

TOIDU JA LOOMASÖÖTADE MIKROBIOLOOGIA
Horisontaalmeetod beeta-glükuronidaaspositiivse
***Escherichia coli* arvuliseks määramiseks**
Osa 1: Kolooniade loendamise meetod
temperatuuril 44° C, kasutades membraane ja
5-bromo-4-kloro-3-indolüül-beeta-D-glükuroniidi

Microbiology of food and animal feeding stuffs
Horizontal method for the enumeration of
beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*
Part 1: Colony-count technique at 44 degrees C
using membranes and
5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide
(ISO 16649-1:2001)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- rahvusvahelise standardi ISO 16649-1:2001 ingliskeelse teksti sisu poolest identne tõlge eesti keelde. Tõlgenduserimeelsuste korral tuleb lähtuda ametlikes keeltes avaldatud tekstidest;
- jõustunud Eesti standardina sellekohase teate avaldamisel EVS Teataja 2011. aasta detsembrikuu numbris.

Standardi on tõlkinud Karin-Tiiu Türk, eestikeelse kavandi ekspertiisi on teinud Tiina Veskus, standardi on heaks kiitnud tehniline komitee EVS/TK 1 „Toiduained“.

Standardi tõlke koostamise ettepaneku on esitanud Põllumajandusministeerium, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardikeskus ja rahastanud Põllumajandusministeerium.

See standard on rahvusvahelise standardi ISO 16649-1:2001 eestikeelne [et] versioon. Teksti tõlke on avaldanud Eesti Standardikeskus ja sellel on sama staatus ametlike keelte versioonidega.

This standard is the Estonian [et] version of the International Standard ISO 16649-1:2001. It has been translated by the Estonian Centre for Standardisation. It has the same status as the official versions.

Tagasisidet standardi sisu kohta on võimalik edastada, kasutades EVS-i veebilehel asuvat tagasiside vormi või saates e-kirja meiliaadressile standardiosakond@evs.ee.

ICS 07.100.30 Toiduainete mikrobioloogia

Võtmesõnad: *E. coli* määramine, loomasöödad, mikrobioloogia, toiduained, toit

Hinnagrupp E

Standardite reprodutseerimise ja levitamise õigus kuulub Eesti Standardikeskusele

Andmete paljundamine, taastekitamine, kopeerimine, salvestamine elektroonsesse süsteemi või edastamine ükskõik millises vormis või millisel teel ilma Eesti Standardikeskuse kirjaliku loata on keelatud.

Kui Teil on küsimusi standardite autorikaitse kohta, võtke palun ühendust Eesti Standardikeskusega: Aru 10, 10317 Tallinn, Eesti; www.evs.ee; telefon 605 5050; e-post info@evs.ee

SISUKORD

EESSÕNA	IV
SISSEJUHATUS	V
1 KÄSITLUSALA	1
2 NORMIVIITED	1
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED	1
4 PÕHIMÕTE	1
5 LAHJENDI JA SÖÖTMED	2
5.1 Lahjendi	2
5.2 Söötmed	2
6 SEADMED JA KLAASTARVIKUD	3
7 PROOVI VÕTMINE	4
8 KATSEPROOVI VALMISTAMINE	4
9 KATSE KÄIK	4
9.1 Katsekogus, algsuspensioon ja lahjendused	4
9.2 Kasvuvõime taastamine	4
9.3 Üleviimine selektiivsöötmele ja inkubeerimine	4
9.4 Kolooniat moodustavate ühikute (CFU) loendamine	5
10 TULEMUSTE VÄLJENDAMINE	5
10.1 Üldine	5
10.2 Arvutamine	5
10.3 Väikeste arvude määramine	5
10.4 Arvutusmeetod: erijuhud	6
10.5 Usalduspiirid	7
11 KATSEPROTOKOLL	7
Kirjandus	8

EESSÕNA

ISO (*International Organization for Standardization*) on ülemaailmne rahvuslike standardimisorganisatsioonide (ISO rahvuslike liikmesorganisatsioonide) föderatsioon. Tavaliselt tegelevad rahvusvahelise standardi koostamisega ISO tehnilised komiteed. Kõigil rahvuslikel liikmesorganisatsioonidel, kes on mingi tehnilise komitee pädevusse kuuluvast valdkonnast huvitatud, on õigus selle komitee tegevusest osa võtta. Selles töös osalevad käsikäes ISO-ga ka rahvusvahelised, riiklikud ja valitsusvälised organisatsioonid. Kõigis elektrotehnika standardimist puudutavates küsimustes teeb ISO tihedat koostööd Rahvusvahelise Elektrotehnikakomisjoniga (IEC).

Rahvusvahelised standardid kavandatakse ISO/IEC direktiivide 3. osas esitatud reeglite kohaselt.

Tehnilistes komiteedes vastuvõetud rahvusvahelised standardikavandid saadetakse hääletamiseks rahvuslikele liikmesorganisatsioonidele. Avaldamine rahvusvahelise standardina nõuab, et hääletusel osalenud rahvuslikest liikmesorganisatsioonidest kiidaks selle heaks vähemalt 75 %.

Tuleb pöörata tähelepanu võimalusele, et standardi mõni osa võib olla patendiõiguse subjekt. ISO-t ei saa pidada vastutavaks sellis(t)e patendiõigus(t)e väljaselgitamise eest.

