

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA

Mikroorganismide loendamise horisontaalne meetod

Osa 1: Kolooniate loendamine sügavkülvitehnikat kasutades temperatuuril 30 °C

Microbiology of the food chain

Horizontal method for the enumeration of microorganisms

Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique (ISO 4833-1:2013

+ ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 4833-1:2013 ja selle muudatuse A1:2022 ingliskeelsete tekstide sisu poolest identne konsolideeritud tõlge eesti keelde ja sellel on sama staatus mis jõustumisteate meetodil vastu võetud originaalversioonidel. Tõlgenduserimeelsuste korral tuleb lähtuda ametlikes keeltes avaldatud tekstidest;
- jõustunud Eesti standardina inglise keeles detsembris 2013;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2022. aasta märtsikuu numbris.

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

Standardi on tõlkinud Imagoline OÜ, eestikeelse kavandi ekspertiisi on teinud Tiina Veskus, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 1.

Standardimuudatuse A1 tõlke koostamise ettepaneku on esitanud EVS/TK 1 „Toit“, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus ning rahastanud Majandus- ja Kommunikatsiooniministeerium.

Standardimuudatuse A1 tõlke on koostanud Julia Koskar, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 1.

Sellesse standardisse on muudatus A1 sisse viidud ja tehtud muudatused tähistatud sümbolitega **A1** **A1**.

Standard ISO 4833 koosneb järgmistest osadest üldpealkirjaga „Toiduahela mikrobioloogia. Mikroorganismide loendamise horisontaalne meetod“:

- Osa 1: Kolooniade loendamine sügavkülvil tehnikat kasutades temperatuuril 30 °C,
- Osa 2: Kolooniade loendamine pindkülvil tehnikat kasutades temperatuuril 30 °C.

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 4833-1:2013 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 04.09.2013, muudatuse A1 12.01.2022.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 4833-1:2013 is 04.09.2013, the Date of Availability of the Amendment A1 is 12.01.2022.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 4833-1:2013 ja selle muudatuse A1:2022 eestikeelne [et] konsolideeritud versioon. Teksti tõlke on avaldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus ning sellel on sama staatus ametlike keelte versioonidega.

This standard is the Estonian [et] consolidated version of the European Standard EN ISO 4833-1:2013 and its Amendment A1:2022. 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 microorganisms - Part 1: Colony count at
30 °C by the pour plate technique
(ISO 4833-1:2013 + ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode
horizontale pour le dénombrement des micro-
organismes - Partie 1: Comptage des colonies à 30 °C
par la technique d'ensemencement en profondeur
(ISO 4833-1:2013 + ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales
Verfahren zur Zählung von Mikroorganismen - Teil 1:
Koloniezählung bei 30 °C mittels Gussplattenverfahren
(ISO 4833-1:2013 + ISO 4833-1:2013/Amd 1:2022)

This European Standard was approved by CEN on 26 July 2013, Amendment A1 was approved by CEN on 1 January 2022.

CEN members are bound to comply with the CEN/CENELEC Internal Regulations which stipulate the conditions for giving this European Standard and its amendment 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 and its Amendment A1 exist 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
☐ ^{A1} MUUDATUSE A1 EUROOPA EESSÕNA ☐ ^{A1}	3
EESSÕNA	4
☐ ^{A1} MUUDATUSE AMD 1 EESSÕNA ☐ ^{A1}	5
1 KÄSITLUSALA	6
2 NORMIVIITED	6
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED	7
4 PÕHIMÕTE	7
5 SÖÖTMED JA LAHJENDID	7
5.1 Üldine	7
5.2 Lahjendid	7
5.3 Agarsööde: bakterite arvulise määramise agarsööde (PCA)	7
5.3.1 Koostis	7
5.3.2 Valmistamine	8
5.3.3 Söötme toimivuse kontrollimine	8
5.4 Ülevalamiseks kasutatav söode (vajaduse korral; vt 9.2.7)	8
5.4.1 Koostis	8
5.4.2 Valmistamine	9
6 APARATUUR	9
7 PROOVI VÕTMINE	9
8 KATSEPROOVI ETTEVALMISTAMINE	10
9 KATSE KÄIK	10
9.1 Katsekogus, algsuspensioon ja lahjendused	10
9.2 Külvamine ja inkubeerimine	10
9.3 Kolooniade loendamine	10
10 TULEMUSTE VÄLJENDAMINE	11
10.1 Arvutusmeetod	11
10.2 Kordustäpsus	11
10.2.1 Üldine	11
10.2.2 Korduvus	11
10.2.3 Korratavus	11
10.3 Katsetulemuste tõlgendamine	11
10.3.1 Üldine	11
10.3.2 Korduvuse tingimused	11
10.3.3 Korratavuse tingimused	12
11 KATSEPROTOKOLL	12
Lisa A (teatmelisa) Kriitilise vahe kasutamine tulemuste tõlgendamisel	13
Kirjandus	14

