Mikrobioloogia, õiged töövõtted mikrobioloogiliste analüüside teostamisel

Mahlad, marjad, joogid, pagaritooted

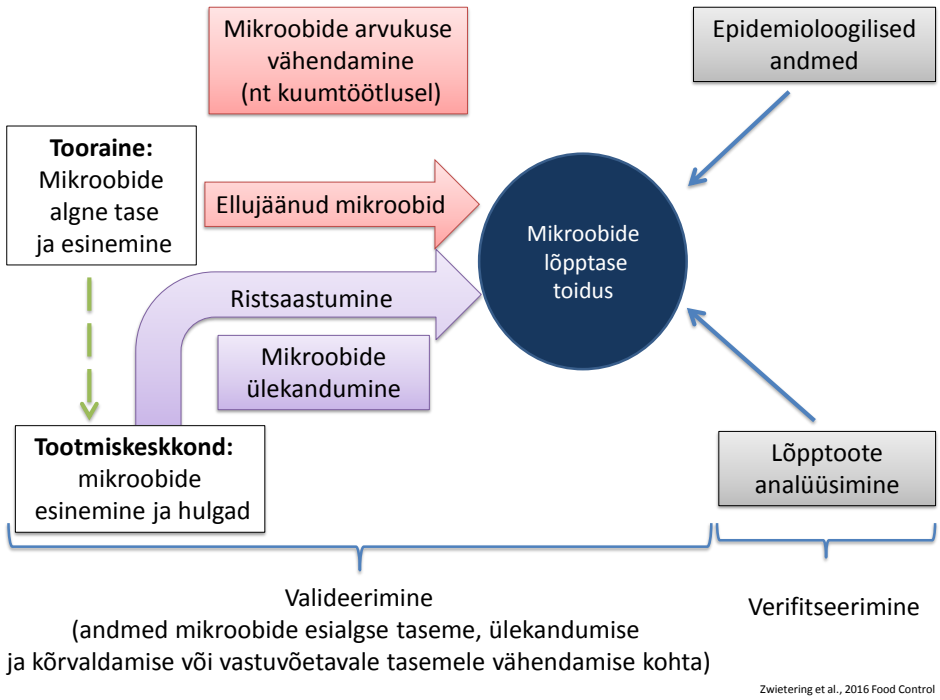
Epp Songisepp
Vanemteadur

01.11.2018

Proovivõtmise eesmärgid

Mitmel põhjusel:

- enesekontrolli raames proovide analüüsimine
  - kestvuskatsed toidupatogeenide ja / või riknemist põhjustavate mikroorganismide kasvudünaamika uurimiseks;
  - mikrobioloogiliste toiduohutus- ja protsessi hügieenikriteeriumide täitmise kontrollimiseks;
  - üksikute toidupartiide vastavuse kontrollimiseks;
  - üldise teabe saamiseks toitude mikrobioloogilise seisundi kohta;
  - mikroorganismide seire tootmiskeskkonnas käitlemistingimuste olukorra hindamiseks;
- toidujärelevalve raames proovide analüüsimine



Toiduproovid

- Toorainest proovivõtmine aitab välja selgitada võimalikud ohud
  - Tooraine seire võib aidata võimalikult varakult tuvastada tarnija-poolseid probleeme
- Toiduproovide võtmine tootmisprotsessi erinevates etappides:
  - tootmisetapi (nt pastöriseerimine, fermenteerimine) mõju toorainest mikrobioloogiliste ohtude kõrvaldamiseks / vähendamiseks

Toiduproovid

- Lõpptoote analüüsimine
  - kogu toiduohutuse juhtimissüsteemi toimimise kontrollimiseks kui on põhjust arvata, et KKP ei ole kontrolli all / ristsaastumise oht
  - Ohjemeetemete valideerimine mingi muudatuste sisseviimise järel (nt uus tooraine, muudatus tootmistingimustes vm)

Tootmiskeskkond

- Tootmiskeskkond on tavaliselt suur
  - Mitmeid ristsaastumise võimalused (toiduga kokkupuutuvad pinnad, personali käed, õhk, vesi jms)

Seire eesmärgid:

- Käitlemistingimuste olukorra üldiseks hindamiseks;
  - konkreetsete tootmisetapi või kogu tootmisprotsessi hügieeni hindamine
- KKP-s kindlal tootmisetapil
- Mikroobide võimalike ülekandeteede selgitamine
  nt uue tootmisliini käivitamisel, pakendi muutmisel ...
- Tõenäolisemate kontaminatsiooniallikate väljaselgitamine
- Ohtlike tendentside avastamiseks
- Puhastus- ja desinfitseerimisprogrammi tulemuslikkuse hindamiseks jm

- Proovivõtupunktid tootmisliinil valida, et oleks võimalik mõõta konkreetsete tootmisetappide või kogu tootmisprotsessi hügieeni

- Proovivõtt kogu tootmisliini ulatuses: kergesti ja raskesti ligipääsetavad kohtad (augud, praod …), võimalusel seade lahti võtta

- Hügieeniproovide võtmine kindlaksmääratud kohtadest tootmises nt iganädalaselt
- varieerida konkreetset proovivõtu aega (nädalapäev, kellaaeg), et proov kajastaks tootmisprotsessi erinevates etappides esinevaid tingimusi

NB! Hinnata ka pakkematerjali / -seadmete MB puhtust

Tootmiskeskkond

Proovivõtt

- toiduga otseselt kokkupuutuvatelt pindadelt (tööpinnad ja seadmed)
- toiduga otseselt mittekokkupuutuvatelt pindadelt tootmises (seinad, põrandad, äravoolud, konveierid jm)
- töötlemise abivahendid (suruõhk, jää, vesi, äravooluvesi jm)

Tootmise hügieenilist taset iseloomustav mikrobiota jaguneb vastavalt keskkonna tingimustele:

- termofiilsed mikroorganismid – kasvavad ja paljunevad eelistatult kõrgematel temperatuuridel (optimaalne temperatuur 45-60°C);
- mesofiilsed mikroorganismid – arenemisvõimelised ka toatemperatuuridel (optimaalne temperatuur 20-44 ^{o}C);
- psührofiilsed mikroorganismid – elu ja arenemisvõimelised madalatel temperatuuridel (arenevad temperatuuri vahemikus 5-15°C);
- psührotroofsed mikroorganismid –nii mesofiilseid kui psührofiilsed mikroorganisme, arenevad 7°C ja madalamal temperatuuril

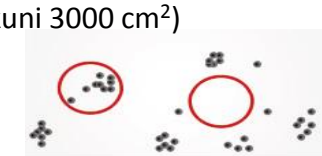
Tootmiskeskkond

- Proovide võtmisel tootmises toiduga kokkupuutuvatelt ja toiduga mittekokkupuutuvatelt pindadelt määratlege, kui suurelt pindalalt proov võetakse (nt 20 cm,^{2} 100 cm^2 vm).
  (25 cm^2 pinnalt võetud ja 25 ml lahjendis lahjendatud pinnaproovist 1 ml algsuspensiooni vastab 1 cm^2)

***

NB! Proovivõtuala suurus võib sõltuda otsitavast patogeenist

Nt Salmonella spp ja *L. monocytogenes* tuvastamise tõenäosuse suurendamiseks peab kogu proovivõtuala olema nii suur kui võimalik (100 cm^2...1000 cm^2 kuni 3000 cm^2)



Proovide võtmise protseduurid *Listeria monocytogenes* tuvastamiseks toidutöötlemisaladelt ja seadmetelt EL *Listeria monocytogenes*'e referentlabor juhendis

Toidutöötlemisaladelt ja seadmetelt püsiva *L. monocytogenes* tüve tuvastamise tõenäosuse suurendamiseks tuleb proove võtta töötlemise ajal vähemalt kaks tundi pärast tootmise algust või tootmistsükli lõpus enne koristamist ja desinfitseerimist

EURL, 2012: „Guidelines on sampling the food processing area and equipment for the detection of *Listeria monocytogenes*“

https://vet.agri.ee/static/body/files/2796.EURL%20Listeria%20monocyt%20pinnaproovide%20v%F5tmise%20juhend%20%20%28t%F5lge%29%202017.pdf

EESTI STANDARD **EVS-EN ISO 18593:2018**

Avaldatud eesti keeles: september 2018
Jõustunud Eesti standardina: september 2018

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA
Pinnaproovide võtmise horisontaalmeetodid

Microbiology of the food chain
Horizontal methods for surface sampling
(ISO 18593:2018)

Õhu mikrobioloogilised analüüsid

- määratleda proovivõtukohad / ruumi osad
  - seadmete avatud osadelt, kus on võimalik toodangu saastumine õhuvoolude kaudu;
  - koht, kus toit pakendatakse;
  - kohad, kus liigub palju töötajaid
- fikseerida proovivõtuaeg (nt 15 minutit, 30 või 60 minutit)

