

See dokument on EVS-i poolt loodud eelvaade

TOIDU JA LOOMASÖÖTADE MIKROBIOLOOGIA
Üldnõuded ja juhised mikrobioloogilisteks uuringuteks

Microbiology of food and animal feeding stuffs
General requirements and guidance for microbiological
examinations
(ISO 7218:2007)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 7218:2007 ingliskeelse teksti sisu poolest identne tõlge eesti keelde ja sellel on sama staatus mis jõustumisteate meetodil vastuvõetud originaalversioonil. Tõlgenduserimeelsuste korral tuleb lähtuda ametlikes keeltes avaldatud tekstidest;
- jõustunud Eesti standardina inglise keeles veebruaris 2008;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2012. aasta aprillikuu numbris.

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

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

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 7218:2007 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 15.08.2007.	Date of Availability of the European Standard EN ISO 7218:2007 is 15.08.2007.
---	--

See standard on Euroopa standardi EN ISO 7218:2007 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 7218:2007. 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: laboratooriumi ruumid, laboratooriumi seadmed, laboratoorsed proovid, loomasöödad, mikrobioloogilise analüüsi tulemuste hindamine, mikrobioloogilised meetodid, mikrobioloogilised uuringud, toit
Hinnagrupp W

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

EUROOPA STANDARD
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE
EUROPÄISCHE NORM

EN ISO 7218

August 2007

ICS 07.100.30

English Version

**Microbiology of food and animal feeding stuffs - General
requirements and guidance for microbiological examinations
(ISO 7218:2007)**

Microbiologie des aliments - Exigences générales et
recommandations (ISO 7218:2007)

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln -
Allgemeine Anforderungen und Leitlinien für
mikrobiologische Untersuchungen (ISO 7218:2007)

This European Standard was approved by CEN on 19 April 2007.

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 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 Management Centre has the same status as the official versions.

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



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

Management Centre: rue de Stassart, 36 B-1050 Brussels

SISUKORD

EESSÕNA.....	4
SISSEJUHATUS.....	5
1 KÄSITLUSALA.....	6
2 NORMIVIITED	6
3 RUUMID.....	7
3.1 Üldine.....	7
3.2 Ohutuskaalutlused	7
3.3 Laboratooriumi kavandamine	7
3.4 Laboratooriumi pinnad	8
3.5 Ruumide asend ja sisustus.....	8
3.6 Puhastamine ja desinfitseerimine.....	9
4 PERSONAL	10
4.1 Üldine.....	10
4.2 Pädevus.....	10
4.3 Töötajate pädevuse järjepidevuse tõendamine.....	10
4.4 Hügieen.....	10
5 APARATUUR JA SEADMED.....	11
5.1 Üldine.....	11
5.2 Turvakapid	11
5.3 Kaalud ja gravimeetrilised lahjendajad	13
5.4 Homogenisaatorid, peenestussegurid ja segurid	13
5.5 pH-meeter	14
5.6 Autoklaav	15
5.7 Söötmevalmisti	16
5.8 Inkubaator	17
5.9 Külmik, külmsäilitusruum	18
5.10 Külmuti ja sügavkülmuti.....	18
5.11 Termoregulaatoriga vann.....	19
5.12 Aurutid, sealhulgas keevaveevannid	20
5.13 Steriliseerimisahi.....	20
5.14 Mikrolaineahi.....	21
5.15 Nõudepesumasin.....	22
5.16 Optiline mikroskoop	22
5.17 Gaasipõleti või külvinõelaahi	23
5.18 Söötmete ja reagentide dosaator	23
5.19 Keerissegur.....	24
5.20 Kolooniade loenduseseade	25
5.21 Seade kultuuride kasvatamiseks modifitseeritud atmosfääris.....	25
5.22 Tsentrifuug.....	26
5.23 Kuumutusplaat ja soojendussärk.....	26
5.24 Spiraalkülviseseade.....	27
5.25 Destillaatorid, deionisaatorid ja pöördosmoosi seadmed	27
5.26 Taimerid ja ajamõõteseadmed	28
5.27 Pipetid ja automaatpipetid	28
5.28 Termomeetrid ja temperatuuriseadmed, sealhulgas automaatmeerikud	29
5.29 Immunomagneetiline separaator	30
5.30 Filtratsioonisüsteem.....	31
5.31 Teised seadmed ja tarkvara	31
6 KLAASTARVIKUTE JA TEISTE LABORATOORSETE MATERJALIDE ETTEVALMISTAMINE.....	31
6.1 Ettevalmistamine	31
6.2 Steriliseerimine/dekontamineerimine.....	31
6.3 Ühekordse kasutusega seadmed ja materjalid.....	32
6.4 Puhaste klaastarvikute ja materjalide säilitamine.....	32
6.5 Steriilsete klaastarvikute ja materjalide käitlemine	32

