

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA

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

Osa 1: Baird-Parkeri agarsöötme kasutamise meetod

Microbiology of the food chain

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

Part 1: Method using Baird-Parker agar medium

(ISO 6888-1:2021 + ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 6888-1:2021 ja selle muudatuse A1:2023 ingliskeelsete tekstide sisu poolest identne konsolideeritud 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 ilmumisega EVS Teataja 2024. aasta maikuu 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.

Standardimuudatuse tõlkimist on korraldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus.

Standardimuudatuse on heaks kiitnud tehniline komitee EVS/TK 01 „Toit“.

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

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

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 6888-1:2021 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 08.09.2021, muudatuse A1 20.09.2023.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 6888-1:2021 is 08.09.2021 and the Date of Availability of the Amendment A1 is 20.09.2023.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 6888-1:2021 ja selle muudatuse A1:2023 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 6888-1:2021 and its Amendment A1:2023. 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

**Microbiology of the food chain - Horizontal method for the
enumeration of coagulase-positive staphylococci
(Staphylococcus aureus and other species) - Part 1:
Method using Baird-Parker agar medium
(ISO 6888-1:2021 + ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode
horizontale pour le dénombrement des staphylocoques
à coagulase positive (Staphylococcus aureus et autres
espèces) - Partie 1: Méthode utilisant le milieu gélifié
de Baird-Parker (ISO 6888-1:2021 +
ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales
Verfahren für die Zählung von koagulase-positiven
Staphylokokken (Staphylococcus aureus und andere
Spezies) - Teil 1: Verfahren mit Baird-Parker-Agar
(ISO 6888-1:2021 + ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023)

This European Standard was approved by CEN on 27 April 2021. Amendment A1 was approved by CEN on 16 September 2023.

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, 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
☐ ^{A1} MUUDATUSE A1 EUROOPA EESSÕNA ☐ ^{A1}	3
EESSÕNA	4
☐ ^{A1} MUUDATUSE AMD1 EESSÕNA ☐ ^{A1}	5
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 ja kinnitamine	8
5 SÖÖTMED JA REAGENDID	8
6 SEADMED JA TARVIKUD	9
7 PROOVI VÕTMINE	9
8 KATSEPROOVI ETTEVALMISTAMINE	10
9 PROTSEDUUR	10
9.1 Proovi kogus, algsuspensioon ja lahjendused	10
9.2 Külvamine ja inkubeerimine	10
9.3 Kolooniate loendamine	11
9.3.1 Üldine BPA söötmel kasvavate kolooniate kirjeldus	11
9.3.2 Koloonia loendamise protseduur	11
9.4 Kinnitamine	12
9.4.1 Üldist	12
9.4.2 Katseklasitest	12
9.4.3 Plaaditest, kasutades RPFA söödet	13
10 TULEMUSTE VÄLJENDAMINE	13
11 MEETODI SUUTLIKKUSPARAMEETRID	13
11.1 Laboritevaheline uurimus	13
11.2 Korduvuse piirmäär	14
11.3 Korratavuse piirmäär	14
12 KATSEPROTOKOLL	15
13 KVALITEEDI KINDLUSTAMINE	15
Lisa A (normlisa) Analüüsi vooskeem	16
Lisa B (normlisa) Söötmel ja reagentid	17
Lisa C (teatmelisa) Laboritevahelise uurimuse tulemused	24
Kirjandus	27

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 6888-1:2021) 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 6888-1:1999.

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 6888-1:2021 teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 6888-1:2021.

[A1] MUUDATUSE A1 EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 6888-1:2021/A1:2023) on koostanud tehniline komitee ISO/TC 34 „Food products“ koostöös tehnilise komiteega CEN/TC 463 „Microbiology of the food chain“, mille sekretariaati haldab AFNOR.

Sellele Euroopa standardi EN ISO 6888-1:2021 muudatusele tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2024. a märtsiks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2024. 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.

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 dokumendi ISO 6888-1:2021/Amd 1:2023 teksti muutmata kujul üle võtnud kui EN ISO 6888-1:2021/A1:2023. **[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 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 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 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 6888-1:1999), mis on tehniliselt üle vaadatud. Samuti sisaldab see muudatusi ISO 6888-1:1999/Amd 1:2003 ja ISO 6888-1:1999/Amd 2:2018. Peamised muudatused võrreldes eelmise väljaandega on järgmised:

- pealkirja on muudetud nii, et see oleks seotud toiduahelaga;
- selle dokumendi ja standardi ISO 6888-2 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;
- tüüpiliste ja atüüpiliste kolooniate kirjeldus Baird-Parkeri agarsöötmele (*Baird-Parker agar* (BPA) *medium*) on uuendatud;
- kinnitamiseks on koagulaastesti alternatiivina lisatud küülikuplasma-fibrinogeenagari (*rabbit plasma fibrinogen agar*, RPFA) sööde;
- lisas A toodud analüüsi vooskeemi on uuendatud;
- söötmed ja reagentid koos suutlikkuse kontrolliga lisas B on lisatud;

- laboritevahelise uuringu (ISO 6888-1:1999/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.

[A₁] MUUDATUSE AMD1 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).

ISO pöörab tähelepanu võimalusele, et selle dokumendi rakendamine võib olla seotud patendi (patentide) kasutamisega. ISO ei võta seisukohta mis tahes esitatud patendiõiguste tõendamise, kehtivuse ega rakendatavuse eest. Selle dokumendi avaldamise kuupäeva seisuga ei ole ISO saanud teateid patendi (patentide) kohta, mida võib vaja minna selle dokumendi rakendamiseks. Dokumendi kasutajaid on siiski hoiatatud, et siin esitatu ei pruugi olla uusim teave, mis võib olla saadud patendiandmebaasist (kättesaadav veebilehelt www.iso.org/patents). ISO ei vastuta sellis(t)e patendiõigus(t)e väljaselgitamise ega selgumise eest.

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 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).

Standardisarja ISO 6888 kõikide 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]**

SISSEJUHATUS

See dokument, ISO 6888-2 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 ka *S. intermedius*'e tüvesid ja teatud *S. hyicus*'e tüvesid.

Selles dokumendis põhineb tüüpiliste ja atüüpiliste kolooniate 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 [15]).

Põhilisi tehnilisi muudatusi, mis on loetletud eessõnas ja selles dokumendis tutvustatud, peetakse eelmise versiooniga võrreldes väikesteks (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 tuvastamise 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 loendamiseks tahkel söötmel (Baird-Parkeri sööde) [10] saadud kolooniate loendamise teel pärast aeroobset inkubeerimist temperatuuril 34 °C kuni 38 °C ja koagulaasi kinnitamist.

See dokument on kohaldatav

- inimtarbimiseks ettenähtud toodetele,
- loomade söötmiseks ettenähtud toodetele,
- keskkonnaproovidele toidu ja sööda tootmis- ja käitlemispiirkondadest ning
- 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*) baasil tehnoloogilist floorat sisaldavate toodete (nt toorpiimast valmistatud juust ja teatud toore liha tooted) analüüsimiseks, mis tõenäoliselt on saastunud

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

Sellest hoolimata on siinsele dokumendile ja standardile ISO 6888-2 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

ISO 19036:2019. Microbiology of the food chain — Estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations