

## VEE KVALITEET

### Veest keskkonna DNA proovide võtmine, kogumine ja säilitamine

#### Water quality

#### Sampling, capture and preservation of environmental DNA from water

## EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN 17805:2023 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 aprillis 2023;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2024. aasta novembrikuu numbris.

Standardi tõlke koostamise ettepaneku on esitanud tehniline komitee EVS/TK 47 „Vee kvaliteet“, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus ning rahastanud Majandus- ja Kommunikatsiooniministeerium.

Standardi on tõlkinud Riin Rebane.

|                                                                                                                                        |                                                                                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Euroopa standardimisorganisatsioon on teinud Euroopa standardi EN 17805:2023 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 15.03.2023.</b> | <b>Date of Availability of the European Standard EN 17805:2023 is 15.03.2023.</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|

|                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>See standard on Euroopa standardi EN 17805:2023 eestikeelne [et] versioon. Teksti tõlke on avaldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus ning sellel on sama staatus ametlike keelte versioonidega.</b> | <b>This standard is the Estonian [et] version of the European Standard EN 17805:2023. It was translated by the Estonian Centre for Standardisation and Accreditation. It has the same status as the official versions.</b> |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

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 13.060.70

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

English Version

## Water quality - Sampling, capture and preservation of environmental DNA from water

Qualité de l'eau - Échantillonnage, collecte et  
conservation de l'ADN environnemental prélevé dans  
l'eau

Wasserbeschaffenheit - Probenahme, Erfassung und  
Konservierung von Umwelt-DNA in Wasser

This European Standard was approved by CEN on 30 January 2023.

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, Türkiye 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  |
| SISSEJUHATUS.....                                            | 4  |
| 1 KÄSITLUSALA.....                                           | 5  |
| 2 NORMIVIITED.....                                           | 5  |
| 3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED.....                               | 5  |
| 4 PÕHIMÕTE.....                                              | 6  |
| 5 PROTSEDUUR.....                                            | 7  |
| 5.1 Üldist.....                                              | 7  |
| 5.2 Kaalutlused enne välitoid.....                           | 8  |
| 5.3 Vahendite ettevalmistus enne välitoid.....               | 8  |
| 5.4 eDNA proovivõtt veest.....                               | 8  |
| 5.5 Proovi säilitamine.....                                  | 9  |
| 6 VARUSTUS.....                                              | 10 |
| 7 SÄILITUSLAHUSED.....                                       | 11 |
| 7.1 Üldist.....                                              | 11 |
| 7.2 Näited säilituslahustest.....                            | 11 |
| 8 PROOVIVÕTU PROTOKOLL.....                                  | 12 |
| 8.1 Üldist.....                                              | 12 |
| 8.2 Proovi identifitseerimine ja omadused.....               | 12 |
| 8.3 Proovivõtukoht.....                                      | 12 |
| 8.4 Proovivõtutingimused.....                                | 12 |
| 8.5 Proovivõtt.....                                          | 12 |
| 9 PROOVIDE SAASTUMISE VÄLTIMINE.....                         | 13 |
| 9.1 Üldist.....                                              | 13 |
| 9.2 Varustusest tulenev saastumine.....                      | 13 |
| 9.3 Proovivõtuvarustuse saastest puhastamise protseduur..... | 14 |
| Lisa A (teatmelisa) Filtri tüübid.....                       | 15 |
| Kirjandus.....                                               | 16 |

## EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN 17805:2023) on koostanud tehniline komitee CEN/TC 230 „Water analysis“, mille sekretariaati haldab DIN.

Euroopa standardile tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2023. a septembriks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2023. a septembriks.

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.

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.

## SISSEJUHATUS

**HOIATUS!** Seda dokumenti kasutavad isikud peaksid olema tuttavad veeproovide võtmise juhistega bioloogilise mitmekesisuse hindamiseks. See dokument ei käsitle kõiki selle kasutamisega seotud ohutusprobleeme, kui neid on. Kasutaja vastutab sobilike ohutus- ja töötervishoiumeetmete rakendamise eest.

Lisaks tuleb enne proovide võtmist teavitada, hankida sertifikaate või lubasid, olenevalt riigisestest või rahvusvahelistest seadustest ja määrustest, näiteks tuleb kaaluda Nagoya protokoll geneetilistele ressurssidele juurdepääsu kohta (<https://www.cbd.int/abs/>).

Organismide seire on veeökosüsteemide seisundi hindamisel võtmetähtsusega ning seda nõuavad riiklikud ja rahvusvahelised õigusaktid, nagu Euroopa Liidu veepoliitika raamdirektiiv (2000/60/EÜ). Kirjeldatud on mitmeid meetodeid, kuidas jälgida organisme veekeskkonnas, mille tulemus on suur hulk Euroopa standardeid (nt EN 14011:2003, EN 14757:2015, EN 15460:2007). Need lähenemisviisid nõuavad aga huvipakkuvate organismide püüdmist ja/või kogumist, mis võib olla töömahukas ja aeganõudev protsess.

