

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA

Horisontaalmeetod *Listeria monocytogenes*'e ja *Listeria* spp. tuvastamiseks ja loendamiseks

Osa 1: Tuvastamismeetod

Microbiology of the food chain

Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp.

**Part 1: Detection method
(ISO 11290-1:2017)**

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 11290-1:2017 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 juulis 2017;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2018. aasta jaanuarikuu numbris.

Standardi tõlke koostamise ettepaneku on esitanud tehniline komitee EVS/TK 1 „Toit“, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardikeskus.

Standardi on tõlkinud Julia Koskar, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 1.

Sellesse standardisse on parandus EVS-EN ISO 11290-1:2017/AC:2018 sisse viidud ja tehtud parandused tähistatud sümbolitega  .

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 11290-1:2017 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 14.06.2017.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 11290-1:2017 is 14.06.2017.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 11290-1:2017 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 11290-1:2017. 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.

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; telefon 605 5050; e-post info@evs.ee

English Version

**Microbiology of the food chain - Horizontal method for the
detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and
of *Listeria* spp. - Part 1: Detection method
(ISO 11290-1:2017)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode
horizontale pour la recherche et le dénombrement de
Listeria monocytogenes et de *Listeria* spp. - Partie 1:
Méthode de recherche (ISO 11290-1:2017)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales
Verfahren für den Nachweis und die Zählung von
Listeria monocytogenes und von *Listeria* spp. - Teil 1:
Nachweisverfahren (ISO 11290-1:2017)

This European Standard was approved by CEN on 6 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.....	4
EESSÕNA.....	5
SISSEJUHATUS.....	6
1 KÄSITLUSALA.....	7
2 NORMIVIITED.....	7
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED.....	7
4 PÕHIMÕTE.....	8
4.1 Üldine.....	8
4.2 Esmane rikastus selektiivses vedelas vähendatud selektiivsete ühendite kontsentratsiooniga rikastussöötmes (pool-Fraser puljong).....	8
4.3 Teine rikastus selektiivse vedela rikastussöötmega, mille selektiivsed ühendid on kontsentreeritud (Fraser puljong).....	8
4.4 Väljakülv ja identifitseerimine.....	9
4.5 Kinnitamine.....	9
5 SÖÖTMED JA REAGENDID.....	9
6 SEADMED JA TARVIKUD.....	9
7 PROOVI VÕTMINE.....	10
8 PROOVIDE ETTEVALMISTAMINE.....	10
9 ANALÜÜSI KÄIK.....	10
9.1 Katseproovi kogus ja algsuspensioon.....	10
9.2 Esmane rikastus.....	10
9.3 Teine rikastus.....	11
9.4 Väljakülv ja identifitseerimine.....	11
9.4.1 Üldine.....	11
9.4.2 Ottaviani ja Agosti kohane <i>Listeria</i> agarsööde.....	11
9.4.3 Teine selektiivne sööde.....	12
9.5 <i>L. monocytogenes</i> 'e või <i>Listeria</i> spp. kolooniate kinnitamine.....	12
9.5.1 Kolooniate kinnitamiseks väljavahimine.....	12
9.5.2 <i>L. monocytogenes</i> 'e kinnitamine.....	13
9.5.3 <i>Listeria</i> spp. kinnitamine.....	17
9.6 Morfoloogiliste ja füsioloogiliste omaduste ning biokeemiliste reaktsioonide interpreteerimine.....	18
9.7 Isoleeritud tüvede lisatüpeerimine (valikuline).....	18
10 TULEMUSTE VÄLJENDAMINE.....	18
11 MEETODI TOIMIVUSNÄITAJAD.....	18
11.1 Meetodi valideerimise analüüs.....	18
11.2 Tundlikkus.....	18
11.3 Spetsiifilisus.....	18
11.4 Avastamispää (LOD ₅₀).....	18
12 KATSEPROTOKOLL.....	18
13 KVALITEEDI KINDLUSTAMINE.....	19
Lisa A (normlisa) Analüüsi skeem.....	20
Lisa B (normlisa) Söötmete ja reagentide koostis ning valmistamine.....	21
Lisa C (teatmelisa) <i>Listeria</i> spp. eristamine teistest perekondadest.....	34

Lisa D (teatmelisa) Reaktsioonid <i>Listeria</i> liikide identifitseerimiseks	35
Lisa E (teatmelisa) <i>Listeria</i> selektiivsed agarid	38
Lisa F (teatmelisa) Laboritevahelise <i>Listeria monocytogenes</i> 'e tuvastamise uuringute tulemused.....	39
Kirjandus.....	43

See dokument on EVS-i poolt loodud eelvaade

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 11290-1:2017) 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 2017. a detsembriks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2017. a detsembriks.

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.

See dokument asendab standardit EN ISO 11290-1:1996.

Standard on koostatud mandaadi alusel, mille on Euroopa Standardimiskomitee (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 11290-1:2017 teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 11290-1:2017.

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. Seda dokument on kavandatud ISO/IEC direktiivide 2. osas esitatud toimetamisreeglite kohaselt (vt 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).

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

Selgitused standardite vabatahtliku kasutuse ja 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.

