ISIRI
6806-1
1st.edition

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
Institute of Standards and Industrial Research of Iran

استانداردملی ایران
۶۸۰۶-۱
چاپ اول

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه‌ها) – روش آزمون
قسمت اول : روش استفاده از محیط کشت برد – پارکر آگار

Microbiology of food and animal feeding stuffs – Enumeration of coagulase – Positive staphylococci (staphylococcus aureus and other species) – Test method
Part 1 :
Technique using baird – parker agar medium

نشانی مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران : کرج ـ شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵

دفتر مرکزی : تهران ـ ضلع جنوبی میدان ونک – صندوق پستی : ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵

تلفن مؤسسه در کرج: ۸-۲۸۰۶۰۳۱-۰۲۶۱

تلفن مؤسسه در تهران: ۵-۸۸۷۹۴۶۱-۰۲۱

دورنگار: کرج ۲۸۰۸۱۱۴-۰۲۶۱ ـ تهران ۸۸۸۷۱۰۳-۸۸۸۷۰۸۰ -۰۲۱

بخش فروش ـ تلفن: ۲۸۰۷۰۴۵-۰۲۶۱ دورنگار: ۲۸۰۷۰۴۵-۰۲۶۱

پیام نگار: *Standard @ isiri.or.ir*

بهاء: ۳۶۲۵ریال

Headquarters :Institute Of Standards And Industrial Research Of IRAN

P.O.Box: 31585-163 Karaj – IRAN

Tel.(Karaj): 0098 (261) 2806031-8

Fax.(Karaj): 0098 (261) 2808114

Central Office : Southern corner of Vanak square , Tehran

P.O.Box: 14155-6139 Tehran - IRAN

Tel.(Tehran): 0098(21)8879461-5

Fax.(Tehran): 0098 (21) 8887080,8887103

Email: Standard @ isiri.or.ir

Price: 3625”RLS

« بسمه تعالی»

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب قانون، تنها مرجع رسمی کشور است که عهده دار وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) میباشد.

تدوین استاندارد در رشته های مختلف توسط کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه، صاحبنظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی واقتصادی آگاه ومرتبط با موضوع صورت میگیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی وبا توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل: تولیدکنندگان ،مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمانهای دولتی باشد.پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع واعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات وپیشنهادها در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح ودر صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که توسط مؤسسات و سازمانهای علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می شود نیز پس از طرح و بـررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ ومنتشرمی گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره ((۵)) تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط مؤسسه تشکیل میگردد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد میباشد که در تدوین استانداردهای ملی ضمن تـوجه به شرایط کلی ونیازمندیهای خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهـای بین المـللی استفـاده می نماید.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون به منظور حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی وعمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردها را با تصویب شورای عالی استاندارد اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آنرا اجباری نماید.

همچنین بمنظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندکان سیستم های مدیریت کیفیت ومدیریت زیست محیطی، آزمایشگاهها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد اینگونه سازمانها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می نماید. ترویج سیستم بین المللی یکاها ، کالیبراسیون وسایل سنجش تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظایف این مؤسسه می باشد.

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه‌ها) – روش آزمون

قسمت اول : روش استفاده از محیط کشت برد – پارکر آگار

تجدیدنظر

رئیس	**نمایندگی**
رحیمی فرد، ناهید (*PhD* میکروبشناسی – دکترای علوم آزمایشگاهی)	وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی- اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذاو داور
اعضاء	
ابراهیمی امام، غلامحسین (لیسانس صنایع غذایی)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
زوار، مریم (لیسانس تغذیه)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو
جلالی، مریم (لیسانس میکروبیولوژی)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو
حاجی سید جوادی، نسرین (دکترای علوم آزمایشگاهی)	انستیتوتحقیقات تغذیه وصنایع غذایی کشور
عبیری، زهرا (فوق لیسانس تغذیه)	اداره کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران
عقیلی، زهرا (لیسانس بیولوژی)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل آزمایشگاههای کنترل غذا و دارو

