

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA
Üldnõuded ja juhised mikrobioloogilisteks uuringuteks

Microbiology of the food chain –
General requirements and guidance for microbiological
examinations
(ISO 7218:2024)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 7218:2024 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 augustis 2024;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2025. aasta aprillikuu numbris.

Standardi tõlke koostamise ettepaneku on esitanud tehniline komitee EVS/TK 01 „Toit“, standardi tõlkimist on korraldanud Eesti Standardimis- ja Akrediteerimiskeskus.

Standardi on tõlkinud Interlex OÜ, eestikeelse kavandi ekspertiisi on teinud BioCC OÜ, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 01.

Euroopa standardimisorganisatsioon on teinud Euroopa standardi EN ISO 7218:2024 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 03.07.2024.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 7218:2024 is 03.07.2024.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 7218:2024 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 7218:2024. 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 - General requirements and
guidance for microbiological examinations
(ISO 7218:2024)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Exigences
générales et recommandations pour les examens
microbiologiques (ISO 7218:2024)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Allgemeine
Anforderungen und Leitlinien für mikrobiologische
Untersuchungen (ISO 7218:2024)

This European Standard was approved by CEN on 28 April 2024.

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

SISSEJUHATUS.....	8
1 KÄSITLUSALA.....	9
2 NORMIVIITED.....	9
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED.....	9
4 RUUMID	13
4.1 Üldine.....	13
4.2 Bioohutuse kaalutlused.....	13
4.3 Labori kavandamine.....	14
4.4 Laboripinnad	14
4.4.1 Üldine.....	14
4.4.2 Proovide ja analüüsidega seotud pinnad	14
4.4.3 Üldised alad.....	15
4.5 Ruumide asend ja sisustus.....	15
4.5.1 Eesmärgid	15
4.5.2 Sisseseaded.....	15
4.5.3 Laboriruumide muud korraldused.....	16
4.5.4 Puhastamine ja desifitseerimine	16
5 PERSONAL	17
5.1 Üldine.....	17
5.2 Pädevus.....	17
5.3 Personali pädevuse pidev tõendamine.....	17
5.4 Hügieen	17
6 SEADMED JA TARVIKUD	18
6.1 Üldine.....	18
6.2 Steriliseerimine ja muud kuumtöötlusseadmed.....	19
6.2.1 Üldine.....	19
6.2.2 Autoklaav.....	19
6.2.3 Söötmevalmistid	20
6.2.4 Aurutid, sealhulgas keevaveevannid	21
6.2.5 Steriliseerimisahi	21
6.2.6 Mikrolaineahi.....	22
6.2.7 Kuumutusplaat, induktsoonpliit ja kuumutussärk.....	23
6.2.8 Gaasipõleti või külvinõelaahi.....	23
6.3 Temperatuurikontrolli seadmed ja kontrollseadised.....	24
6.3.1 Üldine.....	24
6.3.2 Inkubaator	24
6.3.3 Termoregulaatoriga vann.....	25
6.3.4 Soojendusplakid	27
6.3.5 Külmik ja külmsäilitusruum	27
6.3.6 Külmuti ja sügavkülmuti / ülimaldala temperatuuriga sügavkülmuti	28
6.3.7 Temperatuuri kontrollseadis, sealhulgas automaatsed salvestid	28
6.3.8 Kaalud ja gravimeetriselised lahjendajad	30
6.4 Määratletud mahuga inokulatsiooniseadmed	31
6.4.1 Pipetid ja automaatpipetid.....	31
6.4.2 Dosaatorid.....	32
6.4.3 Spiraalkülvisade.....	32
6.4.4 Korduvlahjendajad	34
6.5 Turvakapid.....	34
6.5.1 Kirjeldus.....	34