Söötmed: PCA ja DRBC

Proovivõtusagedus nt 1x kuus
Kontaminatsioonikahtluse korral sagedamini

Mikrobiaalsed piirnormid peab iga tööstus enda jaoks ise paika panema

Proovivõtukava

- Selgelt sõnastatud proovivõtmise eesmärgid, sh ära toodud
  - Nõutavad analüüsid (keemia, mikrobioloogia);
  - kehtivad mikrobiaalsed piirmäärad;
  - Konkreetsed toidud, partiid ja pinnad/seadmed jm millest/millelt proovid võtta;
  - Asjakohased toidu ja hügieeniproovide mikrobioloogilisteks analüüsideks proovide võtmise metoodikad
- Proovivõtmise sagedus ;
- Proovivõtumeetodid;
- Proovi suurus, koostis ja arv;

Proovivõtukava

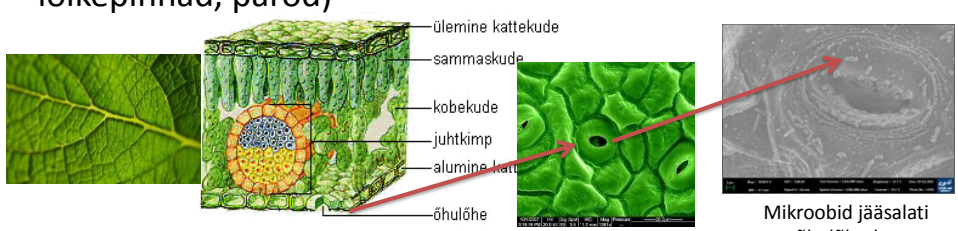
- Koht või proovivõtuala ja aeg proovide võtmiseks;
- Proovivõtmiseks vajalikud töövahendid ja nende käitlemine;
- Proovide unikaalse identifitseerimise ja märgistamise nõuded;
- Proovide pakendamis-, säilitamis-, hoiustamis- ja transpordiprotseduurid;
- Proove analüüsiva laboratooriumi andmed;
- Andmete säilitamise süsteem

Taimne tooraine

- Saastumise allikad: väetamine, koristusjärgne käitlemine, hoiustamine
- Rist-saastumise allikad tööstuses:

tükeldamine, pesemine, loputamine, nõrutamine ja pakendamine

Taimse (värskelt lõigatud materjalil) pesemine (k.a. desinfektantidega) ei eemalda baktereid (õhulõhed, lõikepinnad, parod)



Mikroobid jääsalati õhulõhedes
Hoiustatud: 25°C 24 h.

Marjad, puu- ja köögiviljad

- Primaarne MF (indigeenne)
- Sekundaarne MF (muld, tuul, tolm, vihm, putukad, linnud)

Saasteallikaks keskkonnast pärit patogeenid:
-mullaga seotud bakterid (*Cl. botulinum, L. monocytogenes*)
-fekaalidega seotud bakterid (*Salmonella, E. coli, Shigella spp, Cronobacter spp).*
-pärmseened ja hallitusseened (nt *Byssochlamys* elutseb mullas, puuviljadel, viljalihas)

Nt USA 2015 *Listeria monocytogenes* salatiga, 9 osariiki 1 tootja, pakkis erinevaid brande Sama tüvi rändas Kanadasse

Taimse toorainega seotud patogeene	
Salmonella enterica	*Staphylococcus aureus*
STEC, k.a *Escherichia coli O157*	*Clostridium botulinum*
Shigella sonnei	*Vibrio cholerae*
Yersinia pseudotuberculosis	*Campylobacter jejuni*
Listeria monocytogenes	*Cronobacter spp*

Pudeliveed

Pudeliveest leidud mikroobiperekondade esindajaid

Achromobacter	Cytophaga	Ochrobactrum
Acinetobacter	Enterobacter	Pasteurella
Actinomyces	Enterococcus	Providencia
Aeromonas	Flavobacterium	Pseudomonas
Alcaligenes	Flexibacter	Serratia
Arthrobacter	Gluconacetobacter	Sphaerotilus
Bacillus	Klebsiella	Staphylococcus
Bordetella	Leptothrix	Stenotrophomonas
Caulobacter	Micrococcus	Streptococcus
Chromobacterium	Moraxella	Vibrio
Corynebacterium	Mycobacterium	Xanthomonas
Citrobacter	Nocardia	Yersinia

Source: Edberg et al. (1997), Moore et al. (2002), Venieri et al. (2006), Warburton (1993).

Parish, 2009

Mahlad

Mõnus keskkond hallitustele-pärmidele ja happetolerantsetele bakteritele:

kõrge suhkrusisaldus, happesus

Mahla saastumine: kehvasti pestud tooraine, inimesed, seadmed

Õunamahlast leitud: *Salmonella spp., E.coli , Staph. aureus* (allikas: muld, farm, inimene, seadmed) - happeline keskkond ei soodusta patogeenide kasvu

Kriitiline on säilitustemperatuur

Riknemise tunnused: pinnakile, hägusus, lõhna-maisevead, gaas (pakend punnitab), sade

Pastöriseeritud jookide ja puuviljakonservide riknemine

Eeldus:

1. Pastöriseerimine (92°C 10 sec) hävitab
2. happetolerantsed mikroobid on kuumatundlikud
3. eoseid moodustavate bakterite eosed ei idane pH 4,6 juures
4. Pudelitesse ja purkidesse villitud joogis piirab hapnikupuudus (nt hallituse) kasvu

- Enamus pärme, hallitusi ja happelembeseid baktereid ei paljune

Pastöriseerimise järgsed kontaminandid

- *Pseudomonas* spp ja enterobakterid
- Piimhappebakterid nii puuviljamahlades kui köögiviljamahlades (nt tomatimahl)

Pastöriseeritud jookide ja puuviljakonservide riknemine

Pärmid: *Saccharomyces* ja *Zygosaccharomyces,* termilise töötluse suhtes vastupidavad

Hallitusseened
- Kuumtöötluse üleelamine,
- Pastöriseerimise järgne saastumine,
- Pakendid, eriti kiulised papipõhised pakendid

Mükotoksiinide tootmine

Õunamahlatoodetes: patuliin

Erinevad hallitused võimelised tootma,
õunad-pirnid: allikaks *P. expansum*
Toodab patuliini ka +16°C, optimaalne pH: 4,0; aw 0,99,

NB! (EÜ) nr 1881/2006,
Millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes

MAAELUMINISTEERIUM

Patuliini vältimine ja vähendamine õuntest valmistatud toodetes

https://www.agri.ee/sites/default/files/content/valjaanded/2017/valjaanne-2017-patuliini-valtimine.pdf

Mükotoksiinid

https://www.agri.ee/et/mukotoksiinid

Karastusjookide riknemine

- Elusate mikroobide sattumine jooki
- Mikroobide metaboliitide ülekandumine toorainega

Elusad mikroobid:

- Vajalik kriitiline iduarv joogis (10^5-10^6 CFU/ml)
- Kasv
- Happetolerantsus
- CO_2 tolerantus
- Madal hapniku -/ toitainetevajadus

- Tootespestiifilised kasvavad ka GMP toodetud jookides,
- Tehnoloogiline äpardus
  –lisaks teised mikroobid tootmis kekkonnast jm

Karastusjookide riknemine

Pärmid- tüüpiline karastusjookide riknemise põhjus
Leidub tootmiskeskkonnas, toormel jm
Kasv pH vahemikus pH 1,5…8,5
Kuumakindlad askospoorid

Äädikhape↑,
Alkoholi taseme tõus üle lubatud piiri
Pektinolüüs
Hägusus , sade
Taluvad bensoaate, sorbaate, sulfaate
→ tee vabaks teistele mikroobidele

Karastusjookide riknemine

Tootmiskeskkonas leiduvad

Group 1 – Fermentative and preservative-resistant	Group 2 – Spoilage and hygiene indicators	Group 3 – Hygiene indicators	Group 4 – Aliens
Dekkera anomala	*Candida davenportii*	*Aureobasidium pullulans*	*Kluyveromyces lactis*
D. bruxellensis	*C. parapsilopsis*	*Candida sake*	*K. marxianus*
D. naardenensis	*Debaryomyces hansenii*	*C. solani*	
Saccharomyces cerevisiae (atypical)	*Hanseniaspora uvarum*	*C. tropicalis*	
S. exiguus	*Issatchenkia orientalis*	*Clavispora lusitaniae*	
Schizosaccharomyces pombe	*Lodderomyces elongisporus*	*Cryptococcus albidus*	
Zygosaccharomyces bailii	*Pichia anomala*	*Cryptococcus laurentii*	
Z. bisporus	*P. membranifaciens*	*Debaryomyces etchellsii*	
Z. lentus	*Saccharomyces bayanus*	*Rhodotorula glutinis*	
Z. rouxii	*S. cerevisiae*		

Reference: Davenport 2006.

