G. pallida</i> – готовится новая версия	Золотистая картофельная нематода и бледная картофельная нематода
PM 7/41	<i>Meloidogyne chitwoodi</i> and <i>M. fallax</i>	Колумбийская галловая нематода и ложная колумбийская нематода
PM 7/46	<i>Mycosphaerella dearnessii</i> and <i>Mycosphaerella pini</i>	Коричневый пятнистый ожог хвои сосны
PM 7/53	<i>Liriomyza</i> spp.	Минеры рода <i>Liriomyza</i> ³
PM 7/60	<i>Pantoea stewartii</i> subsp. <i>stewartii</i>	Бактериальное увядание (вилт) кукурузы
PM 7/74	<i>Popillia japonica</i>	Японский жук
PM 7/79	Grapevine flavescence doree phytoplasma	Золотистое пожелтение винограда
PM 7/80	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Бактериальный ожог и бактериальная полосатость риса
PM 7/104	<i>Ceratitidis capitata</i>	Средиземноморская плодовая муха
PM 7/109	<i>Epitrix cucumeris</i> , <i>E. similaris</i> and <i>E. tuberosa</i>	Картофельные жуки-блошки

¹ Номер Диагностического протокола на сайте ЕОКЗР (www.eppo.org), соответствующий номеру стандарта серии РМ7.

² МФСМ – Международный стандарт по фитосанитарным мерам, разработанный в рамках МККЗР.

³ В Диагностическом протоколе ЕОКЗР представлены методы идентификации всех минеров.

В Перечень КВО для Российской Федерации входят только 3 минера: американский клеверный минер (*Liriomyza trifolii* Burg.), южноамериканский листовой минер (*L. huidobrensis* Blanch.), томатный листовой минер (*L. sativae* Blanch.).

Общие стандарты ЕОКЗР по диагностике

№	Название стандарта ЕОКЗР на английском и русском языках
PM 7/76	Use of EPPO diagnostic protocols. Использование диагностических протоколов ЕОКЗР
PM 7/77	Documentation and reporting on a diagnosis. Документация и отчетность в диагностике
PM 7/84	Basic requirements for quality management in plant pest diagnosis laboratories. Основные требования по управлению качеством в лабораториях по диагностике вредных для растений организмов. Имеется версия на русском языке
PM 7/97	Indirect immunofluorescence test for plant pathogenic bacteria. Непрямой иммунофлюоресцентный анализ для фитопатогенных бактерий
PM 7/98	Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity. Специфические требования к лабораториям, ведущим подготовку к аккредитации деятельности в сфере диагностики вредных для растений организмов. Готовится версия на русском языке
PM 7/100	Rep-PCR tests for identification of bacteria. Использование метода реп-ПЦР для идентификации бактерий
PM 7/101	ELISA tests for plant pathogenic bacteria. Различные виды иммуноферментного анализа для фитопатогенных бактерий

нов по аккредитации принимать к сведению документы ЕОКЗР при оценке лабораторий по диагностике вредных для растений организмов». Это стало ключевым моментом, с которого методы, описанные в региональных стандартах ЕОКЗР, начали рассматриваться как «валидированные методы» в рамках Стандарта ИСО/МЭК 17025 [6].

В стандарте ЕОКЗР PM 7/98 говорится, что лаборатория, готовящаяся к аккредитации, обязана использовать только валидированные тесты. Методы могут быть валидированы с помощью подтвержденных данных. В ином случае методы должны пройти процесс валидации в лаборатории, что довольно трудоемко. В случае, когда используется валидированный метод, лаборатория должна представить объективные доказательства того, что она может обеспечить соответствие установленным характеристикам. Эта процедура называется верификация и менее требовательна, чем полная валидация. Кроме того, «тест считается полностью валидированным, когда предоставляются данные по следующим критериям: аналитическая чувствительность, аналитическая специфичность, воспроизводимость и повторяемость. Данные для валидации, в частности, по аналитической чувствительности и аналитической специфичности представлены в диагностических протоколах ЕОКЗР. Эксперты ЕА отметили, что методы диагностики, широко ис-

пользующиеся в регионе ЕОКЗР, могут рассматриваться как представляющие достаточную надежность в отношении повторяемости, воспроизводимости и селективности. С целью уточнения частоты использования методов диагностики, упомянутых в Диагностических протоколах ЕОКЗР, был организован опрос среди лабораторий стран – членов ЕОКЗР [3].