6.5.2	Kasutamine.....	35
6.5.3	Puhastamine ja desifitseerimine	35
6.5.4	Hooldus ja ülevaatus	36
6.6	Homogenisaatorid, loksutid ja segurid	36
6.6.1	Homogenisaatorid ja loksutid	36
6.6.2	Keerissegur.....	37
6.7	Destillaatorid, deionisaatorid ja pöördosmoosi seadmed	38
6.7.1	Kirjeldus.....	38
6.7.2	Kasutamine.....	38
6.7.3	Hooldus	38
6.7.4	Töendamine	38
6.8	Separaatorid ja kontsentreerimisseadmed.....	38
6.8.1	Immunomagneetiline separaator (IMS).....	38
6.8.2	Tsentrifuug.....	39
6.8.3	Filtratsioonisüsteem.....	39
6.9	Modifitseeritud atmosfääriga seadmed.....	40
6.9.1	Kirjeldus.....	40
6.9.2	Kasutamine.....	40
6.9.3	Hooldus	40
6.9.4	Töendamine	40
6.10	Muud seadmed.....	40
6.10.1	pH-meeter.....	40
6.10.2	Koloonialoendur.....	41
6.10.3	Taimerid ja ajamõõteseadmed	42
6.10.4	Optiline mikroskoop.....	43
6.10.5	Nõudepesumasinaid, klaastarvikud ja muud laboritarbed	43
6.10.6	Ühekordselt kasutatavad seadmed ja kulumaterjalid	44
6.10.7	Teised seadmed ja tarkvara.....	44
7	LABORIMATERJALIDE STERILISEERIMINE/DEKONTAMINEERIMINE JA HÄVITAMINE	45
7.1	Steriliseerimine	45
7.1.1	Üldine.....	45
7.1.2	Steriliseerimine kuiva kuumusega	45
7.1.3	Steriliseerimine niiske kuumusega (auruga).....	45
7.2	Dekontamineerimine ja desinfitseerimine.....	45
7.2.1	Klaasanumate ja materjalide dekontamineerimine enne kasutust	45
7.2.2	Klaasanumate ja materjalide dekontamineerimine pärast kasutamist	45
7.3	Jäätmete käitlemine	46
7.4	Pesemine	46
8	SÖÖTMETE JA REAKTIIVIDE VALMISTAMINE JA KASUTAMINE	46
9	LABORIPROOVID	47
9.1	Proovivõtu tehnikad ja plaanid.....	47
9.1.1	Üldine.....	47
9.1.2	Proovivõtt	47
9.2	Proovi transport.....	47
9.3	Proovi vastuvõtt	48
9.4	Proovide käitlemine.....	49
9.4.1	Üldine.....	49
9.4.2	Hoiustamine enne katseid.....	49
9.4.3	Katsekogused.....	49
9.4.4	Laboriproovide hoiustamine pärast analüüsimist.....	49
9.5	Proovide eelanalüüs	49
10	ANALÜÜS.....	50

10.1	Hügieenilised ettevaatusabinõud proovide valmistamisel ja analüüsimisel.....	50
10.1.1	Üldine.....	50
10.1.2	Põhilised ettevaatusabinõud.....	50
10.1.3	Proovide käitlemine.....	50
10.1.4	Proovide käitlemise vahendid ja instrumendid.....	51
10.1.5	Lekked.....	51
10.1.6	Protsessi kontrollid.....	51
10.1.7	Aerosoolid.....	51
10.1.8	Molekulaarsed meetodid.....	52
10.2	Algsuspensiooni ja lahjenduste valmistus.....	52
10.2.1	Üldine.....	52
10.2.2	Kontsentreerimine.....	52
11	LOENDAMISE (KVANTITATIIVSED) MEETODID.....	53
11.1	Üldine.....	53
11.2	Loendamine kasutades tahket söödet.....	53
11.2.1	Üldine.....	53
11.2.2	Süviskülvitehnika.....	53
11.2.3	Pindkülvitehnikad.....	54
11.2.4	Pärmide ja hallituste loendamine.....	56
11.2.5	Inkubatsioon.....	56
11.2.6	Tahkel söötmel saadud tulemuste arvutamine ja väljendamine.....	57
11.2.7	Loendusmeetodite arvutused.....	58
11.3	Loendamine vedelsöötme kasutamisel.....	66
11.3.1	Põhimõte.....	66
11.3.2	MPN (kõige tõenäosema arvu) üldprotseduur.....	66
11.3.3	MPN piirangud.....	67
11.3.4	Külvamise protsess.....	67
11.3.5	MPN-i konfiguratsiooni valik.....	67
11.3.6	Inkubatsioon.....	68
11.3.7	Tulemuste tõlgendamine ja väljendamine.....	68
11.3.8	MPN-i väärtuste määramine MPN-i kalkulaatorite abil.....	69
11.3.9	Rariteedi kategooriad.....	69
11.4	Katsetulemuste mõõtemääramatuse hindamine.....	70
12	AVASTAMISE (KVALITATIIVSED) MEETODID.....	70
12.1	Üldine.....	70
12.2	Põhimõte.....	70
13	KINNITAMISE JA IDENTIFITSEERIMISE MEETODID.....	71
13.1	Üldine.....	71
13.2	Puhaskultuuride valmistamine.....	72
13.3	Kinnitustestid.....	72
13.3.1	Lateks aglutinatsiooni test.....	72
13.3.2	Nukleiinhappe hübridisatsiooni ja molekulaarse amplifikatsiooni meetodid.....	72
13.3.3	Slaid-aglutinatsiooni testid.....	72
13.4	Identifitseerimismetodid.....	73
13.4.1	Biokeemilised meetodid.....	73
13.4.2	DNA sekveneerimine.....	73
13.4.3	Massispektromeetria.....	74
14	KONTROLLIMIKROORGANISMIDE VALIK JA ISELOOMUSTAMINE.....	74
14.1	Üldine.....	74
14.2	Mikroorganismide kirjeldamine.....	75
14.2.1	Üldine.....	75
14.2.2	Fenotüübiline kirjeldamine.....	75

