

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA

Horisontaalmeetod koagulaaspositiivsete stafülokokkide (*Staphylococcus aureus* ja teised liigid) loendamiseks

Osa 2: Küülikuplasma-fibrinogeenagarsöötme kasutamise meetod

Microbiology of the food chain

Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species)

**Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium
(ISO 6888-2:2021)**

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 6888-2:2021 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 septembris 2021;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmunisega EVS Teataja 2021. aasta septembrikuu numbris.

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

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

Standardi mõnele sätetele on lisatud Eesti olusid arvestavaid märkusi, selgitusi ja täiendusi, mis on tähistatud Eesti maatahisega EE.

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 6888-2:2021 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 08.09.2021.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 6888-2:2021 is 08.09.2021.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 6888-2:2021 eestikeelne [et] versioon. Teksti tõlke on avaldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus ning sellel on sama staatus ametlike keelte versioonidega.

This standard is the Estonian [et] version of the European Standard EN ISO 6888-2:2021 It was translated by the Estonian Centre for Standardisation and Accreditation. 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 Standardimis- ja Akrediteerimiskeskusele

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

Kui Teil on küsimusi standardite autoriõiguse kaitse kohta, võtke palun ühendust Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskusega: Koduleht www.evs.ee; telefon 605 5050; e-post info@evs.ee

English Version

Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 2: Method using rabbit plasma fibrinogen agar medium (ISO 6888-2:2021)

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (Staphylococcus aureus et autres espèces) - Partie 2 : Méthode utilisant le milieu gélosé au plasma de lapin et au fibrinogène (ISO 6888-2:2021)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven Staphylokokken (Staphylococcus aureus und andere Spezies) - Teil 2: Verfahren mit Kaninchenplasma/Fibrinogen-Agar (ISO 6888-2:2021)

This European Standard was approved by CEN on 27 April 2021.

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, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Norway, Poland, Portugal, Republic of North Macedonia, 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: Rue de la Science 23, B-1040 Brussels

SISUKORD

EUROOPA EESSÕNA	3
EESSÕNA	4
SISSEJUHATUS	6
1 KÄSITLUSALA	7
2 NORMIVIITED	7
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED	8
4 PÕHIMÕTE	8
4.1 Üldist	8
4.2 Inkubeerimine	8
4.3 Loendamine	8
5 SÖÖTMED JA REAGENDID	8
6 SEADMED JA TARVIKUD	9
7 PROOVI VÕTMINE	9
8 KATSEPROOVI ETTEVALMISTAMINE	10
9 ANALÜÜSI KÄIK (VT JOONIS A.1)	10
9.1 Proovi kogus, algsuspensioon ja lahjendused	10
9.2 Külvamine ja inkubeerimine	10
9.3 Kolooniate loendamine	11
9.3.1 Üldine RPFA söötmel kasvavate kolooniate kirjeldus	11
9.3.2 Koloonia loendamise protseduur	11
10 TULEMUSTE VÄLJENDAMINE	11
11 MEETODI SUUTLIKKUSPARAMEETRID	11
11.1 Laboritevaheline uurimus	11
11.2 Korduvuse piirmäär	12
11.3 Korratavuse piirmäär	12
12 KATSEPROTOKOLL	13
13 KVALITEEDI KINDLUSTAMINE	13
Lisa A (normlisa) Analüüsi vooskeem	14
Lisa B (normlisa) Söötmed ja reagensid	15
Lisa C (teatmelisa) Laboritevahelise uurimuse tulemused	19
Kirjandus	22

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 6888-2:2021) on koostanud tehniline komitee ISO/TC 34 „Food products“ koostöös tehnilise komiteega CEN/TC 463 „Microbiology of the food chain“, mille sekretariaati haldab AFNOR.

Euroopa standardile tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2022. a märtsiks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2022. a märtsiks.

Tuleb pöörata tähelepanu võimalusele, et dokumendi 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 6888-2:1999.

Igasugune tagasiside ja küsimused selle dokumendi kohta tuleks suunata dokumendi kasutaja rahvuslikule standardimisorganisatsioonile. Täielik loetelu nende organisatsioonide kohta on leitav CEN-i veebilehelt.

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

Jõustumisteade

CEN on standardi ISO 6888-2:2021 teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 6888-2:2021.

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 ja riiklikud organisatsioonid ning vabaihendused. 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).

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 äri- või kaubanimi 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.

Dokumendi on koostanud tehnilise komitee ISO/TC 34 „Food products“ alamkomitee SC 9 „Microbiology“ koostöös Euroopa standardimiskomitee (CEN) tehnilise komiteega CEN/TC 463 „Microbiology of the food chain“ ISO ja CEN-i vahelise tehnilise koostöö lepingu kohaselt (Viini leping).

