

**2008**

Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné požadavky a doporučení pro mikrobiologické zkoušení	ČSN EN ISO 7218  56 0103
--	-----------------------------------

idt ISO 7218:2007

Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for microbiological examinations

Microbiologie des aliments - Exigences générales et recommandations

Mikrobiologie von Lebensmitteln und Futtermitteln - Allgemeine Anforderungen und Anleitung für mikrobiologische Untersuchungen

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 7218:2007. Překlad byl zajištěn Českým normalizačním institutem. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN ISO 7218:2007. It was translated by Czech Standards Institute. It has the same status as the official version.

Nahrazení předchozích norem

Touto normou se nahrazuje ČSN ISO 7218 (56 0103) z července 1998.

---

## Národní předmluva

### Změny proti předchozí normě

Norma nově specifikuje všeobecné požadavky a doporučení určené pro tři hlavní účely použití:

- a) uplatňování norem ISO/TC 34/SC 9 a ISO/TC 34/SC 5 pro průkaz a stanovení počtu mikroorganismů;
- b) správnou laboratorní praxi v mikrobiologických laboratořích;
- c) návod pro akreditaci mikrobiologických laboratoří. (Tuto mezinárodní normu lze využít celou nebo částečně jako specifikující technické požadavky v souladu s Přílohou B normy EN ISO/IEC 17025 pro akreditaci mikrobiologických laboratoří národními organizacemi.)

V souladu s bodem c) je např. u všech přístrojů a zařízení nově uveden článek týkající se kalibrace a ověřování funkčnosti, u vybraných přístrojů navíc vstupní validace a revalidace. S tímto bodem souvisí také nové kapitoly o validaci mikrobiologických metod a o interním a externím hodnocení kvality (zkoušení odborné způsobilosti).

Jedna ze zásadních změn proti předchozí normě spočívá v tom, že se pro techniku počítání kolonií musí inokulovat sice nejméně dvě po sobě následující ředění, avšak každé z nich pouze na jednu misku. Toto ustanovení článku 10.2.2 platí s určitým omezením.

Nově se v kapitole 12 Metody konfirmace definují podmínky identifikace cílových mikroorganismů za použití sad miniaturizovaných biochemických testů (článek 12.4) a genových sond (článek 12.5).

### Informace o citovaných normativních dokumentech

ISO 835 zavedena v ČSN EN ISO 835 (70 4120) Laboratorní sklo - Dělené pipety

ISO 6887-1 zavedena v ČSN EN ISO 6887-1 (56 0102) Mikrobiologie potravin a krmiv - Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění - Část 1: Všeobecné pokyny pro přípravu výchozí suspenze a desetinasobných ředění

ISO 6887-2 zavedena v ČSN EN ISO 6887-2 (56 0102) Mikrobiologie potravin a krmiv - Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění - Část 2: Specifické pokyny pro vzorky masa a masných výrobků

ISO 6887-3 zavedena v ČSN EN ISO 6887-3 (56 0102) Mikrobiologie potravin a krmiv - Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění - Část 3: Specifické pokyny pro vzorky ryb a rybích výrobků

ISO 6887-4 zavedena v ČSN EN ISO 6887-4 (56 0102) Mikrobiologie potravin a krmiv - Úprava analytických vzorků, příprava výchozí suspenze a desetinasobných ředění - Část 4: Specifické pokyny pro vzorky jiné než mléko a mléčné výrobky, maso a masné výrobky a ryby a rybí výrobky

ISO 8199 zavedena v ČSN ISO 8199 (75 7810) Jakost vod. Obecné pokyny pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami

ISO 8261 zavedena v ČSN ISO 8261 (56 0111) Mléko a mléčné výrobky - Všeobecné pokyny pro úpravu analytických vzorků, přípravu výchozích suspenzí a desetinasobných ředění pro mikrobiologické zkoušení

ISO 8655-1 zavedena v ČSN EN ISO 8655-1 (70 4255) Pístové objemové odměrné přístroje - Část 1: Termíny, všeobecné požadavky a doporučení pro uživatele

ISO/TS 11133-1 zavedena v ČSN P ENV ISO 11133-1 (56 0099) Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd - Část 1: Všeobecné pokyny pro zabezpečování jakosti při přípravě kultivačních půd v laboratoři

