

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA

**Horisontaalmeetod *Enterobacteriaceae* tuvastamiseks ja
arvuliseks määramiseks**

Osa 2: Kolooniade loendamise meetod

Microbiology of the food chain

**Horizontal method for the detection and enumeration of
*Enterobacteriaceae***

Part 2: Colony-count technique

(ISO 21528-2:2017, Corrected version 2018-06-01)

EESTI STANDARDI EESSÕNA

See Eesti standard on

- Euroopa standardi EN ISO 21528-2:2017 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 juulis 2017;
- eesti keeles avaldatud sellekohase teate ilmumisega EVS Teataja 2019. aasta veebruarikuu numbris.

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

Standardi on tõlkinud Tiido ja Partnerid Keeleagentuur OÜ, eestikeelse kavandi ekspertiisi on teinud Ene Talpsep, standardi on heaks kiitnud EVS/TK 1.

Euroopa standardimisorganisatsioonid on teinud Euroopa standardi EN ISO 21528-2:2017 rahvuslikele liikmetele kättesaadavaks 05.07.2017.

Date of Availability of the European Standard EN ISO 21528-2:2017 is 05.07.2017.

See standard on Euroopa standardi EN ISO 21528-2:2017 eestikeelne [et] versioon. Teksti tõlke on avaldanud Eesti Standardikeskus ja sellel on sama staatus ametlike keelte versioonidega.

This standard is the Estonian [et] version of the European Standard EN ISO 21528-2:2017. It was translated by the Estonian Centre for Standardisation. It has the same status as the official versions.

Tagasisidet standardi sisu kohta on võimalik edastada EVS-i veebilehel asuvat tagasiside vormi kasutades või saates e-kirja meiliaadressile standardiosakond@evs.ee.

ICS 07.100.30

Standardite paljundamise ja levitamise õigus kuulub Eesti Standardikeskusele

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

Kui Teil on küsimusi standardite autorikaitse kohta, võtke palun ühendust Eesti Standardikeskusega: Koduleht www.evs.ee; telefon 605 5050; e-post info@evs.ee

English Version

**Microbiology of the food chain - Horizontal method for the
detection and enumeration of Enterobacteriaceae - Part 2:
Colony-count technique (ISO 21528-2:2017, Corrected
version 2018-06-01)**

Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode
horizontale pour la recherche et le dénombrement des
Enterobacteriaceae - Partie 2: Technique par comptage
des colonies (ISO 21528-2:2017, Version corrigée
2018-06-01)

Mikrobiologie der Lebensmittelkette - Horizontales
Verfahren für den Nachweis und die Zählung von
Enterobacteriaceae - Teil 2: Koloniezählverfahren
(ISO 21528-2:2017, korrigierte Fassung 2018-06-01)

This European Standard was approved by CEN on 27 April 2017.

This European Standard was corrected and reissued by the CEN-CENELEC Management Centre on 14 November 2018.

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, Former Yugoslav Republic of Macedonia, France, Germany, Greece, Hungary, Iceland, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Norway, Poland, Portugal, 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.....	5
1 KÄSITLUSALA.....	6
2 NORMIVIITED.....	6
3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED.....	6
4 PÕHIMÕTE.....	7
4.1 Algsuspensiooni ja kümnendlahjenduste valmistamine	7
4.2 Eraldamine ja valimine leiu kinnitamiseks	7
4.3 Kinnitamine.....	7
4.4 Arvutamine.....	7
5 LAHJENDUSVEDELIK, SÖÖTMED JA REAKTIIV.....	7
6 SEADMED JA TARVIKUD.....	7
7 PROOVIVÕTT	8
8 KATSEPROOVI ETTEVALMISTAMINE.....	8
9 KATSEKÄIK.....	8
9.1 Üldnõuded.....	8
9.2 Katsekogus, algsuspensioon ja lahjendused	8
9.3 Inokuleerimine ja inkubeerimine.....	9
9.4 Loendamine ja valimine leiu kinnitamiseks	9
9.5 Valitud kolooniate edasikülvamine	9
9.6 Biokeemilised kinnituskatsed.....	10
9.6.1 Oksüdaasireaktsioon.....	10
9.6.2 Kääritamiskatse	10
9.6.3 Biokeemiliste katsete tõlgendamine.....	10
10 TULEMUSTE ESITAMINE.....	10
11 MEETODI TOIMIVUSE NÄITAJAD	10
11.1 Laboritevaheline uuring.....	10
11.2 Korduvuspiir.....	10
11.3 Korratavuspiir.....	11
12 KATSEPROTOKOLL.....	11
13 KVALITEEDI TAGAMINE.....	12
Lisa A (normlisa) Söötmed ja reaktiivid	13
Lisa B (teatmelisa) Meetodi valideerimisuuringud ja toimivusnäitajad	17
Kirjandus.....	20

EUROOPA EESSÕNA

Dokumendi (EN ISO 21528-2:2017) on koostanud tehniline komitee ISO/TC 34 „Food products“ koostöös tehnilise komiteega CEN/TC 275 „Food analysis - Horizontal methods“, mille sekretariaati haldab DIN.

Euroopa standardile tuleb anda rahvusliku standardi staatus kas identse tõlke avaldamisega või jõustumisteatega hiljemalt 2018. a jaanuariks ja sellega vastuolus olevad rahvuslikud standardid peavad olema kehtetuks tunnistatud hiljemalt 2018. a jaanuariks.

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.