Опрос по использованию диагностических протоколов в лабораториях был проведен в 2008 г. К рассмотрению было предложено 58 протоколов, охватывающих все области диагностики вредных для растений организмов [3]. В проверке участвовали 90 лабораторий, зарегистрированных в базе данных ЕОКЗР по диагностической экспертизе (см. ниже). Им было предложено указать количество образцов, которые они протестировали годом ранее и какой метод они при этом использовали. По результатам этого исследования можно сделать вывод, что многие тесты для выявления вредных организмов, содержащиеся в диагностических протоколах ЕОКЗР, широко используются в лабораториях в регионе ЕОКЗР.

Предполагается также создать базу данных, которая позволит странам – членам ЕОКЗР обмениваться данными по валидации их лабораторий. В 2007 и 2009 гг. ЕОКЗР были организованы два семинара по вопросам обеспечения качества, что позволило экспертам поделиться

своим опытом в области обеспечения качества и аккредитации [6].

База данных ЕОКЗР по специалистам в области диагностики. В 2004 г. Совет ЕОКЗР выразил обеспокоенность и принял резолюцию о том, что выполнение фитосанитарных правил для карантинных вредных организмов было под угрозой из-за сокращения опыта в области диагностики для карантина и защиты растений. Появилась необходимость в развитии методов диагностики и их общедоступности, а также во взаимосвязи специалистов по карантину и защите растений в странах – членах ЕОКЗР. Группе по диагностике было предложено проверить наличие экспертов по диагностике в Европе. В 2006 г. была создана база данных по диагностической экспертизе [8], целью которой было выявление экспертов, способных обеспечить диагностику регулируемых видов (например, вредных организмов из перечней А1 и А2 ЕОКЗР или упомянутых в стандартах PM 4 ЕОКЗР: «Выращивание здорового посевного и посадочного материала»), вредных организмов, потенциально опасных для стран – членов ЕОКЗР (из Сигнального перечня ЕОКЗР) и инвазивных чужеродных растений из Перечня ЕОКЗР), а также помочь в обнаружении и идентификации новых и необычных видов. Страны – члены ЕОКЗР объединили свои усилия, и к настоящему времени уже 79 лабораторий из 34 стран представили данные о более чем

500 экспертах. База данных ЕОКЗР постоянно пополняется, успешно действует, ее эксперты обмениваются образцами и новейшими методами диагностики. Вся информация, содержащаяся в базе данных, доступна на веб-сайте ЕОКЗР. Она может также помочь национальным органам по аккредитации в определении аудиторов для аккредитации лабораторий, специализирующихся на диагностике вредных организмов [6].

Конференция и рабочие группы экспертов. В течение года ЕОКЗР организует конференции и заседания рабочих групп экспертов в области карантина и защиты растений. С кратким отчетом недавно прошедшего совещания Рабочей группы экспертов для начальников лабораторий можно ознакомиться по адресу: http://archives.eppo.org/MEETINGS/2011_conferences/heads_labs.htm. Секретариат ЕОКЗР считает, что все

инициативы и планы на будущее должны помочь в оптимизации диагностической деятельности в лабораториях в регионе ЕОКЗР.