ISO/TS 11133-2 zavedena v ČSN P ENV ISO 11133-2 (56 0099) Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné pokyny pro přípravu a výrobu kultivačních půd - Část 2: Pokyny pro zkoušení výkonnosti kultivačních půd v praxi

ISO 16140 zavedena v ČSN EN ISO 16140 (56 0078) Mikrobiologie potravin a krmiv - Protokol pro validaci alternativních metod

ISO/TS 19036 zavedena v ČSN P ISO/TS 19036 (56 0625) Mikrobiologie potravin a krmiv - Pokyny pro odhad nejistoty měření při kvantitativním stanovení

ISO 22174 zavedena v ČSN EN ISO 22174 (56 0012) Mikrobiologie potravin a krmiv - Polymerázová řetězová reakce (PCR) k průkazu mikroorganismů působících onemocnění z potravin - Všeobecná ustanovení a definice

Strana 3

---

Upozornění na národní přílohu

Do této normy byla doplněna národní příloha NA (informativní), která uvádí v zájmu jednoznačné srozumitelnosti a věcné správnosti informace k článkům 10.2.2, 10.3.2.2, 10.3.2.4.1, 10.3.2.5.1, 10.3.2.5.3 a 10.5.6.2.2.

Vypracování normy

Zpracovatel: RNDr. Ljuba Schlemmerová, CSc., IČ 43060927

Pracovník Českého normalizačního institutu: Ing. Linda Pleštilová

Strana 4

---

Prázdná strana

Strana 5

---

EVROPSKÁ NORMA  
EUROPEAN STANDARD  
NORME EUROPÉENNE  
EUROPÄISCHE NORM

EN ISO 7218

Srpen 2007

ICS 07.100.30

Mikrobiologie potravin a krmiv - Všeobecné požadavky a doporučení  
pro mikrobiologické zkoušení  
(ISO 7218:2007)

Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements  
and guidance for microbiological examinations  
(ISO 7218:2007)

Microbiologie des aliments -  
Exigences générales et recommandations  
(ISO 7218:2007)

Mikrobiologie von Lebensmitteln  
und Futtermitteln - Allgemeine  
Anforderungen  
und Anleitung für mikrobiologische  
Untersuchungen  
(ISO 7218:2007)

Tato evropská norma byla schválena CEN 2007-04-19.

Členové CEN jsou povinni splnit Vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se musí této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací dát status národní normy. Aktualizované seznamy a bibliografické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídicím centru nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídicímu centru, má stejný status jako oficiální verze.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Španělska, Švédsko a Švýcarska.

## **CEN**

**Evropský výbor pro normalizaci**  
**European Committee for Standardization**  
**Comité Européen de Normalisation**  
**Europäisches Komitee für Normung**

**Řídicí centrum: rue de Stassart 36, B-1050 Brusel**

© 2007 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoli formě a jakýmikoli prostředky Ref.

č. EN ISO 7218:2007 (E)

jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

Strana 6

---

### Předmluva

Tento dokument (EN ISO 7218:2007) byl vypracován technickou komisí ISO/TC 34 „Zemědělské potravinářské výrobky“ ve spolupráci s technickou komisí CEN/TC 275 „Analýza potravin - Horizontální metody“, jejíž sekretariát je v působnosti DIN.

Této evropské normě je nutno nejpozději do konce února 2008 dát status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do konce února 2008.

Podle Vnitřních předpisů CEN/CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační organizace následujících zemí: Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Irsko, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Španělska, Švédsko a Švýcarska.

## Oznámení o schválení

Text mezinárodní normy ISO 7218:2007 byl schválen CEN jako EN ISO 7218:2007 bez jakýchkoliv modifikací.