Võimalus tuvastada organismide esinemist ja/või suhtelise arvukuse kvantifitseerimist (nt [6]) veekeskkonnas keskkonna-DNA (eDNA) analüüsi abil on uudne vahend bioloogilise mitmekesisuse jälgimiseks paljudes taksonoomilistes rühmades, sealhulgas mikroorganismide, taimede ja loomade ([7][8][9]). See lähenemisviis võimaldab uurida organismide mitmekesisust, ilma et oleks vaja organisme otseselt isoleerida ja püüda, ning eeldatavasti mängib see võtmerolli tulevases bioseires, mille eesmärk on ajaliselt ja ruumiliselt hästi eristada liigivarusid [10]. Kuigi eDNA lähenemisviisi võimekusest on korduvalt kirjutatud [11], on suur vajadus eDNA-põhise veekogude bioloogilise mitmekesisuse hindamise kohaldamise standardiseerimiseks ([12], [13]). On oluline märkida, et eDNA-põhine bioseire ei võimalda praegu saada teatud populatsiooni parameetreid (nt isendi suurus, sugu), mida saab saada traditsiooniliste proovivõtumeetoditega.

See dokument annab juhiseid veeproovidest eDNA proovide võtmiseks ja säilitamiseks, käsitledes esimest ja üliolulist sammu edasiste eDNA-põhiste bioloogilise mitmekesisuse analüüsides jaoks. Konkreetne tehniline aruanne jõgede ja järvede põhjaelustiku ränivetikate rutiinse proovivõtu kohta, mis on kohandatud metatriipkoodi analüüsiks, on CEN/TR 17245:2018.

## 1 KÄSITLUSALA

See dokument määrab kindlaks veekeskkonnas oleva keskkonna DNA (eDNA) proovide võtmise, kogumise ja säilitamise protseduurid, mis pärinevad organismidest, mis on veekogus või on hiljuti veekogus esinenud, on seda külastanud või mille DNA on veekogusse viidud mingi mehhanismi kaudu. See dokument hõlmab ka proovide saastumise vältimise ja DNA kvaliteedi tagamise protseduure, filtreerimisprotseduuri põhiomadusi ja vahendeid ning aruandlusstandardeid.

See dokument ei hõlma eDNA kogumist biokiledest, setetest või sarnastest proovitüüpidest ega hõlma proovivõtu kavandamist.

## 2 NORMIVIITED

Selles dokumendis ei ole normiviiteid.

## 3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED

Dokumendi rakendamisel kasutatakse allpool esitatud termineid ja määratlusi.

ISO ja IEC hoiavad alal standardimisel kasutamiseks olevaid terminoloogiaandmebaase järgmistel aadressidel:

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

### 3.1

#### **ristsaastumine** (*cross contamination*)

mis tahes allika ja/või DNA tahtmatu ülekandmine ühest proovist teise

### 3.2

#### **saastest puhastamine** (*decontamination*)

protseduur DNA allika ja/või selle jälje eemaldamiseks materjalist, mis võib prooviga kokku puutuda

### 3.3

#### **suletud filter** (*enclosed filter*)

filtreerimiseseade, millesse filtrimembraan on kapseldatud ja kus sisse- ja väljavoolu saab transportimiseks ja säilitamiseks sulgeda

**MÄRKUS** Filtril olev eDNA ekstraheeritakse tavaliselt ilma filtrikapslist membraani eemaldamata, mis vähendab suurel määral proovide saastumise ohtu. Vt lisa A joonis A.1 C.

### 3.4

#### **keskkonna DNA** (*environmental DNA, eDNA*)

materjal, mis tuleneb nt surnud või elusorganismidest ning hõlmab üheaahelalisi (ss) ja kaheaahelalisi (ds) DNA fragmente eukarüootide tuuma- ja mitokondriaalsest/plastiidsest DNA-st ning prokarüootide plasmiid-DNA-st

**MÄRKUS** Võttes arvesse eri allikatest pärit DNA-d, nagu üherakulised või väikesed mitmerakulised organismid või koeosakesed (nt rakud, väljaheidet) ja paljurakuliste organismide sugurakud.

### 3.5

#### **välivarustuse tühiproov** (*field equipment blank*)

proov, mis on saadud sihtmärk-DNA-vaba vee (nt destilleeritud vee) töötlemisel läbi kõigi kasutatud vahendite ja hõlmab kõiki eDNA proovivõtuprotsessiga seotud protseduure, et võimaldada kontrollida, et vahendid ja protseduurid ei põhjusta DNA-ga saastumist