VTT RESEARCH NOTES 2599

Karastusjookide riknemine

- Eostega bakterid

Alicyclobacillus : karboniseeritud mahlad, limonaadid, jääteed, isotoonilised veed.
Desoaine / ravimi lõhn, hägu, sade

Bacillus spp ja *Clostridium spp* – tüüpilised köögiviljamahlas
– Segamahlades (köögivilja+ puuviljamahl+kuidained) olulised
– karastusjookides ei paljune, eosed jäävad tootes elujõuliseks

Clostridium butyricum,Cl. sporogenes: siirupite riknemine

Karastusjookide riknemine

- Piimhappebakterid
- Äädikhappebakterid (*Acetobacter spp, Gluconobacter spp)*

Piim-, äädik-, merivaikhape, etanool, diatsetüül, venimine, hägu

- Enterobakterid (*Klebsiella*, *Citrobacter, Serratia*)

gaasi teke, maitsevead, venimine , väävliühendid

- *Propionibacterium cyclohexanicum,*

kasv külmkapitemperatuuril, (äädik- ja piimhape)

- Hallitused. Kuumakindlad liigid (*Byssochlamys spp, Neosartorya spp, Talaromyces spp) –* kontsentraatides, püreedes, puuviljakonservides, maitsestatud veed, marmelaad

Maitse muutused, gaas, mükotoksiinid,

Karastusjookide terviseriskid

- Patogeenid happelistes ja karboniseeritud jookides ei paljune, aga on võimelised elu jääma.
- Coca-cola tüüpi jookides*: E. coli, Salmonella enterica, Listeria monocytogenes , Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa*
- Vähese mulliga, kõrgema pH-ga, suure mahlasisaldusega joogid, mis sarnanevad mahlaga terviseohtlikumad
- Eksootiliste lisanditega joogid terviseohtlikumad

Mesi

Bakterite kasvu inhibeerivaid komponente,
Mee aw 0,54…0,75. Hügroskoopne, imab vett
Riknemise üks põhjuseid: ebakorrektsed säilitustingimused (lahtised kaaned)

Enim levinud kontaminandid : osmofiilsed pärmid (*Zygosaccharomyces spp)*
Hallitusi vähesel määral (*Ascosphaera spp*, *Aspergillus spp*, *Cephalosporium spp*, *Penicillium spp)*
Leitud ka baktereid : sh *B. cereus* , *B. pumilus; Staph aureus*

Tervisekiskid:

- *C. botulinum* A ja B (laste botulism!)
- *Salmonella* ssp.

S. dublin ja S. typhimurium võimeline säilima 28 kuud,
S. enteritidis >23 kuu, *S. typhi* >4 kuu

Mee säilitamisel ei paljune

Mesi

Table 6 Microorganisms isolated from honey[1]

Bacteria	Fungi Yeasts	Molds
Alcaligenes	*Ascosphaera*	*Aspergillus*
Bacillus	*Debaryomyces*	*Atichia*
Bacteridium (sic)	*Hansenula*	*Bettsia alvei*
Bacterium (sic)	*Lipomyces*	*Cephalosporium*
Brevibacterium	*Nematospora*	*Chaetomium*
Clostridium	*Oosporidium*	*Coniothecium*
Enterobacter	*Pichia*	*Hormiscium*
Flavobacterium	*Rhodotorula*	*Penicillium*
Klebsiella	*Saccharomyces*	Peronosporaceae
Micrococcus	*Schizosaccharomyces*	*Peyronelia*
Neisseria	*Schwanniomyces*	*Triposporium*
Proteus	*Trichosporon*	Uredianceae
Pseudomonas	*Torula*	Ustilaginaceae
Xanthomonas	*Torulopsis*	
	Zygosaccharomyces	

[1] Snowdon and Cliver (1996).

Õlle riknemine

Mikrobioloogiliselt suhteliselt stabiilne jook (etanool, humal, CO_2 ↑, O_2↓).

Patogeenid (nt *Salmonella spp, Staph aureus*) õlut ei armasta.

Enterobacteriaceae varases fermentatsioonistaadiumis: *Hafnia alvei, Cirobacter freundii*, *Klebsiella spp ja Enterobacter spp.*

Metsikud pärmid (*Saccharomyces, Brettanomyces, Dekkera):* kultuurpärmi allasurumine, hägusus ja maitsemuutused, etanooli kasutamine

Äädikhappebakterid (*Acetobacter spp, Gluconobacter spp)*: etanooli oksüdatsioon äädikhappeks, veeks, CO_2, lima;

Hallitused: *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Helminthosporium , Alternaria*

õllejäägid tööstuses!

Beer spoilage bacteria

Õlle riknemine

	Rod-shaped	Cocci
Gram-positive bacteria	*Lactobacillus* spp.	*Pediococcus* spp.
	Lb. brevis	*P. damnosus*
	Lb. brevisimilis	*P. dextrinicus*
	Lb. buchneri	*P. inopinatus*
	Lb. casei	
	Lb. coryneformis	*Micrococcus* sp.
	Lb. curvatus	*M. kristinae*
	Lb. lindneri	
	Lb. malefermentans	
	Lb. parabuchneri	
	Lb. plantarum	
Gram-negative bacteria	*Pectinatus* spp.	*Megasphaera* sp.
	P. cerevisiiphilus	*M. cerevisiae*
	P. frisingensis	
	P. sp. DSM20764	
	Selenomonas sp.	*Zymomonas* sp.
	S. lacticifex	*Z. mobilis*
	Zymophilus sp.	
	Z. raffinosivorans	

Sakamoto, Konings, (2003

Õlle riknemine

LAB: *Pediococcus* - õlle „sartisiinihaigus“ (happesus↑, hägu, diatsetüül)

Amülolüütilised piimhappebakterid : lima, õlle venimine,

Gram- bakterid: diatsetüüli, mädamuna lõhn

Pärmid: hüdrofobiinid (*gushing* efekt), liigne gaasi teke

***Megasphaera cerevisiae* sp. nov.**

- Gram-negative obligaatne anaeroob, kokk
- Koos ***Pectinatus spp*** nuhtlus õlletootmise hilisemates staadiumites, sekundaarne kontaminatsioon, eriti lahjades õlledes, taluvad hästi pH 4, 1; ei põlga ka kangemaid marke

Õlle riknemine

***Megasphaera cerevisiae* sp. nov.**

- Taluvad hästi humalat
- Tekitavad: väävliühendid (nt H_2S) ja SCFA, palderjanhape, isopalderjanhape

Megasphaera cerevisiae sp. nov. / *Pectinatus spp* õlletööstuses aeroobseste tingimustes , aerolsoolidega lendamas teeb nad eriti ohtlikuks

Biokile hävitamine, kasutades järjestikuseid kuuma Na OH-d, lämmastikhapet ja happelist vesinikperoksiidi
CIP happeline pesu: PAA (paraäädikhape) ja Cl_2 (kloriin)
Ainult leelisepesu võib jääda väheseks

Siidri riknemine

Happeline keskkond ei soodusta patogeenide kasvu, enamus peab vastu mõned tunnid.

Õunamahlast ja pastöriseerimata siidrist leitud: *Salmonella spp., E.coli* (sh O157:H7)*, Staph. aureus*

Tavaline pastöriseerimine ei mõjuta happe ja kuumakindlaid liike nagu *Alicyclobacillus* spp.

*Acetobacter (alkoholi-tolerantne)*ja *Gluconobacter (suhkrulembelisem)* (siidripõhised liigid: *A. pasteurianus ja G. oxydans)* võivad maitsedefekte tekitada hapniku olemasolul igas tootmise faasis, taluvad hästi SO_2. Põhjustavad nn siidrihaigust (*cider sickness*)

Siider

NB! Biogeensed amiinid

Biogenic Amine	Producer
Histamine	*Lactobacillus paracollinoides* *Lactobacillus hilgardii* *Lactobacillus diolivorans* *Lactobacillus collinoides* *Oenococcus oeni*
Putrescine	*Lactobacillus collinoides* *Oenococcus oeni* *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus mali* *Leuconostoc mesenteroides* *Pediococcus parvulus* *Lactobacillus paracollinoides*
Tyramine	*Sporolactobacillus* sp. *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus diolivorans* *Oenococcus oeni* *Pediococcus parvulus*

<u>Heterofermentatiivsed piimhapebakterid</u>

Toiduohutuse seisukohast ohtlikumad on histamiin ja türamiin,
Putrestsiin ja kadaveriin võimendavad nende toimet

Vastumeetemed:

- küpsemad puuviljad (BA prekursorAH vähem),
- Starterkultuurid ilma AH dekarboksülaasse aktiivsuseta,
  - võimelised BA lagundama

Cousin et al., 2017

Siidri riknemine

NB! mükotoksiinid
Aspergillus spp, Fusarium spp ja Penicillium spp

Õunamahlatoodetes: patuliin

Erinevad hallitused võimelised tootma,
õunad-pirnid: allikaks *P. expansum*
Toodab patuliini ka +16°C, optimaalne pH: 4,0; aw 0.99,

Patuliin ebastabiilne, laguneb käärimisel.
Ohtlik on nn magusa siidri puhul, kui lisatakse õunamahla

Veini riknemine

Allikas: marjad
Veini riknemise 3 võimalust:
marjade kvaliteet, käärimise ajal, säilitamise ajal
Vigastatud marjadel plahvatuslik mikroobide arenemine
Marjad sisaldavad äädikhapet, glütserooli (pärmid!)

- Äädikhappebakterid (aeroobne riknemine) :
  - etanooli konverteerimine äädikhappeks
- Metsikud pärmid (*Saccharomyces*, *Candida, Zygosaccharomyces, Brettanomyces, Dekkera)* (aeroobne riknemine) :
  - etanooli oksüdatsioon,
  - atseetaldehüüd ja suhkur→ äädikhape
- piimhappebakterid,

Veini riknemine

- Malolaktiline käärimine, õunhappe muutumine piimhappeks, teisene käärimine, gaasi teke: *Oenococcus oeni*, LAB, pediokokid
- Venimine : laktobatsillid, *Leuconostoc* spp, *Pediococcus damnosus* tekitatud EPS (β-D-glükaan, glükoosi homopolümeer)
- Venimine / gaas: LAB (OHEL, *Leuconostoc* spp)
- Venimine + diatsetüüli / estri maitse (fruktoos →mannitool): LAB
- „Piimhappemaitse“, kibe: LB OHEL; *Dekkera/Brettanomyces*
- hobusehigi lõhn: *Brettanomyces*
- Terav äädikhappe maitse: laktobatsillid (OHEL), äädik-happebakterid (*Acetobacter, Gluconobacter, Gluconoacetobacter*)
- *Mousy:* LB OHEL (*L hildardii*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. cellobiosus*, *Pediococcus* spp, *Leuc. mesenteroides, Oenococcus oeni*); Dekkera/Brettanomyces

Substraadiks etanool, L-lüsiin, L-ornitiin, metalli-ioonid.
Pärmid vajavad maitsevea tekitamiseks hapnikku

Veini riknemine

NB!
Piimhappebakterid: biogeensed amiinid (histamiin)
Hallitused: *Aspergillus* ja *Penicillium*: mükotoksiinid
(Ochratoxin A- kartsionogeen!)

NB! (EÜ) nr 1881/2006,
Millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes

Vastumeetemed

Sanitatsioon, korralik toore, steriilne taara
Korrektsete kääritamistemperatuuride järgimine
Selitamine, filtreerimine
Vältida veini pinna kokkupuudet õhuga, inertgaasi lisamine, SO_2 taseme hoidmine 20...25 mg/l

Terad ja jahu

Viljast leitud *Pseudomonas spp, Micrococccus spp, Lactobacillus spp* ja *Bacillus spp.,* hallitus (10^3 -10^6 / g), hallituste spoore 10^4 /g.
Kasv, kui niiskusesiladus > 17%

Leib, sai

Reeglina stabiilne toode. Küpsetamine hävitab spoorid ja vegetatiivsed rakud. Koorik ei soodusta mikroobide kasvu.

Pärmid

Pichia butonii , "*chalk mould*", tekib leiva pinnale enne hallitusi

Leib, sai

Hallitused

Tootmise järgne saastumine: õhk, pinnas, seadmed.
Enamus eelistab aw >08,
Rhizopus spp. (eelkõige *Rhizopus stolonifer*), *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp. ja *Monilia sitophilia Eurotium* spp. - esimene tulija, tee vabaks teistele (niiskuse taseme tõus).

Vastumeetmeid: sorbaat, propioonhape

Leib, sai

Leiva venimine: puuviljalõhn (*a la* üliküps ananass), värvi muutus, limaniidid

Bacillus subtilis (B. licheniformis, *B.megaterium* , *B. cereus*)

Ensümaatiline aktiivsus*:* kuumakindel amülaas

Eosed taluvad kuumust,

Saasteallikas: jahu, eriti kliirikkam jahu; pagaripärm, tekstuuriparandajad, tootmiskeskkond (õhk, seadmed)

- pätside liiga lähestikune paigutus loob ideaalse sooja ja niiske keskkonna pikemaks.
- Alaküpsetamine

Leib läheb venima 12 h jooksul,

Vastumeetmed:

äädikhappe kasutamine, Ca-atsetaat, Ca -propionaat

Kondiitritooted, kreemid, täidised

Kõrge aw tooted tundlikud riknemisele

- Käärimine: piimhappebakterid,
- Pärmidele mõnus keskkond. *Candida spp, Pichia spp, Saccharomyces spp, Debaromyces spp*

eriti *Zygosaccharomyces bailii* madalama aw korral < 0,7

Suudab taluda osmootset stressi, ei häiri sool ega suhkur, armastab madalat pH-d

- Tekstuuriprobleemid

Lima: *Pseudomonas spp, Leuconostoc spp, Bacillus spp*

Saateallikas tooraine - pähklid, suhkur, želatiin, piima- ja munapõhised lisandid, vähemal määral tootmiskeskkond

Šokolaad

Peaks olema suhteliselt ohutu: madal veeaktiivsus, antimikroobsete omadustega koostisosad, kuumtöötlus
Saasteallikas: tooraine- kakao, piim, munad, pähklid

Esimene *Salmonella spp* puhag 1970-te alguses

- Rasvane ja kõrge suhkrusisaldusega koostis kaitseb mikroobirakke nii tootes ja mao läbimisel.
- *Salmonella spp* kuumakindlus madala aw puhul parem

Ekstermofiilsed hallitused (*Chrysosporium farinicola* – kakao, ploomid, mesi; *Chrysosporium xerophilum* - pähklišokolaad), *Neosortorya glabra (*kondiitritooted)
Chrysosporium farinicola kasvab ka külmikutemperatuuril
Eostega bakterid (*Bacillus* spp)

- Etanooli ja gaasi produktsioon

Saateallikas- pähklid, suhkur, kakao-oad, vähemal määral tootmiskeskkond

Siirupid

Suhkur: algselt suhkrupeedi / suhkrurooga seotud liigid hävivad töötlemise käigus
Jäävad termofiilsed spoore moodustavad liigid

Vee lisamine loob soodsama keskkonna pärmidele ja hallitustele
Saasteallikas: tootmiskeskkond, seadmed, pakendid

Riknenud siirupi pakend punnitab (klaaspakend võib plahvatada), värvimuutused, silmnähtav hallituste kasv siirupi pinnakihis.

Munad, munatooted

Saastuvad kohe peale munemist, (kloaak, keskkond, putukad)
Lactobacillus spp, *Micrococcus spp*.; Streptococcus spp
Enterobakterid, kokid (sh *Staph aureus*), LAB,

Muna sisemuse saastumise sõltub

- kana tervisest ja munakoore kvaliteedist,
- muna vanusest, (säilitamisel bakterite arv tõuseb munapoorides)
- hoiustamistingimustest,
- muna puhastamisest (ülepesemine / pühkimine)

(Pastöriseeritud) munavalge / täismuna

Tõenäoline saasteallikas: munakoored
Munavalge mikroobidele ebasobiv keskkond:
leeliseline, toitainete vaene, viskoosne

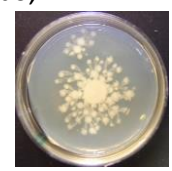
- Pastöriseerimata tooted: enterobkaterid (*Enterobacter* sp., *Escherichia* sp., *Serratia* sp., *Shigella* sp.)
- Pastöriseerimine hävitab enamuse
  - Üksikutes proovides ellujääjaid, eelkõige (*Escherichia s*sp., enterokokid)
  - Kuumale vastupidavad liigid /tüved (*Enterococcus* spp., *Salmonella* spp, *Bacillus cereus* (pastöriseeritud täismuna)
- Pastöriseerimsise järgne saastumine (*Pseudomona*s ssp, enterobakterid)

Ohud

- amülolüütiline, lipolüütiline ja proteolüütiline aktiivsus
- Potentsiaalne patogeensus

Pagaripärm

Tootmisprotsessis - eoseid moodustavad bakterid
(nt *Bacillus licheniformis*, *B. fumarioli*, *B. cereus* , *B. badius*, *B. coagulans*, *B. subtilis*, *B.pumilus,*
Brevibacillus agri, *Paenibacillus glucanolyticus; P. lautus; Alicyclobacillus acidocaldarius*;)



- Tootmise järgne kontaminatsioon (nt pakkimine) - *Salmonella spp , Staphlococcus* spp.

Enamus liikuvad, biokilet moodustavad, tugeva ensümaatilise aktiivsusega (amülaasid, pektinaasid)
Osa potentsiaalsed patogeenid

želatiin

Loomset päritolu toode.
Proteolüütilised mikroobid

- *Clostridium* spp
- ***Bacillus cereus***, *B.coagulans*, *B. fumarioli*, *B. sonorensis*,

B. amyloliquefaciens, ***B. licheniformis***, ***B. subtilis***,
B. pumilus, *B. gelatini*, *B. thermoamylovorans*,

- *Anoxybacillus contaminans*, *A. flavithermus*,
- *Brevibacillus agri*, *B.borstelensis*,
- *Geobacillus stearothermophilus*.
- enterobakterid sh *E.coli* ja *Coli*-laadsed, Salmonella spp

Maitseained

Enamasti eostega bakterid: *Bacillus* spp ja *Clostridium spp* aga ka hallitused / pärmid ja enterobakterid (nt *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter cloacae*)

Cronobacter spp (leitud ka puuviljadelt, aedviljadelt, kaunviljadelt, leivast, riisist)

Tootmiskeskkonnast

Ohtlik on maitseainete lisamine peale kuumutamist.