Standard on koostatud mandaadi alusel, mille on Euroopa Standardimiskomiteele (CEN) andnud Euroopa Komisjon ja Euroopa Vabakaubanduse Assotsiatsioon, ja see toetab EL-i direktiivi(de) olulisi nõudeid.

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

Jõustumisteade

CEN on standardi ISO 21528-2:2017 01.06.2018 parandatud versiooni teksti muutmata kujul üle võtnud standardina EN ISO 21528-2:2017.

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, riiklikud ja valitsusvälised organisatsioonid. 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 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 Euroopa Standardimiskomitee (CEN) tehniline komitee CEN/TC 275 „Food analysis — Horizontal methods“ koostöös ISO tehnilise komitee ISO/TC 34 „Food products“ alamkomiteega SC 9 „Microbiology“ ISO ja CEN-i vahelise tehnilise koostöö lepingu kohaselt (Viini leping).

Teine väljaanne tühistab ja asendab esimest väljaannet (ISO 21528-2:2004), mis on tehniliselt üle vaadatud ja milles on tehtud järgmised peamised muudatused:

- kinnitusetappi on muudetud, glükoosiagar vahetati glükoosi OF söötme vastu;
- kordustäpsuse andmed, mis põhinevad seda üle vaadatud väljaannet kasutades läbi viidud laboritevahelisel uuringul, on lisatud teatmelisasse.

Standardisarja ISO 21528 osade loetelu on leitav ISO veebilehelt.

See standardi ISO 21528-2:2017 korrigeeritud versioon hõlmab järgmisi parandusi:

- jaotises 6.4 on seadmete nimekirja lisatud veevann, mis hoiab temperatuuri vahemikus 44 °C kuni 47 °C;
- jaotises 9.3.2 on alandatud temperatuuri vahemikku väärtustelt „47 °C kuni 50 °C“ väärtusteni „44 °C kuni 47 °C“.

SISSEJUHATUS

See dokument annab üldjuhised nende toodete uurimiseks, millel puuduvad rahvusvahelised standardid, ja neid tuleb arvestada organisatsioonidel, kes valmistavad ette mikrobioloogilisi katsemeetodeid toidule või loomasöödale. Seoses toodete suure mitmekesisusega selles kasutusvaldkonnas ei pruugi need juhised olla kõigis üksikasjades teatud toodete analüüsimiseks sobilikud ja mõne teise toote korral võib olla vajalik teistsuguste meetodite kasutamine. Siiski loodetakse, et igal juhul üritatakse antud juhiseid kasutada nii palju kui võimalik ja juhistest kõrvalekaldumine on õigustatud vaid tehnilistel põhjustel.

Eessõnas loetletud peamised muudatused, mis on selles dokumendis võrreldes standardiga ISO 21528-2:2004 tehtud, on märkimisväärsed (vt ISO 17468).

Katsemeetodite harmoneerimine ei saa toimuda kohe ja teatud tooterühmadele võivad juba olemas olla rahvusvahelised standardid ja/või rahvuslikud standardid, mis ei ole kooskõlas selle horisontaalmeetodiga. Loodetavasti arvestatakse selliste standardite ülevaatamisel selle dokumendiga ja kooskõlastatakse vastavad muudatused nii, et võrreldes selle horisontaalmeetodiga säilivad vaid hästi põhjendatud tehnilistest asjaoludest tingitud lahknemised.

HOIATUS! Selleks, et kaitsta laboripersonali tervist, on oluline, et katseid *Enterobacteriaceae* tuvastamiseks viiakse läbi asjakohaselt varustatud laborites kompetentse mikrobioloogi järelevalve all ning kõigi inkubeeritud materjalide jäätmekäitlusel ollakse eriti hoolsad. Seda dokumenti kasutavad isikud peaksid olema tuttavad tavapäraste laboripraktikatega. Selle dokumendi eesmärk ei ole käsitleda kõiki selle kasutamisega seotud ohutusaspekte. Kasutaja kohustus on sisse seada asjakohased ohutus- ja tervisepraktikad.

1 KÄSITLUSALA

Selles dokumendis määratletakse meetod *Enterobacteriaceae* arvuliseks määramiseks. See on rakendatav

- inimtoiduks ja loomasöödaks ette nähtud toodetele ja
- esmatootmise tasandi, toidutootmise ja toidukäitlemise valdkonna keskkonnaproovidele.

Seda meetodit tuleb kasutada juhul, kui eeldatav kolooniat moodustavate ühikute arv milliliitri või grammi katseproovi kohta on suurem kui 100.

Kui eeldatav arv milliliitri või grammi katseproovi kohta on vähem kui 100, kasutatakse tavaliselt kõige tõenäosema arvu (*most probable number*, MPN) meetodit, nagu on kirjeldatud standardis ISO 21528-1.

2 NORMIVIITED

Allpool nimetatud dokumentidele on tekstis viidatud selliselt, et nende sisu kujutab endast kas osaliselt või terveniisti 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 18593. Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs

3 TERMINID JA MÄÄRATLUSED

Standardi rakendamisel kasutatakse allpool esitatud termineid ja määratlusi.

ISO ja IEC hoiavad alal standardimisel kasutamiseks olevaid terminoloogilisi andmebaase järgmistel aadressidel:

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

3.1

Enterobacteriaceae

mikroorganismid, kes moodustavad iseloomulikke kolooniaid violettpunase-sapi-glükoosiagaril, kääritavad glükoosi ning annavad negatiivse oksüdaasireaktsiooni, kui katsed viiakse läbi selles dokumendis määratletud meetodi kohaselt