Strana 7

---

## Obsah

	Strana
Předmluva	
.....	
..... 6	
Úvod	
.....	
..... 9	
<b>1</b> Předmět normy	
.....	
10	
<b>2</b> Citované normativní dokumenty.....	10
<b>3</b> Prostory	
.....	
..... 11	
<b>3.1</b> Všeobecně	
.....	
..... 11	
<b>3.2</b> Bezpečnostní pokyny	
.....	
..... 11	
<b>3.3</b> Prostorové řešení laboratoří.....	11
<b>3.4</b> Laboratorní	

prostory	11
.....	.....
<b>3.5</b> Uspořádání a zařízení	
prostor.....	12
<b>3.6</b> Čištění a dezinfekce	
.....	13
<b>4</b>	
Pracovníci	
.....	.....
.....	14
<b>4.1</b>	
Všeobecně	
.....	.....
.....	14
<b>4.2</b> Odborná způsobilost	
.....	14
<b>4.3</b> Ověřování trvalé odborné způsobilosti pracovníků.....	14
<b>4.4</b>	
Hygiena	
.....	.....
.....	14
<b>5</b> Přístroje a zařízení	
.....	14
<b>6</b> Příprava laboratorního skla a ostatních laboratorních materiálů.....	32
<b>6.1</b>	
Příprava	
.....	.....
.....	32
<b>6.2</b>	
Sterilizace/dekontaminace	
.....	32
<b>6.3</b> Pomůcky a materiály na jedno použití.....	32
<b>6.4</b> Uchovávání čistého laboratorního skla a čistých materiálů.....	32

<b>6.5</b>	Management sterilního laboratorního skla a sterilních materiálů.....	33
<b>6.6</b>	Použití dekontaminace a dezinfekce.....	33
<b>6.7</b>	Management odpadů .....	33
<b>6.8</b>	Mytí ..... .....	34
<b>7</b>	Příprava a sterilizace kultivačních půd.....	34
<b>8</b>	Laboratorní vzorky .....	34
<b>8.1</b>	Vzorkování .....	34
<b>8.2</b>	Přepřava .....	34
<b>8.3</b>	Příjem .....	35
<b>8.4</b>	Uchovávání .....	35
<b>8.5</b>	Zkušební vzorek .....	35
<b>9</b>	Zkoušení .....	36

<b>9.1</b>	Hygienická opatření v průběhu zkoušení.....	36
<b>9.2</b>	Příprava výchozí suspenze a ředění.....	37
<b>10</b>	Stanovení počtu mikroorganismů.....	37
<b>10.1</b>	Všeobecně .....	37
<b>10.2</b>	Stanovení počtu mikroorganismů za použití tuhých půd.....	37
<b>10.3</b>	Výpočet a vyjádření výsledků získaných za použití tuhých půd.....	40
<b>10.4</b>	Stanovení počtu kvasinek a plísní.....	45

Strana 8

Strana

<b>10.5</b>	Stanovení počtu mikroorganismů za použití tekuté půdy.....	45
<b>11</b>	Metoda průkazu (kvalitativní metoda).....	50
<b>11.1</b>	Všeobecně .....	50
<b>11.2</b>	Princip .....	50
<b>11.3</b>	Nejistota měření .....	51
<b>12</b>	Metody konfirmace .....	51



<b>12.1</b> Všeobecně .....	51
<b>12.2</b> Příprava čisté kultury .....	51
<b>12.3</b> Barvení podle Grama (Huckerova modifikace).....	51
<b>12.4</b> Používání sad miniaturizovaných biochemických testů k identifikaci.....	52
<b>12.5</b> Používání genových sond k identifikaci.....	53
<b>12.6</b> Sérologické metody .....	53
<b>13</b> Protokol o zkoušce .....	53
<b>14</b> Validace mikrobiologických metod.....	54
<b>14.1</b> Validace referenčních metod.....	54
<b>14.2</b> Validace alternativních metod.....	54
<b>14.3</b> Validace vlastních interních metod.....	54
<b>15</b> Zajiš»ování kvality výsledků/řízení kvality výkonnosti.....	54
<b>15.1</b> Interní řízení kvality .....	54
<b>15.2</b> Referenční kultury .....	54
<b>15.3</b> Externí hodnocení kvality (zkoušení odborné způsobilosti).....	54

<b>Příloha A</b> (informativní) Vlastnosti některých dezinfekčních prostředků.....	55
<b>Příloha B</b> (normativní) Stanovení nejvýše pravděpodobného počtu (MPN).....	56
Bibliografie ..... .....	63
<b>Národní příloha NA</b> (informativní) .....	65

Strana 9

---

## Úvod

Při provádění mikrobiologického zkoušení je zvlášť důležité, aby:

- pouze ty mikroorganismy, které jsou ve vzorcích přítomny, byly izolovány nebo byl stanoven jejich počet, a
- mikroorganismy nekontaminovaly prostředí.