Puhanguid EL, USA-s, Uus-Meremaal jm
Sh *Salmonella* enterica subspecies *enterica* ja *Bacillus* spp

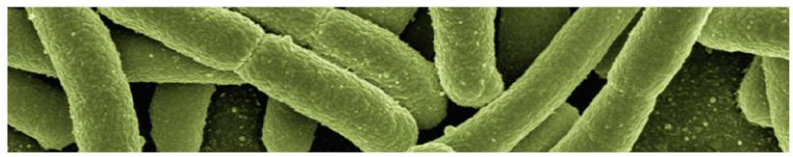
https://www.agri.ee/et/eesmargid-tegevused/toiduohutus/bioloogiline-ohutus/mikrobioloogilised-nouded

MAAELUMINISTEERIUM

Mikrobioloogilised nõuded

Toidu sisse sattudes võivad soovimatud bakterid, hallitusseened ja muud mikroorganismid toidu puhtust ja kvaliteeti rikkuda ning muuta selle tarbija tervisele ohtlikuks. Seetõttu ei tohi toiduained sisaldada mikroorganisme ega nende toksiine koguses, mis seaks ohtu inimese tervise.

Toidu kvaliteedi ning saastumise ulatuse hindamiseks on levinumate mikroorganismide ja nende toksiinide jaoks (nt *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* *Enterobacter sakazakii*) stafülokoki enterotoksiinid ja histamiin) määratud piirnormid ehk suurimad lubatud sisaldused toidus. Piirnormist rohkem ei tohi mikroorganismi toidus leiduda ei toidu tootmisel ega kogu selle säilimise aja jooksul.



Piirnormid on kehtestatud Komisjoni määrusega (EÜ) nr 2073/2005 toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta. Määruses kirjeldatud toiduliikide kategooriaid ja mikrobioloogilisi kriteeriume täiendatakse Euroopa Toiduohutusameti (EFSA) teaduslike uurimuste alusel.

Piirnormid on kooskõlas rahvusvaheliselt tunnustatud Codex Alimentariuse toiduohutuse põhimõtete ja standarditega.

Järelevalvet mikrobioloogiliste nõuete täitmise üle teeb Veterinaar- ja Toiduamet.

Järelevalvet tegevatele pädevatele asutustele on Euroopa Liidu Komisjon koostanud toidu mikrobioloogiliste proovide võtmise ja analüüsimise juhise. Juhis annab

TOIDU- JA HÜGIEENI-PROOVIDE VÕTMINE

mikrobioloogilisteks analüüsideks ning proovide analüüsimine

Euroopa Maaelu Arengu Põhiseadusfond: Euroopa Investeeringud maapiirkondadesse

BioCC OÜ
Tartu 2018

https://toiduteave.ee/wp-content/uploads/2018/09/BioCC_mikrobiol_proovid-analyysid-veebi.pdf

Sisukord

Mõisted ... 3
Sissejuhatus ... 5
1. Proovivõtukava ... 6
1.1. Toidu proovivõtukava ... 6
1.2. Joogivee proovivõtukava ... 6
1.3. Hügieeniproovide võtmise kava ... 7
2. Proovivõtmise eesmärgid ... 8
3. Mikrobioloogilised kriteeriumid ... 8
4. Mikrobioloogiliste proovide võtmise ja analüüsimise meetodeid kirjeldavad standardid ... 8
5. Proovivõtu sagedus ... 9
6. Proovivõtukoht ja proovide võtmise aeg ... 9
6.1. Toiduproovid ... 9
6.2. Joogivee proovid ... 9
6.3. Tootmiskeskkonna proovid ... 10
6.4. Õhu mikrobioloogilised analüüsid ... 10
6.5. Hügieeniproovid ... 10
6.6. Puhastus- ja desinfitseerimisprogrammi tulemuslikkuse hindamine 11
7. Proovivõtja ... 11
8. Ettevalmistused proovide võtmiseks ... 11
8.1. Riietus ... 11
8.2. Kätepesu ... 12
8.3. Tööpinna desinfitseerimine ... 12
9. Proovivõtmiseks vajalikud töövahendid ja nende käitlemine ... 12
9.1. Korduvkasutatavate proovivõtuvahendite steriliseerimine ... 12
10. Proovivõtumeetod ... 13
10.1. Toiduproovid ... 13
10.2. Hügieeniproovid ... 14
11. Proovide koostamine ... 15
11.1. Toiduproovid ... 15
11.2. Joogiveeproovid ... 16
11.3. Pinnaproovid ... 16
12. Proovide saatmine laboratooriumisse analüüsimiseks ... 16
12.1. Proovide saatmine toidu käitlemise ettevõttest ettevõttevälisesse laboratooriumisse ... 17
tamine ja pakendamine ... 17
te proovidega kaasas olev dokumentatsioon ... 18
ortimine ... 18
ie ... 19
ll ... 19
id ... 19
... 19
13.4. Proovide vastuvõtmine ... 19
13.5. Proovide säilitamine ... 19
13.6. Hügieenilised ettevaatusabinõud analüüsimisel ... 20
13.7. Söötmete valmistamine ... 20
13.8. Alglahjenduse ja kümnendlahjenduste valmistamine ... 20
13.9. Lahjenduste külvamine ja inkubeerimine ... 20
13.10. Analüüsi tulemuste vormistamine ... 21

11.10.2018 (EÜ) nr 2073/2005 - Google otsing

Google (EÜ) nr 2073/2005

Kõik Kaardid Pildid Videod Veel Eelistused Tööriistad

Umbes 102 000 tulemust (0,41 sekundit)

(EÜ) nr 2073/2005

EUR-Lex - 02005R2073-20130701 - EN - EUR-Lex - Europa EU
https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/ALL/?uri=CELEX%3A02005R2073...
1. juuli 2013 - Komisjoni määrus (**EÜ**) **nr 2073/2005**, 15. november 2005 , toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta (EMPs kohaldatav tekst).

(EÜ) nr 2073/2005 - EUR-Lex - Europa EU
https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/ALL/?uri=celex%3A32005R2073
Komisjoni määrus (**EÜ**) **nr 2073/2005**, 15. november 2005 , toiduainete mikrobioloogiliste .... Määruse (EÜ) nr 852/2004 artikli 4 kohaselt peavad toidukäitlejad ...

Komisjoni määrus (EÜ) nr 2073/2005, 15. november 2005 ...
https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/.../language-et
1. juuli 2013 - Komisjoni määrus (**EÜ**) **nr 2073/2005**, 15. november 2005 , toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta (EMPs kohaldatav tekst) ...

Veterinaar- ja Toiduamet- Toit - Üldine info - Info- ja juhendmaterjalid ...
https://vet.agri.ee/?op=body&id=812
EUROOPA PARLAMENDI JA NÕUKOGU MÄÄRUS (EÜ) nr 852/2004, 29. aprill ...
EUROOPA KOMISJONI MÄÄRUS (**EÜ**) **nr 2073/2005**, 15. november 2005, ...

Mikrobioloogilised nõuded | Maaeluministeerium
https://www.agri.ee/et/eesmargid-tegevused/toiduohutus/.../mikrobioloogilised-nouded
Allikas: Piirnormid on kehtestatud Komisjoni määrusega (**EÜ**) **nr 2073/2005** toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta. Määruses kirjeldatud toiduliikide ...

(EÜ) nr 2073/2005
https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ET/ALL/?uri=CELEX%3A02005R2073-20130701

11.10.2018 EUR-Lex - 02005R2073-20130701 - EN - EUR-Lex

Document 02005R2073-20130701

Title and reference

Komisjoni määrus (EÜ) nr 2073/2005, 15. november 2005 , toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta (EMPs kohaldatav tekst)

ELI: http://data.europa.eu/eli/reg/2005/2073/2013-07-01

Languages and formats available

	BG	ES	CS	DA	DE	ET	EL	EN	FR	GA	HR	IT	LV	LT	HU	MT	NL	PL	PT	RO	SK	SL	FI	SV
HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML	HTML
PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF	PDF

Dates

Date of document: 01/07/2013
Date of effect: 01/07/2013

►B

KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 2073/2005,
15. november 2005,
toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta
(EMPs kohaldatav tekst)
(EÜT L 338, 22.12.2005, p.1)

Muudetud:

		Euroopa Liidu Teataja No	page	date
►M1	KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 1441/2007, 5. detsember 2007,	L 322	12	7.12.2007
►M2	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 365/2010, 28. aprill 2010,	L 107	9	29.4.2010
►M3	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 1086/2011, 27. oktoober 2011,	L 281		
►M4	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 209/2013, 11. märts 2013,	L 68		

näide parandus C2:
Terves dokumendis
Asendatakse „enterobakterid"
järgmisega:
„*Enterobacteriaceae*"

Parandatud:

C1 Parandus, EÜT L 278, 10.10.2006, lk 32 (2073/2005)
►C2 Parandus, EÜT L 174, 9.7.2010, lk 54 (1441/2007)
►C3 Parandus, EÜT L 084, 23.3.2013, lk 29 (1441/2007)
►C4
►C5
►C6

Näiode: Leheküljel 18 1. peatüki tabeli joonealuse märkuse nr 8 esimene lause „Tooteid, mille pH = 4,4 või a_w = 0,92, tooteid, mille pH = 5,0 ja a_w = 0,94, tooteid kõlblikkusajaga kuni 5 päeva peetakse automaatselt sellesse rühma kuuluvaks."
asendatakse järgmisega: „Tooteid, mille pH ≤ 4,4 või a_w ≤ 0,92, tooteid, mille pH ≤ 5,0 ja a_w ≤ 0,94, tooteid kõlblikkusajaga kuni 5 päeva peetakse automaatselt sellesse rühma kuuluvaks."