14.2.3 Molekulaarne kirjeldamine.....75

14.3 Kontrollimikroorganismide valik.....75

15 KATSEPROTOKOLL..... 76

16 MIKROBIOLOOGIA LABORATOORNE KVALITEEDIKONTROLL 77

16.1 Üldine.....77

16.2 Sisemine kvaliteedikontroll.....78

16.2.1 Üldine.....78

16.2.2 Protsessi kontrollid.....78

16.2.3 Korduskatse79

16.2.4 Kontroll-rikastatud proovid79

16.2.5 IQC hindamine kontrollkaartide abil.....80

16.3 Väline kvaliteedihindamine.....80

17 MIKROBIOLOOGILISTE MEETODITE VALIDEERIMINE JA VERIFITSEERIMINE 80

17.1 Üldine.....80

17.2 Toimivusnäitajad80

17.3 Valideerimine81

17.4 Verifitseerimine.....81

Lisa A (teatmelisa) Desoainete omadused..... 83

Lisa B (teatmelisa) Kattevahemikud kolooniate loendamise tehnika puhul..... 84

Lisa C (normlisa) Üldised kinnituskatsed 87

Kirjandus..... 92

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 7218:2024) 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 2025. a jaanuariks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2025. a jaanuariks.

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 7218:2007.

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 7218:2024 teksti muutmata kujul üle võtnud kui EN ISO 7218:2024.

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 äriline 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 kaubandustöketete lepingus sätestatud põhimõtteid, on esitatud järgmisel aadressil: www.iso.org/iso/foreword.html.

Selle dokumendi on koostanud tehniline 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).

Neljas väljaanne tühistab ja asendab kolmandat väljaannet (ISO 7218:2007), mis on tehniliselt üle vaadatud. See sisaldab ka muudatust ISO 7218:2007/Amd 1:2013.

Peamised muudatused on:

- lihtsustatud on arvutuste jaotist ja lisatud on kaks uut kalkulaatorit;
- seadmed on ümber korraldatud sarnase otstarbe ja nõuetega seadmete gruppidesse;
- lisatud on ristviited teistesse mikrobioloogia standarditesse, näiteks söötme, valideerimise, tõendamise ning mõõtemääramatuse jaoks, et vähendada kordusi;
- lisatud on teave laboratoorse kvaliteedikontrolli ja kontrolltüvede omaduste kohta.

Igasugune tagasiside ja küsimused selle dokumendi kohta tuleks suunata dokumendi kasutaja rahvuslikule standardimisorganisatsioonile. Täielik loetelu nende organisatsioonide kohta on leitav <https://www.iso.org/about/members>.

SISSEJUHATUS

Mikrobioloogiliste uuringute läbiviimisel on eriti oluline, et:

- tuvastatakse ja/või loendatakse ainult neid mikroorganisme, mis on proovides;
- need mikroorganismid ei saasta keskkonda.

Selle saavutamiseks on oluline hea laboripraktika, sh isiklik hügieen ja aseptilised töömeetodid, mis hoiavad juhusliku saastumise ohu võimalikult väiksena.