6.6	Dekontamineerimine ja desinfitseerimine.....	32
6.7	Jäätmete käitlemine.....	33
6.8	Pesemine.....	33
7	SÖÖTMETE VALMISTAMINE JA STERILISEERIMINE.....	33
8	LABORATOORSED PROOVID.....	34
8.1	Proovi võtmine.....	34
8.2	Transport.....	34
8.3	Vastuvõtmine.....	35
8.4	Säilitamine.....	35
8.5	Katsekogus.....	35
9	ANALÜÜS.....	36
9.1	Hügieenilised ettevaatusabinõud analüüsimisel.....	36
9.2	Algsuspensiooni ja lahjenduste valmistamine.....	37
10	LOENDAMINE.....	38
10.1	Üldine.....	38
10.2	Loendamine tahkel söötmel.....	38
10.3	Tahkel söötmel saadud tulemuste arvutamine ja väljendamine.....	40
10.4	Pärmide ja hallituste loendamine.....	46
10.5	Loendamine vedelsöötme kasutamisel.....	46
11	AVASTAMISMEETOD (kvalitatiivne meetod).....	51
11.1	Üldine.....	51
11.2	Põhimõte.....	51
11.3	Määramatuse hindamine.....	52
12	KINNITUSTESTID.....	52
12.1	Üldine.....	52
12.2	Puhaskultuuride valmistamine.....	52
12.3	Grami järgi värvimine (modifitseeritud Huckeri tehnika).....	52
12.4	Biokeemiliste identifitseerimismeetodite kasutamine.....	54
12.5	Nukleiinhappe sondide kasutamine identifitseerimisel.....	54
12.6	Seroloogilised meetodid.....	54
13	KATSEPROTOKOLL.....	55
14	MIKROBIOLOOGILISTE MEETODITE VALIDEERIMINE.....	55
14.1	Referentmeetodite valideerimine.....	55
14.2	Alternatiivmeetodite valideerimine.....	55
14.3	Laborisiseste meetodite valideerimine.....	56
15	TULEMUSTE / KVALITEEDIKONTROLLI TEOSTAMISE KVALITEEDI TAGAMINE.....	56
15.1	Sisemine kvaliteedikontroll.....	56
15.2	Referenttüved.....	56
15.3	Välimine kvaliteedi hindamine (võrdluskatsed).....	56
	Lisa A (teatmelisa) Mõnede desoainete omadused.....	57
	Lisa B (normlisa) Kõige tõenäosema arvu (MPN) määramine.....	58
	Kirjandus.....	65

EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 7218:2007) on koostanud tehniline komitee ISO/TC 34 „Põllumajanduslikud toiduained“ koostöös tehnilise komiteega CEN/TC 275 „Toiduanalüüsid. Horisontaalmeetodid“, mille sekretariaati haldab DIN.

Euroopa standardile tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2008. a veebruariks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud 2008. a veebruariks.

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

Jõustumisteade

CEN on standardi ISO 7218:2007 teksti ilma ühegi muutuseta üle võtnud standardina EN ISO 7218:2007.