▼B

KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 2073/2005,
15. november 2005,

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,
võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,
võttes arvesse Euroopa Parlamendi ja nõukogu 29. aprilli 2004. aasta määrust (EÜ) nr 852/2004 toiduainete hügieeni kohta, ([1]) eriti selle artikli 4 lõiget 4 ja artiklit 12,
ning arvestades järgmist:

(1) Toidualaste õigusnormide üks põhieesmärke on rahvatervise kaitse, nagu on sätestatud Euroopa Parlamendi ja nõukogu 28. jaanuari 2002. aasta määruses (EÜ) nr 178/2002, millega sätestatakse toidualaste õigusnormide üldised põhimõtted ja nõuded, asutatakse Euroopa Toiduohutusamet ja kehtestatakse toidu ohutusega seotud menetlused ([2]). Toiduainete mikrobioloogilised ohuallikad on inimestel toidupõhiste haiguste üks peamisi põhjusi.

(2) Toiduained ei tohi sisaldada mikroorganisme, nende toksiine või metaboliite koguses, mis seab ohtu inimeste tervise.

(3) Määrusega (EÜ) nr 178/2002 sätestatakse toiduohutuse üldnõuded, mille kohaselt ei tohi ohtlikku toitu turule viia. Toidukäitlejate kohustus on ohtlik toit turult kõrvaldada. Rahvatervise kaitseks ja erinevate tõlgenduste vältimiseks on vaja kehtestada toidu vastuvõetavuse ühtlustatud

...

(EÜ) nr 2073/2005,

toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumite kohta

I LISA Toiduainete mikrobioloogilised kriteeriumid

1.peatükk **Toiduohutuskriteeriumid .** 9

2. peatükk **Protsessi hügieenikriteeriumid** 15

2.5 **Köögivili, puuvili ja nendest valmistatud tooted** .. . 23

3. peatükk **Proovide võtmise ja uuritavate proovide ettevalmistamise eeskirjad** 24

Erinevate tõlgenduste vältimiseks on kehtestatud
Toidu vastuvõetavuse ühtlustatud ohutuskriteeriumid

Mikrobioloogiline kriteerium

kriteerium, millega määratakse kindlaks toote, toidupartii või protsessi vastuvõetavus. Põhineb mikroobide puudumisel, esinemisel või nende arvul, mikroobide toksiinide või ebasoovitavate metaboliitide hulgal toidu massi- või mahuühiku kohta, pindala- või partiiühiku kohta.

↓ ↓

Toiduohutuskriteerium

Määrab kindlaks toote või toidupartii vastuvõetavuse Kriteeriumit kohaldatakse turuleviidavate toodete suhtes

Protsessi hügieenikriteerium

Määrab kindlaks tootmis-protsessi vastuvõetava toimimise. Saastumisväärtus, mille ületamisel on vaja võtta parandusmeetmeid

(EÜ) nr 2073/2005

1. peatükk **Toiduohutuskriteeriumid :**

1. Toidu liik
2. Mikroorganismid / nende toksiinid, metaboliidid
3. Proovi võtukava (n) (C)
4. Piirmäärad (m) (M)
5. Analüütiline standardmeetod
6. Kriteeriumi kohaldamise etapp

n = osaproovide arv üheks uuringuks;
c = osaproovide arv, milles uuringu käigus määratud mikroorganismide arv g / ml jääb **m** ja **M** vahele; või on näitajast **m** suuremad
m = mikroorganismide kolooniate arv g / ml, mille samaväärse või väiksema (≤) koguse korral kõigis osaproovides loetakse toit mikrobioloogilistele nõetele vastavaks;
M = suurim toidus lubatud mikroorganismide kolooniate arv g / ml kohta.
Toit loetakse mikrobioloogilistele nõuetele mittevastavaks ja toidukõlbmatuks, kui mikroorganismide kolooniate arv enamates kui **c** järgi lubatud osaproovides on võrdne väärtusega **M** või sellest suurem (≥)

(EÜ) nr 2073/2005

Toiduohutuskriteeriumid

1.10 Želatiin ja kollageen
1.14 Munatooted, välja arvatud tooted, mille puhul tootmisprotsessi või toote koostise tõttu salmonella oht puudub
1.15 Toorest muna sisaldavad valmistoidud, välja arvatud tooted, mille puhul tootmisprotsessi või toote koostise tõttu salmonella oht puudub
1.18 Idandatud seemned
1.19 Eelnevalt tükeldatud puu- ja köögivili
1.20 Pastöriseerimata puuvilja- ja köögiviljamahlad

↓

Samonella n=5, C=0; puudub 25 g-s
EN / ISO 6579 (NB! Kasutatakse uusimat versiooni)
kõlblikkusajal turule viidud tooted

(¹) n = proovi moodustavate ühikute arv; c = proovi nende ühikute arv, mille väärtused on näitajast m suuremad või mille väärtused jäävad näitajate m ja M vahele.
(²) Punktides 1.1-1.24 m = M.
(³) Kasutatakse uusimat standardit.
(⁴) Kriteeriumidele vastavuse korraline kontroll ei ole tavaasjaoludel kasulik järgmiste valmistoitude puhul:
— mida on *L. monocytogenes*'e kõrvaldamiseks kuumtöödeldud või muul viisil töödeldud, kui saastumine ei olepärast seda töötlemist võimalik (näiteks lõpp-pakendis kuumtöödeldud tooted),
— värske, lõikamata ja töötlemata köögi- ja puuvili, väljaarvatud idandatud seemned,
— leib, küpsised ja sarnased tooted,
— pudeli- või pakendiveed, karastusjoogid, õlu, siider, vein, kanged alkohoolsed joogid ja sarnased tooted,
— suhkur, mesi, kakao ja šokolaaditooted ning muud kondiitritooted,
— ehsad kahepoolmelised molluskid.
(⁵) Kriteeriumi kohaldatakse siis, kui valmistaja suudab pädevale asutusele piisavalt tõendada, et toode ei ületa kõlblikkusaja jooksul 100 cfu/g piirmäära. Kärtleja võib määrata protsessi ajal vahepealsed piirmäärad, mis peavad olema piisavalt madalad selle tagamiseks, et kõlblikkusaja lõpul ei ületataks 100 cfu/g piirmäära.
(⁶) 1 ml inokulaati 140 mm läbimõõduga Petri tassil või kolmel 90 mm läbimõõduga Petri tassil.
(⁷) Kriteeriumi kohaldatakse toodetele enne, kui toode on viidud selle tootnud toidukäitleja vahetu kontrolli alt välja, juhul kui toidukäitleja ei suuda pädevale asutusele piisavalt tõendada, et toode ei ületa kõlblikkusaja jooksul 100 cfu/g piirmäära.
(⁸) Tooteid, mille pH =4,4 või a_w =0,92, tooteid, mille pH =5,0 ja a_w =0,94, tooteid kõlblikkusajaga kuni 5 päeva peetakse automaatselt sellesse rühma kuuluvaks. Teised tooteliigid võivad selle rühma alla kuuluda, kui see on teaduslikult põhiendatud.

Kriteeriumidele vastavuse korraline kontroll ei ole tavaasjaoludel kasulik järgmiste valmistoitude puhul:
— mida on ***L. monocytogenes'e*** kõrvaldamiseks kuumtöödeldud või muul viisil töödeldud, kui saastumine ei ole pärast seda töötlemist võimalik (näiteks lõpp-pakendis kuumtöödeldud tooted),
— **värske, lõikamata ja töötlemata köögi- ja puuvili**, väljaarvatud idandatud seemned,
— **leib, küpsised ja sarnased tooted,**
— **pudeli- või pakendiveed, karastusjoogid, õlu, siider, vein, kanged alkohoolsed joogid ja sarnased tooted,**
— **suhkur, mesi, kakao ja šokolaaditooted ning muud kondiitritooted**,

(EÜ) nr 2073/2005

Toiduohutuskriteeriumid

Kontrolli tulemuste tõlgendamine

Salmonella esinemine erinevates toitudes on:
- rahuldav, kui kõik mõõdetud väärtused näitavad bakteri puudumist (≤m)
- Mitterahuldav, kui bakter avastatakse ükskõik millises prooviühikus

(EÜ) nr 2073/2005

2. peatükk **Protsessi hügieenikriteeriumid:**

1. Toidu liik
2. Mikroorganismid / nende toksiinid, metaboliidid
3. Proovi võtukava (n) (C)
4. Piirmäärad (m) (M)
5. Analüütiline standardmeetod
6. Kriteeriumi kohaldamise etapp
7. Tegevus mitterahuldava tulemuse korral