Selles dokumendis on toodud vaid mõningad selliste ettevaatusabinõude näited, mida tuleb arvestada mikrobioloogilistel uuringutel, mistõttu on esmatähtis tunda mikrobioloogilisi meetodeid ja asjasse puutuvaid mikroorganisme. On tähtis, et uuringud tehakse nii ohutult, korrektselt ja ettevaatlikult kui võimalik, sealhulgas jälgides ja dokumenteerides aspekte, mis võivad mõjutada tulemusi, mikroorganismide arvu arvutamist ja katsetulemuste mõõtemääramatuse hindamist.

Selles dokumendis on toodud kõige levinumad riskid ja nende kontrollimine mikrobioloogia laboris. Siiski võivad tööprotsessid igas laboris erineda ja heade laboritavade tagamiseks tuleb kaaluda asjakohast riskianalüüsi. Kriitiliste punktide perioodiline hindamine ja kontrollimine tagab ohutuse ja hügieenitavad ning parandab katsetulemuste usaldatavust.

Selle dokumendi eesmärk on aidata tagada mikrobioloogiliste uuringute valideerimine toiduahelas. Eelkõige tagamaks, et kõikides laborites kasutatakse uuringute läbiviimisel sarnaseid üldmeetodeid, et saavutada erinevates laborites ühesugused tulemused ja panustada nakkusohu vältimise kaudu labori personali ohutusse.

See dokument sisaldab peamisi meetmeid, mis on vajalikud, et läbi viia mitmesuguseid mikrobioloogilisi uuringuid. Lisateave on leitav kasutatud kirjanduses loetletud allikatest (vt viited [43] kuni [47]).

Selles dokumendis kasutatakse järgnevaid verbivorme:

- „peab/tuleb“ tähistab nõuet;
- „peaks/tuleks“ tähistab soovitust;
- „võib“ tähistab lubatavust;
- „saab“ tähistab võimalust või võimekust.

Lisaks kasutatakse käskivat kõneviisi, et anda juhiseid seal, kus on nõutavad tegevused.

1 KÄSITLUSALA

See dokument täpsustab üldnõudeid ja annab juhised mikrobioloogilisteks uuringuteks.

Seda rakendatakse:

- standardite ISO/TC 34/SC 9 või ISO/TC 34/SC 5 järgi välja töötatud spetsiifiliste horisontaalsete või vertikaalsete rahvusvaheliste standardite rakendamiseks mikroorganismide avastamisel või loendamisel, edaspidi nimetatud „eristandardid“;
- heade laboritavade puhul mikrobioloogialaboritele, kus analüüsitakse toiduahelast võetud proove;
- juhendina mikrobioloogia laboritele, kus analüüsitakse toiduahelast võetud proove vastavalt standardi ISO/IEC 17025 tehnilistele nõuetele.

Selle üldstandardi nõuded asendavad olemasolevates eristandardites olevaid vastavaid nõudeid.

Lisajuhend polümeraasi ahelreaktsiooni (PCR) uuringute kohta on täpsustatud standardis ISO 22174.

See dokument on rakendatav bakterite, pärmide ja hallituste uurimisel ning seda saab kasutada parasiitide ja viiruste uurimisel konkreetsete juhendite täiendina. See ei kehti mikrobioloogilise päritoluga toksiinide või teiste metaboliitide (nt amiinide) uuringute puhul.

See dokument on rakendatav toiduahela mikrobioloogiale alates toidu ja loomasööda tootmise esimesest etapist, sealhulgas ruumidele, kus toimub toidu või loomasööda tootmine ja käitlemine. See on rakendatav ka vee mikrobioloogilistele uuringutele, kui vett kasutatakse toidutootmises või vett käsitletakse riiklikes õigusaktides toiduna.

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:

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

3.1

toiduahel (*food chain*)

toidu (3.2) ja selle koostisosade tootmise, töötlemise, jaotamise, säilitamise ja käitlemise etappide järjestus alates esmasest tootmisest kuni tarbimiseni

MÄRKUS 1 Toiduahel hõlmab esmase tootmise keskkonda, toidu ja sööda tootmist ning käitlemist.

MÄRKUS 2 Toiduahel hõlmab ka pakendimaterjale, mis puutuvad kokku toidu, *sööda* (3.3) või toormaterjalidega.

[ALLIKAS: ISO 22000:2018, 3.20, muudetud — märkused on asendatud.]