SISSEJUHATUS

Mikrobioloogiliste uuringute läbiviimisel on eriti oluline, et

- isoleeritakse ja loendatakse ainult neid mikroorganisme, mis on proovides;
- mikroorganismid ei saastaks keskkonda.

Selle saavutamiseks on vajalik pöörata tähelepanu personali hügieenile ja kasutada töös tehnikaid, mis välistavad niipalju kui võimalik kõrvalise saastumise.

Kuna selles rahvusvahelises standardis on võimalik tuua ainult mõningaid selliste ettevaatusabinõude näiteid, mida tuleb arvestada mikrobioloogilistel uuringutel, siis on esmatähtis tunda mikrobioloogilisi meetodeid ja asjasse puutuvaid mikroorganisme. On tähtis, et uuringuid tehakse nii täpselt kui võimalik, sealhulgas seirates ja dokumenteerides aspekte, mis võivad mõjutada mikroorganismide arvu arvutamist ja arvutamise tulemusi ning tulemuste määramatust.

Laboratooriumi juhataja vastutab, kas toimingud on ohutud ja kas neid võib pidada heaks laboritavaks.

Suur hulk toiminguid võib näiteks viia ristsaastumiseni ja analüüsija peab alati kontrollima tema kasutatud meetoditega saadud tulemuste õigsust.

Et uuringud korrektselt läbi viia, selleks tuleb laboratooriumi ehitamisel ja sisustamisel tarvitusele võtta teatud ettevaatusabinõud.

Teatud ettevaatusabinõusid tuleb rakendada mitte ainult hügieenilistel põhjustel, vaid ka selleks, et kindlustada tulemuste hea korratavus. Ei ole võimalik täpsustada kõiki ettevaatusabinõusid kõikides olukordades, kuid see rahvusvaheline standard pakub põhilisi meetmeid, mida tuleb rakendada, kui valmistatakse, steriliseeritakse, säilitatakse sötmeid ja kasutatakse seadmeid.

Kui järgitakse selles rahvusvahelises standardis toodud juhiseid, siis aitab see kaasa ka personali tervise säilitamisele ja ohutusele. Täiendavat teavet sellel teemal leiab kirjanduse osas loetletud kirjandusest.

Et eristada juhisenähtena antavat tekstiosa selles rahvusvahelises standardis, on see trükitud erinevas kirjatüübis (Times New Roman).

1 KÄSITLUSALA

See rahvusvaheline standard annab üldnõuded ja juhised/valikuvõimalused, mis on ette nähtud kolmeks peamiseks kasutusalaaks:

- ISO/TC 34/SC 9 või ISO/TC 34/SC 5 standardite rakendamiseks mikroorganismide avastamisel või loendamisel, edaspidi nimetatud „eristandardid“;
- toidumikrobioloogia laboratooriumidele heaks laboritavaks (eesmärk ei ole neid selles rahvusvahelises standardis detailiseerida, selleks on olemas kättesaadavad juhendid);
- juhendiks toidumikrobioloogia laboratooriumide akrediteerimisel (see rahvusvaheline standard kirjeldab tehnilisi nõudeid, vastavalt ISO/IEC 17025:2005 lisale B, mikrobioloogia laboratooriumide akrediteerimiseks riiklike organisatsioonide poolt).

Selle rahvusvahelise standardi nõuded asendavad olemasolevates eristandardites olevaid vastavaid nõudeid.

Täiendavad juhendid molekulaarbioloogilisteks uuringuteks on määratletud standardis ISO 22174.

See rahvusvaheline standard hõlmab bakterite, pärmide ja hallituste uurimist ja seda võib kasutada täiendina prioonide, parasiitide ja viiruste konkreetsele juhendile. See ei hõlma mikrobioloogilise päritoluga toksiinide või teiste metaboliitide (nt amiinide) uuringuid.

See rahvusvaheline standard rakendub toidu, loomasöödade, toidu tootmise keskkonna ja esmatootmistasandi mikrobioloogiale.