Секретариат ЕОКЗР надеется на более активное привлечение русскоговорящих экспертов в области диагностики к деятельности ЕОКЗР, которое будет способствовать их участию в работе организуемых совещаний и их регистрации в Базе данных ЕОКЗР по специалистам в области диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025–2006 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий». – М., 2007, 26 с.
2. Перечень карантинных для Российской Федерации объектов (Приложение № 1 к Приказу Минсельхоза России от 26 декабря 2007 г. № 673) <http://www.vniikr.ru/list.html>.
3. *Petter F., Suffert M., Roy A.S., Griessinger D., McMullen M.* // EPPO's

diagnostic activities Petria – 13th Congress of the Mediterranean Phytopathological Union. Petria, 2010, 20 (2), p. 184–185.

4. EPPO 2007. PM 7/84 (1) Basic requirements for quality management in plant pest diagnosis laboratories, Bulletin OEPP/EPPO, 2007, Bulletin 37, p. 580–588.

5. EPPO 2010. PM 7/98 (1) Specific requirements for laboratories preparing accreditation for a plant pest diagnostic activity, Bulletin OEPP/EPPO, 2010, Bulletin 40, p. 5–22.

6. *Petter F., Suffert M.* Survey on the use of tests mentioned in EPPO diagnostic protocols Bulletin OEPP/EPPO, 2010, Bulletin 40, p. 121–126.

7. *Petter F., Zlof V. and Smith I.M.* International and regional standards for diagnosis of regulated pests Bulletin OEPP/EPPO, 2005, Bulletin 35, p. 43–46.

8. *Roy A.S., Petter F., Griessinger D.* EPPO database on diagnostic expertise: <http://dc.eppo.org> Bulletin OEPP/EPPO, 2010, Bulletin 40, p. 127–130.

9. *Zlof V., Smith I.M., McNamara D.G.* Protocols for the diagnosis of quarantine pests. Bulletin OEPP/EPPO, 2000, Bulletin 30, p. 361–363.

Новости ЕОКЗР

Вирус кольцевой пятнистости табака

Вирус кольцевой пятнистости табака – Tobacco ringspot nepovirus (TRSV) (список A2 Перечня ЕОКЗР) неоднократно отмечался во многих странах Азии, Америки, сравнительно реже в Африке и Океании. Поступали отдельные сигналы о его выявлении в ряде стран Европы (Австрия, Бельгия, Болгария, Великобритания, Дания, Германия, Греция, Испания, Франция, Швейцария), не получившие подтверждения. Вирус был обнаружен, но не обосновался в Венгрии, Италии, Марокко, Нидерландах. Имеется информация о выявлении вируса на различных растениях-хозяевах в Польше, на Украине, в бывшей Югославии, а также в Российской Федерации (европейская часть и Дальний Восток).

Как и другие вирусы группы неповирусов, патоген отмечен на широком круге травянистых, кустарниковых и древесных растений. В числе наиболее поражаемых культур – соя, табак, тыквенные, представители рода *Vaccinium*. Отмечались неоднократные случаи выявления вируса в естественных условиях из растений баклажана, перца, винограда, вишни, папайи, кизила, ясени, цветочных культур. В регионе ЕОКЗР чаще всего пора-

жаются соя и плодово-ягодные культуры (вишня, виноград, вересковые ягодники рода *Vaccinium*). Помимо основных переносчиков (нематоды из рода *Xiphinema*), инфекцию могут переносить отдельные виды трипсов и тлей. Возможна передача вируса механически и с помощью семян (огурец, соя).

В 2010 г. вирус был обнаружен в одной теплице в Нидерландах на новом растении-хозяине – флоксе шиловидном (*Phlox subulata*). Исходный материал этого сорта был получен из другой нидерландской теплицы, в которой также обнаружено присутствие TRSV. Позднее вирус был выявлен еще в одной теплице, на другом сорте флокса шиловидного. Поскольку основной переносчик вируса – нематода *Xiphinema americanum* отсутствует в Нидерландах, передача инфекции могла осуществиться вегетативными частями этого или другого растения.

«EPPO Reporting Service»: 2009, № 2, 9; 2011, № 4

И. Н. АЛЕКСАНДРОВ,
ведущий научный сотрудник ФГБУ «ВНИИКР»