

**TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA**

**Horisontaalmeetod *Enterobacteriaceae* tuvastamiseks ja  
arvuliseks määramiseks**

**Osa 1: *Enterobacteriaceae* tuvastamine**

**Microbiology of the food chain**

**Horizontal method for the detection and enumeration of  
*Enterobacteriaceae***

**Part 1: Detection of *Enterobacteriaceae*  
(ISO 21528-1:2017)**

## EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 21528-1:2017 ingliskeelse teksti sisu poolest identne tõlge eesti keelde ja sellel on sama staatus mis jõustumisteate meetodil vastu võetud originaalversioonil. Tõlgenduserimeelsuste korral tuleb lähtuda ametlikes keeltes avaldatud tekstidest;
- jõustunud Eesti standardina inglise keeles juulis 2017;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2019. aasta veebruarikuu numbris.

Standardi tõlke koostamise ettepaneku on esitanud tehniline komitee EVS/TK 1 „Toit“, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardikeskus ning rahastanud Majandus- ja Kommunikatsiooniministeerium.

Standardi on tõlkinud Tiido ja Partnerid Keeleagentuur OÜ, eestikeelse kavandi ekspertiisi on teinud Ene Talpsep, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 1.

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 21528-1:2017 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 05.07.2017.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 21528-1:2017 is 05.07.2017.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 21528-1:2017 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 European Standard EN ISO 21528-1:2017. It was 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](mailto:standardiosakond@evs.ee).

ICS 07.100.30

### 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: Koduleht [www.evs.ee](http://www.evs.ee); telefon 605 5050; e-post [info@evs.ee](mailto:info@evs.ee)

English Version

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

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode  
horizontale par la recherche et le dénombrement des  
Enterobacteriaceae - Partie 1: Recherche des  
Enterobacteriaceae (ISO 21528-1:2017)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales  
Verfahren für den Nachweis und die Zählung von  
Enterobacteriaceae Teil 1: Nachweis von  
Enterobacteriaceae (ISO 21528-1:2017)

This European Standard was approved by CEN on 27 April 2017.

CEN members are bound to comply with the CEN/CENELEC Internal Regulations which stipulate the conditions for giving this European Standard the status of a national standard without any alteration. Up-to-date lists and bibliographical references concerning such national standards may be obtained on application to the CEN-CENELEC Management Centre or to any CEN member.

This European Standard exists in three official versions (English, French, German). A version in any other language made by translation under the responsibility of a CEN member into its own language and notified to the CEN-CENELEC Management Centre has the same status as the official versions.

CEN members are the national standards bodies of Austria, Belgium, Bulgaria, Croatia, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, Former Yugoslav Republic of Macedonia, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Romania, Serbia, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden, Switzerland, Turkey and United Kingdom.



EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION  
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION  
EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG

**CEN-CENELEC Management Centre: Avenue Marnix 17, B-1000 Brussels**

**SISUKORD**

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| EUROOPA EESSÕNA.....                                                       | 3  |
| EESSÕNA.....                                                               | 4  |
| SISSEJUHATUS.....                                                          | 5  |
| 1 KÄSITLUSALA.....                                                         | 6  |
| 2 NORMIVIITED.....                                                         | 6  |
| 3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED.....                                             | 6  |
| 4 PÕHIMÕTE.....                                                            | 7  |
| 4.1 Rikastamine mitteselektiivses söötmes.....                             | 7  |
| 4.2 Eraldamine ja valimine leiu kinnitamiseks .....                        | 7  |
| 4.3 Kinnitamine.....                                                       | 7  |
| 5 LAHJENDUSVEDELIK, SÖÖTMED JA REAKTIIV.....                               | 7  |
| 6 SEADMED JA TARVIKUD.....                                                 | 7  |
| 7 PROOVIVÕTT.....                                                          | 8  |
| 8 KATSEPROOVI ETTEVALMISTAMINE.....                                        | 8  |
| 9 KATSEKÄIK.....                                                           | 8  |
| 9.1 Üldnõuded.....                                                         | 8  |
| 9.2 Katsekogus ja algsuspensioon .....                                     | 8  |
| 9.3 Rikastamine.....                                                       | 9  |
| 9.4 Eraldamine ja valimine leiu kinnitamiseks .....                        | 9  |
| 9.4.1 Eraldamine.....                                                      | 9  |
| 9.4.2 Kolooniate valimine leiu kinnitamiseks .....                         | 9  |
| 9.5 Valitud kolooniate edasikülvamine.....                                 | 9  |
| 9.6 Biokeemilised kinnituskatsed.....                                      | 9  |
| 9.6.1 Oksüdaasireaktsioon.....                                             | 9  |
| 9.6.2 Kääritamiskatse.....                                                 | 10 |
| 10 TULEMUSTE ESITAMINE.....                                                | 10 |
| 11 KORDUSTÄPSUS.....                                                       | 10 |
| 11.1 Laboritevaheline uuring.....                                          | 10 |
| 11.2 Tundlikkus.....                                                       | 10 |
| 11.3 Spetsiifilisus .....                                                  | 10 |
| 12 KATSEPROTOKOLL.....                                                     | 10 |
| 13 KVALITEEDI TAGAMINE.....                                                | 11 |
| Lisa A (teatmelisa) Arvuline määramine MPN meetodil.....                   | 12 |
| Lisa B (normlisa) Söötmed ja reaktiivid .....                              | 15 |
| Lisa C (teatmelisa) Meetodi valideerimisuuringud ja toimivusnäitajad ..... | 21 |
| Kirjandus.....                                                             | 24 |

## EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 21528-1:2017) on koostanud tehniline komitee ISO/TC 34 „Food products“ koostöös tehnilise komiteega CEN/TC 275 „Food analysis - Horizontal methods“, mille sekretariaati haldab DIN.

Euroopa standardile tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2018. a jaanuariks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2018. a jaanuariks.

Tuleb pöörata tähelepanu võimalusele, et standardi mõni osa võib olla patendiõiguse objekt. CEN ei vastuta sellis(t)e patendiõigus(t)e väljaselgitamise ega selgumise eest.

Standard on koostatud mandaadi alusel, mille on Euroopa Standardimiskomiteele (CEN) andnud Euroopa Komisjon ja Euroopa Vabakaubanduse Assotsiatsioon.

CEN-i/CENELEC-i sisereeglite järgi peavad Euroopa standardi kasutusele võtma järgmiste riikide rahvuslikud standardimisorganisatsioonid: Austria, Belgia, Bulgaaria, Eesti, endine Jugoslaavia Makedoonia Vabariik, Hispaania, Holland, Horvaatia, Iirimaa, Island, Itaalia, Kreeka, Küpros, Leedu, Luksemburg, Läti, Malta, Norra, Poola, Portugal, Prantsusmaa, Rootsi, Rumeenia, Saksamaa, Serbia, Slovakkia, Sloveenia, Soome, Šveits, Taani, Tšehhi Vabariik, Türgi, Ungari ja Ühendkuningriik.

### Jõustumisteade

CEN on standardi ISO 21528-1:2017 teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 21528-1:2017.

## 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).

Selle dokumendi väljatöötamiseks kasutatud ja edasiseks haldamiseks mõeldud protseduurid on kirjeldatud ISO/IEC direktiivide 1. osas. Eriti tuleb silmas pidada eri heakskiidukriteeriumeid, mis on eri liiki ISO dokumentide puhul vajalikud. See dokument on kavandatud ISO/IEC direktiivide 2. osas esitatud toimetamisreeglite kohaselt (vt [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

Tuleb pöörata tähelepanu võimalusele, et standardi mõni osa võib olla patendiõiguse objekt. ISO ei vastuta sellis(t)e patendiõigus(t)e väljaselgitamise ega selgumise eest. Dokumendi väljatöötamise jooksul väljaselgitatud või selgunud patendiõiguste üksikasjad on esitatud peatükis „Sissejuhatus“ ja/või ISO-le saadetud patentide deklaratsioonide loetelus (vt [www.iso.org/patents](http://www.iso.org/patents)).

Mis tahes selles dokumendis kasutatud äriiline käibenimi on kasutajate abistamise eesmärgil esitatud teave ja ei kujuta endast toetusavaldust.

Selgitused vastavushindamisega seotud ISO eriomaste terminite ja väljendite kohta ning teave selle kohta, kuidas ISO järgib WTO tehniliste kaubandustõkete lepingus sätestatud põhimõtteid, on esitatud järgmisel aadressil: [www.iso.org/iso/foreword.html](http://www.iso.org/iso/foreword.html).

Dokumendi on koostanud Euroopa Standardimiskomitee (CEN) tehniline komitee CEN/TC 275 „Food analysis — Horizontal methods“ koostöös ISO tehnilise komitee ISO/TC 34 „Food products“ alamkomiteega SC 9 „Microbiology“ ISO ja CEN-i vahelise tehnilise koostöö lepingu kohaselt (Viini leping).