Selle rahvusvahelise standardi eesmärk on kindlustada toidumikrobioloogia uuringute seaduslikkus, aidata tagada, et nende uuringute läbiviimisel üldkasutatavad meetodid on samad kõikides laboratooriumides, aidata saada erinevates laboratooriumides ühtsed tulemused ja aidata kaasa laboratooriumi personali ohutusele nakatumise riskide ennetamisega.

2 NORMIVIITED

Alljärgnevalt nimetatud dokumendid on vajalikud selle standardi rakendamiseks. Dateeritud viidete korral kehtib üksnes viidatud väljaanne. Dateerimata viidete korral kehtib viidatud dokumendi uusim väljaanne koos võimalike muudatustega.

ISO 835 (kõik osad)¹. Laboratory glassware — Graduated pipettes

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

ISO 8199. Water quality — General guidance on the enumeration of micro-organisms by culture

ISO 8261². Milk and milk products — General guidance for the preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological examination

ISO 8655-1. Piston-operated volumetric apparatus — Part 1: Terminology, general requirements and user recommendations

¹ Eesti standardi märkus. Alates aastast 2007 on vastavad nõuded reguleeritud standardiga ISO 835, Eestis EVS-EN ISO 837:2007.

² Eesti standardi märkus. Alates aastast 2010 on vastavad nõuded reguleeritud standardiga ISO 6887-5, Eestis EVS-EN ISO 6887-5:2010.

ISO/TS 11133 (kõik osad). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media

ISO 16140. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Protocol for the validation of alternative methods

ISO/TS 19036. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations

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

3 RUUMID

3.1 Üldine

See peatükk annab üldised nõuded, näiteks mikrobioloogia laboratooriumi kujundamise ja organiseerimise kavandamisele.

Esmatootmistasandi proovide uurimine (eriti proovi vastuvõtt ja proovi valmistamine) peab olema eraldatud teiste proovide uurimisest, et vähendada ristasaastumise riske.

3.2 Ohutuskaalutlused

Laboratooriumi kujundus peab vastama ohutusnõuetele, mis sõltuvad mikroorganismi tüübist. Selleks on mikroorganismid liigitatud nelja riskikategooriasse:

— **1. riskikategooria** (risk puudub või on väga madal üksikisikule ja üldsusele).

Mikroorganism, mis tõenäoselt ei põhjusta inimese või looma haigestumist.

— **2. riskikategooria** (mõõdukas risk üksikisikule, madal risk üldsusele).

Patogeen, mis võib põhjustada inimese või looma haigestumist, kuid pole tõenäoliselt tõsiselt ohtlik laboratooriumi töötajatele, üldsusele või keskkonnale. Kokkupuude laboratooriumis võib põhjustada tõsist inimeste nakatumist, kuid tõhus ravi ja ennetavad meetmed on kättesaadavad ja nakkuse leviku risk on piiratud.

— **3. riskikategooria** (suur risk üksikisikule, madal risk üldsusele).

Patogeen, mis tavaliselt põhjustab tõsist inimeste või loomade haigestumist, kuid tavaliselt ei levi ühelt nakatunud isikult teisele. Tõhus ravi ja ennetavad meetmed on kättesaadavad.

— **4. riskikategooria** (suur risk üksikisikule ja üldsusele).

Patogeen, mis tavaliselt põhjustab tõsist inimese või looma haigestumist ja mis võib otseselt või kaudselt kergelt üle kanduda ühelt isikult teisele. Tõhus ravi ja ennetavad meetmed ei ole tavaliselt kättesaadavad.

HOIATUS – Tutvuda riiklike eeskirjadega, mis määratlevad täpsemalt mikroorganismide riskikategooriad antud riigi piires.

3.3 Laboratooriumi kavandamine

Allpool on kirjeldatud laboratooriumi kavandamise suunised, mis katavad toidumikrobioloogia 1., 2. ja 3. riskikategooriasse kuuluvate mikroorganismide uuringuid.

Tuleb märkida, et sõltuvalt kohalikust seadusandlusest võivad vajalikud olla täiendavad ohutusabinõud.