Selle dokumendi on koostanud Euroopa Standardimiskomitee (CEN-i) 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 kokkuleppe (Viini kokkuleppe) kohaselt.

Teine väljaanne tühistab ja asendab esimest väljaannet (ISO 11290-1:1996), mida on tehniliselt üle vaadatud. See sisaldab ka muudatust ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004.

Peamised muudatused võrreldes standardiga ISO 11290-1:1996 on järgmised:

- *Listeria monocytogenes*'e tuvastamine on muudetud alljärgnevalt.
- Esmane rikastus pool-Fraser puljongis: inkubeerimine 25 h ± 1 h.
- Teine rikastus Fraser puljongis: inkubeerimine 24 h ± 2 h.^[29]
- Pool-Fraser ja Fraser puljongeid võib enne ümberkülvi või isoleerimist selektiivsetele agaritele hoida jahedas maksimaalselt 72 h.
- Isoleerimistasside hoiustamine: inkubeeritud tasse võib enne lugemist hoida jahedas maksimaalselt kaks päeva.
- Mikroskoopia on kinnitamiseks valikuline juhul, kui isoleerimisagar võimaldab eristada patogeenset ja mittepatogeenset *Listeria* spp.
- CAMP test ja katalaasi test on valikulised.
- Uute soorituslike omaduste kaasamine.
- *Listeria* spp. tuvastamine on lisatud käsitlusalasse ja pealkirja on vastavalt muudetud.

Kõikide standardisarja ISO 11290 osade loetelu on loetav ISO veebilehelt.

SISSEJUHATUS

Eessõnas välja toodud põhilised muudatused, mida selles dokumendis kirjeldatakse, on standardiga ISO 11290:1996 võrreldes märkimisväärsed (vaata ISO 17468^[28]). Tehniliste muudatuste hindamise käigus jõuti järeldusele, et need ei mõjuta oluliselt meetodi soorituse omadusi või testi tulemusi.

Toidu ja loomasööda toodangu suure varieeruvuse tõttu ei pruugi see horisontaalmeetod olla sobilik kõikides üksikasjades teatud toodete analüüsimiseks ning võib tekkida vajadus teise või spetsiifilisema meetodi kasutamiseks. Igal juhul tuleb kasutada selles dokumendis kirjeldatud horisontaalmeetodi nii mitut etappi kui võimalik. Meetodist kõrvalekaldumine on õigustatud vaid tehnilistel põhjustel.

Selle meetodi järgmisel ülevaatomisel võetakse arvesse kogu saadaolev informatsioon horisontaalmeetodi rakendamise ulatuse kohta ning meetodist kõrvalekaldumise põhjused teatud toodete puhul.

Analüüsimetodite harmoneerimine ei saa toimuda koheselt ning teatud tootegruppide jaoks on juba olemas rahvusvahelised standardid ja/või rahvuslikud standardid, mis ei ole kooskõlas selle horisontaalmeetodiga. Loodetavasti arvestatakse taoliste standardite ülevaatomisel selle dokumendiga ning tehakse vastavad muudatused nii, et säilivad vaid hästi põhjendatud tehnilistest asjaoludest tingitud lahknemised.

HOIATUS! Laboripersonali ohutust arvestades on oluline, et *L. monocytogenes*'e ja *Listeria* spp. tuvastamise analüüsid oleksid läbi viidud üksnes nõuetekohaselt varustatud laboratooriumites kvalifitseeritud mikrobioloogi kontrolli all ning et kõik inkubeeritud materjalid oleks hävitatud väga hoolikalt. Selle dokumendiga kokkupuutuvad isikud peavad tundma head laboritava. Selle dokumendi eesmärk ei ole käsitleda kõiki ohutusega seotud aspekte, vaid selle kasutamisega seonduvaid. Iga kasutaja on kohustatud kehtestama asjakohaseid ohutus- ja hügieenimenetlusi. *L. monocytogenes*'e ja *Listeria* spp. tuvastamise analüüse on tungivalt soovituslik läbi viia 2. bioohutuse taseme tingimustega laboratooriumites. Naissost personali on tungivalt soovituslik teavitada loote arenguga seotud otsesest riskist, mis tuleneb ema nakatumisest *L. monocytogenes*'e ja *Listeria* spp.'ga kokkupuute kaudu, ning et lapseootel olles, teatud haigusseisundite puhul või rakkude poolt vahendatud immuunsust kahjustavate haiguste esinemise korral ei soovitata personalil käsitleda *L. monocytogenes*'e ja *Listeria* spp. kultuure.

1 KÄSITLUSALA

See dokument kirjeldab horisontaalmeetodit:

- *L. monocytogenes*'e tuvastamiseks ning
- *Listeria* spp. (kaasa arvatud *L. monocytogenes*) tuvastamiseks.

See dokument on rakendatav:

- inimtarbimiseks mõeldud toidu ja loomade sööda ning
- toidu tootmis- ja käitlemisala keskkonnaproovidele.

Võimalik, et teatud lisaks kirjeldatud *Listeria* liigid ei ole selle meetodiga tuvastatavad või kinnitatavad.^{[5],[10],[12],[14],[25],[26],[27]}

2 NORMIVIITED

Alljärgnevalt 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 food and animal feed — 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 alljärgnevalt 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/>.