Teine väljaanne tühistab ja asendab esimest väljaannet (ISO 21528-1:2004), mis on tehniliselt üle vaadatud ja milles on tehtud järgmised peamised muudatused:

- MPN meetod on muutunud teatmelisaks A;
- eelrikastamise etapp BPW-s, millele järgneb rikastamine EE puljongis, on muudetud rikastamiseks BPW-s <sup>[7]</sup> ja kinnitamine toimub nüüd glükoosi OF söötmes, mitte glükoosiagaris;
- söötmete kvaliteedikontrolliks on lisatud söötmete toimivuse kontrollimine;
- toimivuse näitajad selle meetodi läbiviimiseks on lisatud lisasse C.

Standardisarja ISO 21528 osade loetelu on leitav ISO veebilehelt.

## SISSEJUHATUS

See dokument annab üldjuhised nende toodete uurimiseks, millel puuduvad rahvusvahelised standardid, ja neid tuleb arvestada organisatsioonidel, kes valmistavad ette mikrobioloogilisi katsemeetodeid toidule või loomasöödale. Seoses toodete suure mitmekesisusega selles kasutusvaldkonnas ei pruugi need juhised olla kõigis üksikasjades teatud toodete analüüsimiseks sobilikud ja mõne teise toote korral võib olla vajalik teistsuguste meetodite kasutamine. Siiski loodetakse, et igal juhul üritatakse antud juhiseid kasutada nii palju kui võimalik ja juhistest kõrvalekaldumine on õigustatud vaid tehnilistel põhjustel.

Eessõnas loetletud peamised muudatused, mis on selles dokumendis võrreldes standardiga ISO 21528-1:2004 tehtud, on märkimisväärsed (vt ISO 17468).

Katsemeetodite harmoneerimine ei saa toimuda kohe ja teatud tooterühmadele võivad juba olemas olla rahvusvahelised standardid ja/või rahvuslikud standardid, mis ei ole kooskõlas selle horisontaalmeetodiga. Loodetavasti arvestatakse selliste standardite ülevaatamisel selle dokumendiga ja kooskõlastatakse vastavad muudatused nii, et võrreldes selle horisontaalmeetodiga säilivad vaid hästi põhjendatud tehnilistest asjaoludest tingitud lahknemised.

**HOIATUS!** Selleks, et kaitsta laboripersonali tervist, on oluline, et katseid *Enterobacteriaceae* tuvastamiseks viiakse läbi asjakohaselt varustatud laborites kompetentse mikrobioloogi järelevalve all ning kõigi inkubeeritud materjalide jäätmekäitlusel ollakse eriti hoolsad. Seda dokumenti kasutavad isikud peaksid olema tuttavad tavapärase laboripraktikatega. Selle dokumendi eesmärk ei ole käsitleda kõiki selle kasutamisega seotud ohutusaspekte. Kasutaja kohustus on sisse seada asjakohased ohutus- ja tervisepraktikad.

## 1 KÄSITLUSALA

Selles dokumendis määratletakse rikastamisega meetod *Enterobacteriaceae* tuvastamiseks. See on rakendatav

- inimtoiduks ja loomasöödaks ette nähtud toodetele ja
- esmatasandi tootmise, toidutootmise ja toidukäitlemise valdkonna keskkonnaproovidele.

Seda meetodit rakendatakse,

- kui määratavad mikroorganismid vajavad eeldatavalt kasvuvõime turgutamiseks rikastamist ja
- kui arvukus on eeldatavalt alla 100 milliliitri või grammi katseproovi kohta.

Selle dokumendi rakendatavuse piirang on tingitud meetodi tundlikkuse suurest varieerumisest (vt peatükki 11).

**MÄRKUS** Arvulist määramist võib pärast inkubeerimist vedelsöötmes teostada kõige tõenäosema arvu (*most probable number*, MPN) meetodil. Vt lisa A.

## 2 NORMIVIITED

Allpool nimetatud dokumentidele on tekstis viidatud selliselt, et nende sisu kujutab endast kas osaliselt või terveniisti selle dokumendi nõudeid. Dateeritud viidete korral kehtib üksnes viidatud väljaanne. Dateerimata viidete korral kehtib viidatud dokumendi uusim väljaanne koos võimalike muudatustega.

ISO 6887 (kõik osad). Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination

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

ISO 11133. Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media

## 3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED

Standardi rakendamisel kasutatakse allpool esitatud termineid ja määratlusi.

ISO ja IEC hoiavad alal standardimisel kasutamiseks olevaid terminoloogilisi andmebaase järgmistel aadressidel:

- IEC Electropedia: kättesaadav veebilehelt <http://www.electropedia.org/>;
- ISO veebipõhine lugemisplatvorm: kättesaadav veebilehelt <https://www.iso.org/obp/>.