Teine väljaanne tühistab ja asendab esimest väljaannet (ISO 6888-2:1999), mis on tehniliselt üle vaadatud. Samuti sisaldab see muudatust ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003. Peamised muudatused võrreldes eelmise väljaandega on järgmised:

- pealkirja on muudetud nii, et see oleks seotud toiduahelaga;
- standardi ISO 6888-1 ja selle dokumendi staatust on täpsustatud;
- dokument on ühitatud standardiga ISO 7218:2007, st valada sulatatud agarsööde temperatuuril 44 °C kuni 47 °C;
- kõik „35 °C või 37 °C“ esinemised on vahetatud „34 °C kuni 38 °C“ vastu, kui see on asjakohane;
- kõik „18 h kuni 24 h“ inkubeerimisaja esinemised on vahetatud „24 h ± 2 h“ vastu, kui see on asjakohane;
- lisatud on nõuded standardi ISO 11133 kasutamiseks;
- kõiki olemasolevaid proovivõtumeetoditega seotud standardeid on ajakohastatud;
- lisas A toodud analüüsi vooskeemi on uuendatud;
- söötmed ja reagendid koos suutlikkuse kontrolliga on lisatud ja paigutatud lissasse B;
- küülikuplasma-fibrinogeenagari (*rabbit plasma fibrinogen agar*, RPFA) söötme suutlikkuse kontroll on lisatud;
- laboritevahelise uuringu (ISO 6888-2:1999/Amd 1:2003, täpsusandmed) tulemused on ajakohastatud;
- kirjandust on uuendatud.

Kõikide standardisarja ISO 6888 osade loetelu on leitav ISO veebilehelt.

Igasugune tagasiside või küsimused selle dokumendi kohta tuleks suunata dokumendi kasutaja rahvuslikule standardimisorganisatsioonile. Täielik loetelu nende organisatsioonide kohta on leitav veebilehelt www.iso.org/members.html.

See dokument on EVS-i poolt loodud eelvaade

SISSEJUHATUS

ISO 6888-1, see dokument ja ISO 6888-3 iseloomustavad kolme horisontaalmeetodit koagulaaspositiivsete stafülokokkide tuvastamiseks ja loendamiseks, mille hulka loendatakse ka enterotoksiinogeensed tüved. Põhiliselt puudutab see *Staphylococcus aureus*'t, samuti *S. intermedius*'e tüvesid ja teatud *S. hyicus*'e tüvesid.

Selles dokumendis põhineb stafülokokkide kinnitamine positiivsel koagulaasreaktsioonil, kuid on täheldatud, et mõned *Staphylococcus aureus*'e tüved annavad nõrga positiivse koagulaasreaktsiooni. Viimati mainitud tüvesid on võimalik segi ajada teiste bakteritega, kuid neid saab eristada, kasutades lisakatseid, mis ei kuulu sellesse dokumenti, näiteks tundlikkuskatsed lüsostafiinile ning hemolüsiini, termostabiilse nukleaasi ja happe tootmiskatsed mannitoolist (vt ISO 7218 ja viide [13]).

Põhilisi tehnilisi muudatusi, mis on loetletud eessõnas ja selles dokumendis tutvustatud, peetakse eelmise versiooniga võrreldes väikesteks muudatusteks (vt ISO 17468). Neil on väike mõju selle meetodi suutlikkusparameetritele.

Laboritevahelise uuringu tulemused ja analüüsitud proovid on kirjeldatud lisas C.

Hoiatus! Laboripersonali tervise ohutust arvestades on oluline, et stafülokokkide loendamise analüüsid oleksid tehtud üksnes nõuetekohaselt varustatud laboratooriumites kvalifitseeritud mikrobioloogi kontrolli all ning et kõikide inkubeeritud materjalide hävitamise eest on hästi hoolt kantud. Selle dokumendiga kokkupuutuvad isikud peaksid tundma head laboritava. Selle dokumendi eesmärk ei ole käsitleda kõiki ohutusega seotud aspekte, vaid kirjeldada ainult selle kasutamisega seotud aspekte. Kasutaja vastutuseks on kehtestada asjakohaseid ohutus- ja tervishoiutavasid.

1 KÄSITLUSALA

See dokument määratleb horisontaalmeetodi koagulaaspositiivsete stafülokokkide määramiseks tahkel söötmel (küülikuplasma-fibrinogeenagarsööde) saadud kolooniate loendamise teel pärast aeroobset inkubeerimist temperatuuril 34 °C kuni 38 °C (vt viide [10]).

See dokument on kohaldatav

- inimtoiduks ettenähtud toodetele,
- loomade toiduks ettenähtud toodetele,
- keskkonnaproovidele toidu ja sööda tootmis- ja käitlemispiirkondadest,
- tootmise esmatasandi proovidele.

See horisontaalmeetod oli algselt loodud kõikide toiduahelasse kuuluvate proovide analüüsimiseks.

Toiduahela toodete suure varieeruvuse tõttu on võimalik, et see horisontaalmeetod ei sobi igas üksikasjas kõikide toodete puhul. Siiski eeldatakse, et vajalikud muudatused on minimeeritud nii, et need ei põhjusta olulist kõrvalekallet sellest horisontaalmeetodist.

Tuginedes selle dokumendi avaldamise hetkeks kättesaadavale informatsioonile, ei peeta seda meetodit (täielikult) sobivaks fermenteeritud toodete või teiste *Staphylococcus* spp. (nt *S. xylosus*'e) baasil tehnoloogilist floorat sisaldavate toodete (nt toorpiimast valmistatud juustu ja teatud toore liha toodete) analüüsimiseks, mis tõenäoliselt on saastunud

- stafülokokkidega, mis moodustavad atüüpilisi kolooniaid Baird-Parkeri agarsöötmel;
- taustmikroflooraga, mis võib varjata otsitavaid kolooniaid.

Sellest hoolimata on nii standardile ISO 6888-1 kui ka sellele dokumendile antud samaväärne staatus.

2 NORMIVIITED

Allpool nimetatud dokumentidele on tekstis viidatud selliselt, et nende sisu kujutab endast kas osaliselt või tervenisti 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