Aby toho bylo dosaženo, je nezbytné věnovat pozornost osobní hygieně a užívat pracovní techniky, které v maximální možné míře zajišťují vyloučení vnější kontaminace.

Vzhledem k tomu, že v této mezinárodní normě lze uvést pouze nemnoho příkladů opatření, která je třeba realizovat v průběhu mikrobiologického zkoušení, je důkladná znalost mikrobiologických technik a mikroorganismů, které jsou objektem zkoušení, naprosto nezbytná. Je důležité, aby se zkoušení provádělo co nejpřesněji, včetně monitorování a zaznamenávání okolností, které mohou ovlivnit výsledky a výpočet počtu mikroorganismů a nejistotu výsledků.

Rozhodnout o tom, zda jsou určité manipulace bezpečné a mohou být považovány za správnou laboratorní praxi, přísluší s konečnou odpovědností vedoucímu laboratoře.

Mnohé manipulace mohou například bezděčně vést ke zkřížené kontaminaci a analytik má vždy ověřovat přesnost výsledků získaných technikou, kterou použil.

Aby bylo možno provádět zkoušení správně, je nezbytné přijmout určitá opatření pro prostorové řešení a vybavení laboratoře.

Určitá opatření musí být dodržována nejen z hygienických důvodů, ale rovněž pro zajištění dobré reprodukovatelnosti výsledků. Nelze specifikovat všechna opatření, která je třeba dodržet za všech okolností, nicméně tato mezinárodní norma uvádí alespoň hlavní opatření, která je třeba dodržet v průběhu přípravy, sterilizace a uchovávání živných půd a při používání přístrojů a zařízení.

Doporučení uvedená v této mezinárodní normě rovněž přispějí k ochraně zdraví a bezpečnosti pracovníků. Doplnující informace k tomuto tématu je třeba vyhledat v literatuře uvedené v bibliografii.

S cílem doporučení odlišit, jsou v této mezinárodní normě vytištěna jiným typem písma (Times New Roman).

Strana 10

---

## 1 Předmět normy

Tato mezinárodní norma specifikuje všeobecné požadavky a doporučení/možnosti určené pro tři hlavní účely použití:

- uplatňování norem ISO/TC 34/SC 9 a ISO/TC 34/SC 5 pro průkaz a stanovení počtu mikroorganismů, které jsou níže označeny jako „specifické normy“;
- správnou laboratorní praxi pro laboratoře mikrobiologie potravin (účelem není uvádět je v této mezinárodní normě detailně, k tomu účelu jsou k dispozici příručky);
- návod pro akreditaci laboratoří mikrobiologie potravin (tato mezinárodní norma popisuje technické požadavky v souladu s Přílohou B normy ISO/IEC 17025:2005 pro akreditaci mikrobiologických laboratoří národními organizacemi).

Požadavky této mezinárodní normy nahrazují příslušné požadavky existujících specifických norem.

Doplňující instrukce pro zkoušení v oblasti molekulární biologie jsou specifikovány v ISO 22174.

Tato mezinárodní norma se vztahuje na zkoušení zaměřené na bakterie, kvasinky a plísňe a může být při doplnění o specifický návod použita také pro priony, parazity a viry. Nevztahuje se na zkoušení toxinů nebo jiných metabolitů (např. aminů) produkovaných mikroorganismy.

Tato mezinárodní norma platí pro mikrobiologii potravin, krmiv, prostředí potravinářských výroben a prostředí prvovýroby.

Účelem této mezinárodní normy je napomoci zajištění validity mikrobiologického zkoušení potravin, přispět k zajištění toho, aby obecně užívané techniky k provádění tohoto zkoušení byly stejné ve všech laboratořích, napomoci dosahovat v různých laboratořích homogenní výsledky a přispět k bezpečnosti laboratorních pracovníků předcházením riziku infekce.

---

**-- Vynechaný text --**