فروهش تهرانی، هما (فوق لیسانس، پاتوبیولوژی)	دانشگاه علوم پزشکی ایران- مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی
فیاضی، اکرم السادات (لیسانس تغذیه)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
محسنی، بدری (دکترای دامپزشکی)	مرکز تشخیص دارو و مواد بیولوژیک سازمان دامپزشکی ایران
دبیر مهرپور، رامش (لیسانس صنایع)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

فهرست اعضاء شرکت کننده در هفتاد و ششمین اجلاسیه کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۱۳۸۴/۶/۲۸

رئیس	نمایندگی
ابوعلی ، رحیم (فوق لیسانس صنایع غذایی)	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
اعضاء	
بابایی، پریسا (فوق لیسانس میکروبیولوژی)	صنایع شیر ایران
جلالی ، مریم (لیسانس میکروبیولوژی)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی – اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا ودارو
حاجی سید جوادی ، نسرین (دکترای علوم آزمایشگاهی)	انستیتو تحقیقات تغذیه وصنایع غذایی کشور
رحیمی فرد ، ناهید (PhDمیکروبیولوژی–دکترای علوم آزمایشگاهی)	وزارت بهداشت ، درمان وآموزش پزشکی – اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا ودارو
زوار ، مریم (لیسانس تغذیه)	وزارت بهداشت ، درمان وآموزش پزشکی – اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا ودارو
سها ، ساحل (فوق لیسانس)	اداره کل استاندارد وتحقیقات صنعتی استان مرکزی
شریعتی ، منیژه (لیسانس)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

صید ، سیده مریم (دیپلم تجربی)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
عقیلی ، زهرا (لیسانس بیولوژی)	وزارت بهداشت ، درمان وآموزش پزشکی – اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا ودارو
فروهش تهرانی ، هما (فوق لیسانس پاتوبیولوژی)	دانشگاه علوم پزشکی ایران – مرکز تحقیقات علوم آزمایشگاهی
فیاضی ، اکرم سادات (لیسانس تغذیه)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
مرتضویان ، امیر (دکترا)	دانشگاه تهران ـ دانشکده مهندسی بیوسیستم
مهرپور ، رامش (لیسانس صنایع)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران
مولوی ، فاطمه (فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)	کارشناس موسسه استاندارد
نوروزی ،سعید (دکترای دامپزشکی)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

<u>دبیر</u>

پیراوی ونک، زهرا (فوق لیسانس صنایع غذایی)	مؤسسه استاندارد وتحقیقات صنعتی ایران

فهرست مندرجات

صفحه

پیشگفتار	ب
۱- هدف و دامنه کاربرد	۱
۲- مراجع الزامی	۱
۳- اصطلاحات و تعاریف	۲
۴- اساس آزمایش	۳
۵- نمونه برداری	۳
۶- مواد لازم	٤
۷- وسایل لازم	۸
۸- آماده کردن آزمایه	۹
۹- روش اجرای آزمون	۹
۱۰- بیان نتایج	۱۲
۱۱- دقت	۱۵
۱۲- گزارش آزمون	۱٦

پیش‌گفتار

استاندارد « میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – شمارش استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه ها – روش آزمون – قسمت اول : روش استفاده از محیط کشت برد – پارکر آگار» که توسط کمیسیون های مربوط تهیه و تدوین شده و در هفتاد و ششمین اجلاسیه کمیته ملی میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ۱۳۸٤/٦/۲۸ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استاندارد ارائه شود در تجدیدنظر بعدی مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ملی ایران باید همواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تجدیدنظر این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه، در حد امکان بین این استاندارد و استانداردهای بین‌المللی و استاندارد ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود.

این استاندارد جایگزین استاندارد شماره ۱۱۹٤ : سال ۱۳٦۹– روش شناسایی و شمارش استافیلوکوکوس اورئوس کواگولاز مثبت در مواد غذایی شده و استاندارد قبلی باطل اعلام می شود .