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 4833-1:2013) 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 2014. aasta märtsiks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2014. aasta märtsiks.

Tuleb pöörata tähelepanu võimalusele, et standardi mõni osa võib olla patendiõiguse subjekt. CEN-i [ja/või CENELEC-i] ei saa pidada vastutavaks sellis(t)e patendiõigus(t)e väljaselgitamise eest.

See dokument asendab koos standardiga EN ISO 4833-2:2013 standardit EN ISO 4833:2003.

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, Slovakkia, Sloveenia, Soome, Šveits, Taani, Tšehhi Vabariik, Türgi, Ungari ja Ühendkuningriik.

Jõustumisteade

CEN on standardi ISO 4833-1:2013 teksti ilma ühegi muutuseta üle võtnud standardina EN ISO 4833-1:2013.

[A1] MUUDATUSE A1 EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 4833-1:2013/A1:2022) 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 standardi EN ISO 4833-1:2013 muudatusele tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2022. a juuliks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2022. a juuliks.

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.

Igasugune tagasiside ja küsimused selle dokumendi kohta tuleks suunata dokumendi kasutaja rahvuslikule standardimisorganisatsioonile / rahvuslikule komiteele. 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 4833-1:2013/Amd 1:2022 teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 4833-1:2013/A1:2022. **[A1]**

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 ka ISO-ga seotud rahvusvahelised riiklikud organisatsioonid ning vabaühendused. 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, 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, www.iso.org/patents.

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

Selle dokumendi eest vastutab tehnilise komitee ISO/TC 34 „Food products“ alamkomitee SC 9 „Microbiology“.

Esimene väljaanne koos standardiga ISO 4833-2 tühistab ja asendab standardit ISO 4833:2003.

ISO 4833 koosneb üldpealkirja „Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms“ all järgmistest osadest:

- Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique,
- Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique.

[A1] MUUDATUSE AMD 1 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 ka ISO-ga seotud rahvusvahelised riiklikud organisatsioonid ning vabaühendused. 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 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.

Dokumendi on koostanud tehnilise komitee 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).

Kõikide standardisarja ISO 4833 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. **[A1]**

1 KÄSITLUSALA

A1 See dokument määratleb horisontaalse meetodi loendamaks selliseid mikroorganisme, mis on võimelised kasvama ja moodustama kolooniaid tardsöötmes pärast aeroobsetes tingimustes inkubeerimist temperatuuril 30 °C.

Selles dokumendis kirjeldatud meetod on kohaldatav

- inimtoiduks ettenähtud toodetele,
- loomade (sealhulgas lemmikloomade) söötmiseks ettenähtud toodetele,
- keskkonnaproovidele toidu ja sööda tootmis- ja käitlemispiirkondadest,
- kõikidele tootmise esmatasandi proovidele.

See meetod on sobilik mikroorganismide loendamiseks katseproovides, mille puhul on minimaalne loendatav kolooniate arv tassil 10, kuid meetod ei ole sellega piiratud. See vastab nakatumistasemele, mis on vedelate proovide puhul eeldatavasti kõrgem kui 10 CFU/ml või kõrgem kui 100 CFU/g tahkete proovide puhul.