(EÜ) nr 2073/2005

Protsessi hügieenikriteeriumid

2.5.1. Eelnevalt tükeldatud puu- ja köögivili
2.5.2. Pastöriseerimata puuvilja- ja köögiviljamahlad

E.coli n=5; C=2; m=100cfu/g; M=1000cfu/g
EN / ISO 16649-1 või 2 (NB! uusim versioon)
Tootmisprotsess
Tootmisprotsessi ja tooraine valiku parandamine

2.5 Köögivili, puuvili ja nendestvalmistatud tooted

Toidu liik	Mikroorganismid	Proovivõtu kava (1)		Piirmäärad		Analüütiline standardmeetod (2)	Kriteeriumi kohaldamise etapp	Tegevus mitterahuldavate tulemuste korral
		n	c	m	M			
2.5.1 Eelnevalt tükeldatud puu- ja köögivili (valmistoode)	*E. coli*	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	ISO 16649-1 või 2	Tootmisprotsess	Tootmishügieeni ja toorainete valiku parandamine
2.5.2 Pastöriseerimata puuvilja- ja köögiviljamahlad (valmistoode)	*E. coli*	5	2	100 cfu/g	1 000 cfu/g	ISO 16649-1 või 2	Tootmisprotsess	Tootmishügieeni ja toorainete valiku parandamine

(1) n = proovi moodustavate ühikute arv; c = proovi nende ühikutearv, mille väärtused jäävad näitajate m ja M vahele.
(2) Kasutatakse uusimat standardit.

(EÜ) nr 2073/2005

Protsessi hügieenikriteeriumid

2.3.1 Muna tooted
2.5.1. Eelnevalt tükeldatud puu- ja köögivili
2.5.2. Pastöriseerimata puuvilja- ja köögiviljamahlad

↓

E.coli n=5; C=2; m=100cfu/g; M=1000cfu/g
EN / ISO 16649-1 või 2
Tootmisprotsess
Tootmisprotsessi ja tooraine valiku parandamine

Enterobakterid n=5; C=2; m=10cfu/g; M=100cfu/g
ISO 21528-2 (NB! uusim versioon)
Tootmisprotsessi lõpp
Kuumtöötlemise tõhususe ja töötlemisjärgse saastumise vältimise kontrollimine

(EÜ) nr 2073/2005
(EÜ) nr 1441/2007

Tulemuste tõlgendamine

E. coli näitaja eelnevalt tükeldatud puu- ja köögiviljades ja pastöriseerimata puuvilja- ja köögiviljamahlades :

- rahuldav, kui kõik mõõdetud väärtused on ≤ m
- Vastuvõetav, kui c / n väärtuste piir jääb M ja m vahele
- Mitterahuldav, kui vähemalt üks mõõdetud väärtustest on suurem kui M või kui rohkem kui rohkem kui c /n väärtusi on näitajate m ja M vahel

►B KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 2073/2005,
15. november 2005,
toiduainete mikrobioloogiliste kriteeriumide kohta
(EMPs kohaldatav tekst)
(EÜT L 338, 22.12.2005, p.1)

Muudetud:

		Euroopa Liidu Teataja No	page	date
►M1	KOMISJONI MÄÄRUS (EÜ) nr 1441/2007, 5. detsember 2007,	L 322	12	7.12.2007
►M2	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 365/2010, 28. aprill 2010,	L 107	9	29.4.2010
►M3	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 1086/2011, 27. oktoober 2011,	L 281	7	28.10.2011
►M4	KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 209/2013, 11. märts 2013,	L 68	19	12.3.2013

Parandatud:

C1	Parandus, EÜT L 278, 10.10.2006, lk 32 (2073/2005)
►C2	Parandus, EÜT L 174, 9.7.2010, lk 54 (1441/2007)
►C3	Parandus, EÜT L 084, 23.3.2013, lk 29 (1441/2007)
►C4	Parandus, EÜT L 084, 23.3.2013, lk 30 (365/2010)
►C5	Parandus, EÜT L 084, 23.3.2013, lk 30 (1086/2011)
►C6	Parandus, EÜT L 086, 26.3.2013, lk 35 (2073/2005)

(EL) nr 209/2013,

… millega muudetakse määrust (EÜ) nr 2073/2005 seoses idandite mikrobioloogiliste kriteeriumide ning kodulinnurümpadelt ja värskelt kodulinnulihalt proovide võtmise eeskirjadega

2011. aasta mais liidus aset leidnud *Shiga*-toksiini tootva *E. coli* (STEC) puhangute järel tehti kindlaks, et need puhangud olid tõenäoliselt põhjustatud idandite tarbimisest.

↓

Shiga-toksiini tootev *E. coli* (STEC) O157; O26; O111; O103; O145; O104:H4

n=5, C=0; m ja M: puudub 25 g-s, CEN/ ISO TS 13136

Kõlblikkussajal turule viidud tooted

LISA

c) lisatakse rida 1.29 ja vastavad joonealused märkused 22 ja 23:

„1.29. Idandid ([23])	*Shiga*-toksiini tootev *E. coli* (STEC) O157, O26, O111, O103, O145 ja O104:H4	5	0	Puudub 25 grammis	CEN/ISO TS 13136 ([22])	Kõlblikkusajal turule viidud tooted

([22]) Võttes arvesse Euroopa Liidu referentlaboratooriumi tehtud viimast kohandamist *Escherichia coli*, sealhulgas verotoksiini tootva *E. coli* (VTEC) puhul, et tuvastada STEC O104:H4.

([23]) Välja arvatud idandid, mida on töödeldud viisil, mis võimaldab tõhusalt kõrvaldada *Salmonella* spp. ja STECi."

Toidugruppide suhtes esitatavad mikrobioloogilised nõuded. nr 166 (2000) RT I 2000, 42, 266.

Laikoja ja Roasto , 2017

TOIDU SÄILIMISAJA MÄÄRAMINE II OSA
Mikrobiloogilised näitajad toidugruppide kohta

https://toiduteave.ee/wp-content/uploads/2017/12/S%C3%A4ilimisaja-m%C3%A4%C3%A4ramise-juhend-II-osa_dets-2017.pdf

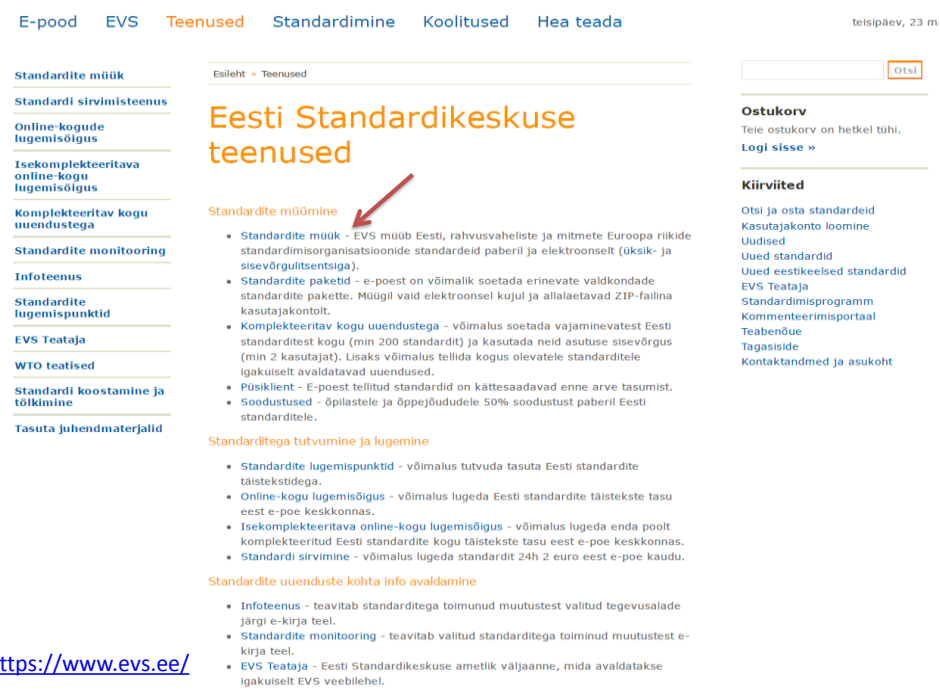
Sotsiaalministri määrus
Joogivee kvaliteedi- ja kontrollinõuded ning analüüsimeetodid (2001)
https://www.riigiteataja.ee/akt/13256473?leiaKehtiv :

Proovide võtmise ja uuritavate proovide ettevalmistamise eeskirjad

(EÜ) nr 2073/2005

Kui pole erieeskirju, kasuta ISO standardeid (kehtivad!) või Codex Alimentarius

http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/en/



https://www.evs.ee/

Analüüsimeetod

Joogivesi:
EVS-EN ISO 19458:
Vee kvaliteet. Proovivõtt mikrobioloogilisteks uuringuteks

EVS-EN ISO 5667-1:
Proovivõtt Osa 1 Proovivõtuplaanide koostamisjuhendid ja proovivõtumeetodid
EVS-EN ISO 5667-3:
Vee kvaliteet. Proovivõtt. Osa 3: Veeproovide konserveerimine ja käitlemine
EVS-ISO 5667-5: Vee kvaliteet. Proovivõtt. Osa 5: Juhised joogivee proovivõtuks veetöötsusjaamadest ja veevarustuse jaotusvõrkudest

Sotsiaalministri määrus
Joogivee kvaliteedi- ja kontrollinõuded ning analüüsimeetodid
(2001)
RT I 2001, 100, 1369 https://www.riigiteataja.ee/akt/13256473?leiaKehtiv :

Vee mikrobioloogiliste kvaliteedinäitajate määramiseks peab kasutama alljärgnevaid analüüsimeetodeid:

Mikrobioloogilised kvaliteedinäitajad	**Analüüsimeetodid**
Coli-laadsed bakterid ja *Escherichia coli*	ISO 9308-1
Enterokokid	ISO 7899-2
Kasvatatavate mikroorganismide loendamine – kolooniate arv 22° C ja 37° C juures	EN ISO 6222
Pseudomonas aeruginosa	prEN ISO 12780
Clostridium perfringens (k.a eosed)	EN 26461-2

Analüüsimeetod

Toit:
ISO/TS 17728
Toiduahela mikrobioloogia. Proovivõtumeetodid toidu- ja söödaproovide mikrobioloogiliseks analüüsiks.