Rahvusvahelise standardi ISO 16649-1 on koostanud tehnilise komitee ISO/TC 34 „Toiduained“ alakomitee SC 9 „Mikrobioloogia“. ISO 16649, üldpealkirjaga „Toidu ja loomasöödade mikrobioloogia. Horisontaalmeetod β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* arvuliseks määramiseks“, koosneb järgmistest osadest:

- 1. osa: Kolooniade loendamise meetod temperatuuril 44 °C, kasutades membraane ja 5-bromo-4-kloro-3-indolüül-beeta-D-glükuronidi;
- 2. osa: Kolooniade loendamise meetod temperatuuril 44 °C, kasutades 5-bromo-4-kloro-3-indolüül-beeta-D-glükuronidi;
- 3. osa: Kõige tõenäosema arvu meetod.

EE MÄRKUS Kolmanda osa täielik pealkiri on „Kõige tõenäosema arvu meetod, kasutades 5-bromo-4-kloro-3-indolüül-beeta-D-glükuronidi“.

SISSEJUHATUS

Seoses toidu ja loomasöödade suure mitmekesisusega ei saa seda horisontaalmeetodit rakendada kõikides üksikasjades teatavatele toodetele. Sel juhul võib kasutada erinevaid meetodeid, mis on iseloomulikud nendele toodetele, kui see on kindlasti vajalik õigustatud tehnilistel põhjustel. Siiski tuleks igal võimalusel kasutada seda horisontaalmeetodit nii palju kui võimalik.

Kui ISO 16649 seda osa vaadatakse järgmine kord üle, võetakse arvesse kogu saadaolev informatsioon, mis puudutab selle horisontaalmeetodi rakendamise ulatust ja põhjuseid, miks kalduti kõrvale sellest meetodist eri toodete korral.

Katsemeetodite harmoniseerimine ei saa toimuda koheselt ja teatud tootegruppidele võivad juba olemas olla rahvusvahelised standardid ja/või rahvuslikud standardid, mis ei lange kokku selle horisontaalmeetodiga. Loodetakse, et kui sellised standardid üle vaadatakse, viiakse need vastavusse ISO 16649 selle osaga selliselt, et säilivad ainult need lahknemised sellest horisontaalmeetodist, mis on vajalikud üksnes hästi põhjendatud tehnilistel põhjustel.

See rahvusvaheline standard kirjeldab kahte horisontaalmeetodit (ISO 16649-1 ja ISO 16649-2) β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* arvuliseks määramiseks.

Kasutaja võib valida kas ISO 16649-1 või ISO 16649-2. Mõlemad osad on üldkasutatavad. Siiski peaks ISO 16649-1 kasutama toidu puhul, mis võib sisaldada tõsiselt stressisolevaid rakke.

1 KÄSITLUSALA

See ISO 16649 osa määratleb horisontaalmeetodi β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* arvuliseks määramiseks toodetes, mis on mõeldud inimtoiduks või loomasöödaks. See põhineb kolooniate loendamistehnikal pärast kasvuvõime taastamist, kasutades membraane ja inkubeerimist temperatuuril 44 °C tahkel söötmel, mis sisaldab kromogeenseid koostisosi ensüümi β -glükuronidaas avastamiseks.

HOIATUS: *Escherichia coli* tüved, mis ei kasva temperatuuril 44 °C, ja eriti need, mis on β -glükuronidaas-negatiivsed, nagu *Escherichia coli* O157, jäävad avastamata.

2 NORMIVIITED

Järgnevad normdokumendid sisaldavad sätteid, mis viidatuna selles tekstis, moodustavad ISO 16649 selle osa sätteid. Dateeritud viidete hilisemad muudatused ja uustöötlused ei rakendu. Siiski poolte kokkulepped, mis põhinevad ISO 16649 sellel osal, soovivad uurida allpool loetletud normdokumentide viimaste väljaannete rakendamise võimalust. Dateerimata viidete korral kehtib viidatud dokumendi uusim väljaanne. ISO ja IEC liikmed peavad hetkel kehtivate rahvusvaheliste standardite registreid.

ISO 6887-1. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

ISO 7218. Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for microbiological examinations

3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED

Standardi ISO 16649 selle osa rakendamisel kasutatakse alljärgnevalt esitatud termineid ja määratlusi.

3.1

β -glükuronidaaspositiivne *Escherichia coli* (*β -glucuronidase-positive Escherichia coli*) bakterid, mis temperatuuril 44 °C moodustavad iseloomulikke siniseid kolooniaid trüptoon-sapi-glükuronidi söötmel (TBX) tingimustes, mis on määratletud ISO 16649 selles osas

3.2

β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* arvuline määramine (*enumeration of β -glucuronidase-positive Escherichia coli*)

β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* kolooniat moodustavate ühikute (CFU) arvuline määramine grammis või milliliitris proovis, kui määramine ja arvutused on tehtud ISO 16649 selle osa kohaselt

4 PÕHIMÕTE

4.1 Määratletud kogus katseproovi või algsuspensiooni külvatakse tselluloosmembraanile, mis on asetatud mineraalidega modifitseeritud glutamaatarile (MMGA), ja seejärel inkubeeritakse temperatuuril 37 °C 4 h.

Kasutades katseproovi või algsuspensiooni kümnendlahjendusi külvatakse samades tingimustes igast lahjendusest kaks tassi.

4.2 Isoleerimiseks viiakse membraanid taastamisstaadiumist MMGA üle trüptoon-sapi-glükuronidagarile (TBX) ja seejärel inkubeeritakse temperatuuril 44 °C 18 h kuni 24 h.

4.3 β -glükuronidaaspositiivse *Escherichia coli* kolooniat moodustavate ühikute (CFU) arv grammis või milliliitris proovis arvutatakse tüüpiliste siniste CFU-de arvust (vaata peatükk 10).