EE MÄRKUS Ingliskeelse lühendi CFU eestikeelne vaste on PMÜ (pesa moodustav ühik).

See meetod on eelkõige sobilik

- toodetele, mille puhul on vajalik usaldusväärne loendamistulemus, kui on määratletud madal kvantifitseerimispiir;
- toodetele, mille puhul eeldatavasti esinevad laialivalgunud kolooniad, mis võivad varjutada teiste organismide kolooniaid, nt piim ja piimatooted võivad suure tõenäosusega sisaldada laialivalgunud *Bacillus* spp. kolooniaid;
- toodetele, mis eeldatavasti sisaldavad hapniku suhtes tundlikke baktereid, nt mõned piimhappebakterid, mis arenevad välja säilimisaja jooksul või säilitamisel modifitseeritud atmosfääris.

See horisontaalmeetod oli algselt välja töötatud toiduahelasse kuuluvate proovide analüüsimiseks. Toiduahela toodete suure varieeruvuse tõttu on võimalik, et see horisontaalmeetod ei ole sobilik igas üksikasjas kõikidele toodetele. Siiski on eeldatav, et vajalikud modifikatsioonid on minimeeritud nii, et need ei kajastuks selle horisontaalmeetodi märkimisväärse kõrvalekaldega.

Selle dokumendi avaldamise hetkeks saada oleva informatsiooni põhjal peetakse selle meetodi sobivust teatud fermenteeritud toidu ja loomasööda uurimiseks piiratuks ning teised söötmed või inkubeerimise tingimused võivad olla sobivamad. Seda meetodit saab siiski taoliste toodete puhul rakendada, kuigi on võimalik, et nendes toodetes domineerivaid mikroorganisme ei tuvastata tõhusalt. **A1**

2 NORMIVIITED

Alljärgnevalt loetletud dokumendid, mille kohta on standardis esitatud normiviited, on kas tervenisti või osaliselt vajalikud selle standardi rakendamiseks. 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 feeding stuffs — 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.

3.1

mikroorganism (*microorganism*)

mikroskoopilise suurusega üksus, kelleks võivad olla bakterid, seened, algloomad ja viirused

[ALLIKAS: ISO/TS 11139:2006,³ 2.26]

MÄRKUS Standardi ISO 4833 selle osa tähenduses loetakse mikroorganismideks bakterid, pärmid ja hallitused, kes on suutelised moodustama kolooniaid tingimustel, mis on täpselt määratletud standardi ISO 4833 selles osas.

4 PÕHIMÕTE

Sügavkülvi tehnikas kantakse kindlaks määratud kogus vedelat katseproovi või teiste toodete puhul kindlaks määratud kogus algsuspensiooni tühjale Petri tassile, seejärel lisatakse kindlaks määratud sulatatud agarsööde ja segatakse.

Ülejäänud tassid valmistatakse samades tingimustes, kasutades selleks katseproovi või algsuspensiooni kümnendlahjendusi.

Tassid inkubeeritakse aeroobsetes tingimustes temperatuuril 30 °C 72 tundi.

Mikroorganismide arv katseproovi ühe grammi või ühe milliliitri kohta arvutatakse kolooniate arvu põhjal, mis loendati vähem kui 300 kolooniat sisaldavatelt tassidelt.

5 SÖÖTMED JA LAHJENDID

5.1 Üldine

Söötme ettevalmistamisel, tootmisel ja kõlblikkuse katsetamisel järgida standardit ISO 11133.

5.2 Lahjendid

Kasutada lahjendit/lahjendeid, mis on kõnealusele tootele täpselt määratletud standardis ISO 6887 või uuritavat toodet käsitlevas rahvusvahelises eristandardis.

5.3 Agarsööde: bakterite arvulise määramise agarsööde (PCA)

5.3.1 Koostis

Ensümaatiliselt lagundatud kaseiin	5,0 g
Pärmiekstrakt	2,5 g
Glükoos, veevaba (C ₆ H ₁₂ O ₆)	1,0 g
Agar ^a	9 g kuni 18 g
Vesi	1000 ml

^a Sõltuvalt agar-geeli tugevusest.