EVS-EN ISO 6887-4
Toiduahela mikrobioloogia. Katseproovide, algsuspensiooni ja kümnendlahjenduste ettevalmistamine mikrobioloogiliseks uuringuks.
Osa 4: Erinevate toodete ettevalmistamise erieeskirjad

Proovide võtmise ja analüüsimise metoodikad

- EVS-EN ISO 16140 Toiduainete ja loomasööda mikrobioloogia. Alternatiivsete meetodite valideerimise protokoll
- EVS-EN ISO 16140 /A1:2011 Toiduainete ja loomasööda mikrobioloogia. Alternatiivsete meetodite valideerimise protokoll - Muudatus 1

Proovi suurus, koostis ja arv
Toiduproovid

Juhinduda seadusandlusest, kui on sätestatud konkreetsest toidust teatud patogeeni määramiseks proovi moodustavate ühikute arv
Seadusandluses sätestamata mikroobide määramiseks peaks proov koosnema mitte vähem kui kolmest osaproovist

8 PROOVIDE ETTEVALMISTAMINE ... 10
8.1 Üldist ... 10
8.2 Happelised tooted ... 10
8.3 Suure rasvasisaldusega toidud, välja arvatud margariinid ja määrded (näiteks üle 20 % kogumassist on rasv) ... 11
8.4 Kõvad ja kuivad tooted ... 11

9 ERIPROTSEDUURID ... 11
9.1 Dehüdreeritud ja madala a_w-ga tooted ... 11
9.1.1 Üldist ... 11
9.1.2 Seadmed ... 11
9.1.3 Proovide ettevalmistamine ...
9.1.4 Algsuspensiooni valmistamine ...
9.1.5 Taaselustamine ...
9.1.6 Vee aktiivsus ...
9.2 Jahud, teraviljad ja kõrvalsaadused ning loomasöödad ...
9.3 Želatiin (pulbriline ja lehed) ...
9.3.1 Proovide ettevalmistamine ...
9.3.2 Algsuspensiooni valmistamine ...
9.4 Margariin ja määrded ...
9.4.1 Proovi võtmine ...
9.4.2 Katseproovi valmistamine ...
9.5 Muna ja munatooted ...
9.5.1 Värsked terved munad ...
9.5.2 Terve munakoore mikrofloora ...
9.5.3 Sisemine mikrofloora ...
9.5.4 Lahtised terved vedelad munad, munavalged ja munakollased ... 18
9.5.5 Dehüdreeritud terve muna ja kuivatatud munavalge ... 18
9.5.6 Terve muna mikrofloora (koor koos munakollase ja koos munavalgega) ... 18
9.6 Pagaritooted, kondiitritooted ja koogid ... 18
9.6.1 Üldist ... 18
9.6.2 Proovide ettevalmistamine ... 18
9.7 Värsked puu- ja kõõgiviljad (eelpakendatud) ... 19
9.7.1 Mitut koostisosa sisaldavatest toodetest proovi ettevalmistamine ... 19
9.7.2 Ühte tüüpi puu- või kõõgivilja eelpakendatud tooted ... 19
9.8 Fermenteeritud tooted või muud tooted, mis sisaldavad elusaid mikroorganisme ... 19
9.8.1 Üldist ... 19
9.8.2 Lahjendi ... 19
9.9 Joogid (alkohoolsed ja mittealkohoolsed joogid ning pudeliveed, gaseerimata või gaseeritud) ... 20
9.9.1 Üldist ... 20
9.9.2 Ümberpõõramise ja segamisega degaseerimine ... 20
9.9.3 Ultraheli abil degaseerimine ... 20
9.10 Alternatiivsed valgutooted (kuumtöödeldud putukad, tekstureeritud taimevalk või

EESTI STANDARD EVS-EN ISO 6887-4:2017

Avaldatud eesti keeles: november 2017

TOIDUAHELA MIKROBIOLOOGIA
Katseproovide, algsuspensiooni ja kümnendlahjenduste ettevalmistamine mikrobioloogiliseks uuringuks
Osa 4: Erinevate toodete ettevalmistamise erieeskirjad

Microbiology of the food chain
Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination
Part 4: Specific rules for the preparation of miscellaneous products
(ISO 6887-4:2017)

Proovide analüüsimine

- Ettevõtte oma labor: kiire, paindlik, analüüside usaldusväärsuse tagamiseks peavad olema juurutatud protseduurid
- Väline (akrediteeritud labor) : spetsiifilisemad analüüsid, eriaparatuuri nõudvad analüüsid

Proovide saatmine toidukäitlemisettevõttest välisesse laboratooriumisse

Hoiatage ette

Mikrobioloogiliste proovidega kaasnev dokumentatsioon

- Akrediteeritud laboratooriumitel olemas analüüside kaaskirjade vormid
  - Eeltäidetav / täidetav koha peal
- Kaaskiri sisaldab analüüsimiseks saadetud proovide üksikasju (proovivõtmise koht, proovide nimetus, arv, tüüp, kogus ja säilitamistingimused, partii numbrid, proovide võtmise kuupäev *ja kellaaeg*), soovitud mikrobioloogilised analüüsid, lisaks proovide võtja / proovide omaniku andmed.

Mikrobioloogiliste proovidega kaasnev dokumentatsioon

- Lohakalt täidetud kaaskiri
  - tekitab segadust,
  - võib põhjustada analüüsitulemusi mõjutavat ajakulu või
  - mõned toiduohutuse seisukohalt olulised analüüsid võivad tegemata jääda
- Proovidega kaasa saadetavad dokumendid (tellimislehed jm) pakendada kiletaskusse
  - mitte transportida lähikontaktis proovidega ja jääpakkidega

Proovide transportimine laborisse

Eesmärk: säilitada uurimisele saadetavate esindusliku tooteproovide algne mikrobioloogiline kvaliteet

- Proovid peavad jõudma laboratooriumisse võimalikult lühikese aja jooksul (eelistatavalt 24h jooksul)

- Proovid, mille transport eeldab madalal temperatuuril (jahutatult või külmutatult) hoidmist,
  - saata külmutusautodes,
  - hoida transportimise spetsiaalsetes jahutuskastides.

Proovide pakendamine transpordiks

Jahutamiseks eeljahutatud külmakehad, (purustatud) kuiv jää

Lahtise jää / jääkuubikute kasutamine võib põhjustada

- siltide lahtiligunemist,
- (nn veekindla markeriga tehtud) märgistuste mahakulumist
- proovimaterjali saastumist jääsulamisveega

Toiduproovide suhe jahutusüksusesse (kuiv jää, külmakehad) sõltub transpordi tingimustest

- Külmakasti täitumise astmest
- Transpordiajast
- Välistemperatuurist
- konkreetset toiduproovist

Soovitavad eelkatsetused

EVS-EN ISO 6887;
EVS-EN ISO 7218

Proovide pakendamine transpordiks

- Jahutatud, kuumasid, toatemperatuuril või külmutatud proove ei tohi pakendata samassa transpordikonteinerisse
- Kui proov pole enne külmutatud, ei tohi seda transportimiseks külmutada
- Toidud, mille algne temperatuur oli 0 °C...+4 °C, ei tohi langeda alla 0 °C ja tõusta üle +5 °C 24 h transpordi jooksul
- Kui algne temperatuur oli -18°C, ei tohi tõusta üle -18 °C 24 h
- ei tohi üle jahtuda (nt < -30 °C)

  → Vältida otsest kokkupuudet jahutusüksusega

Proovide pakendamine transpordiks

- Stabiilsed tooted ümbritseva õhu temperatuuril alla 40°C;
- Külmutatud / sügavkülmutatud tooted -15°C, eelistatult -18°C
- Tooted, mis ei ole stabiilsed ümbritseva õhu temperatuuril: 1°C kuni 8°C;
- Tampooniproovid: +1 °C...+4 °C

EVS-EN ISO 6887;
EVS-EN ISO 7218;
EVS-ISO 18593

TÄNAN!