منابع و مآخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است :

1-ISO 6888-1 :1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of coagulase – positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)-
Part 1 : Technique using Baird- Parker agar medium

2- ISO 6888-1 : 2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of coagulase- positive Staphylococci(Staphylococcus aureus and other species)-
Part 1 :Technique using Baird-Parker agar medium
AMENDMENT 1: Inclusion of precision data

3- ISO 6888 - 3 :2003 , Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) - Part 3: Detection and MPN technique for low numbers

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه‌ها) – روش آزمون قسمت اول : روش استفاده از محیط کشت برد – پارکر آگار

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد تعیین‌روش شمارش کلنی های استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس وسایر گونه ها) موجود در مواد غذایی مورد مصرف انسان و خوراک دام با استفاده از محیط کشت جامد برد – پارکر[1] میباشد .

یادآوری ۱ _ برای جستجوی استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه ها)در مواد غذایی به استاندارد ملی ایران.... [2]مراجعه کنید .

یادآوری ۲ _ برای مواد غذایی فرآیند شده ای که در آنها احتمال حضور استافیلوکوکوسهای آسیب دیده و ضعیف شده وجود داشته باشد و یا تعداد آنها کم باشد می توان از روش *MPN* که در استاندارد ملی ایران۶ ۶۸۰ : سال۱۳۸۲ شرح داده شده است، استفاده نمود.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آنها ارجاع داده شده است . بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می شود . در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر، اصلاحیه ها و تجدیدنظر بعدی این مدارک مورد نظر نیست. معهذا بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد ، امکان کاربرد آخرین اصلاحیه ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند .

1-Baird-Parker agar medium

۲– تا تهیه وتدوین استانداردملی ایران به استاندارد بین المللی *ISO 6888 - 3 :2003* مراجعه نمایید .

در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر، آخرین چاپ و/یا تجدیدنظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده مورد نظر است .

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است .

۲-۱ استاندارد ملی ایران۳۵۶ : سال ۱۳۸۰ تجدید نظر دوم ـ میکروبیولوژی ـ تهیه سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمایشهای میکروبیولوژی

۲-۲ استانداردملی ایران ۲۳۲۵ : سال ۱۳۸۰ تجدید نظر اول ـ میکروبیولوژی ـ آئین کاربرد روشهای عمومی آزمایشهای میکروبیولوژی

۲-۳ استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷ : سال ۱۳۸۰ تجدید نظر اول ـ میکروبیولوژی ـ آئین کار در آزمایشگاههای میکروبیولوژی

۲-۴ استاندارد ملی ایران ٦٨٠٦ : سال ۱۳۸۲ – میکروبیولوژی مواد غذایی وخوراک دام – شمارش و شناسایی استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه ها) – روش آزمون ـ قسمت سوم : شمارش و شناسایی با استفاده از بیشترین تعداد احتمالی

2-5 *AMD 1 ISO 6888-1 : 2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase – positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and other species)-*
Part 1:Techenique using Baird – parker agar medium
AMENDMENT 1:Inclusion of precision data

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و/ یا واژه ها با تعاریف زیر بکار می رود :

۳-۱ استافیلوکوکوس های کواگولاز مثبت

باکتری است که در محیط کشت انتخابی کلنی های مشخص[1] و/ یا نامشخص[2] تشکیل داده و تحت شرایط توصیف شده دراین استاندارد ، واکنش کواگولاز مثبت از خود نشان دهد .

یادآوری ۱ _ اغلب استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت، مربوط به گونه ارئوس[1]هستند اما بعضی ازگونه‌ها مثل استافیلوکوکوس اینترمدیوس[2] و استافیلوکوکوس هایکوس[3] نیزکواگولاز مثبت می باشند.

یادآوری ۲ _ در این استاندارد استافیلوکوکوسهایی که واکنش کواگولازمثبت قوی دارند بررسی می شوند ، اما بعضی از گونه های استافیلوکوکوس واکنش کواگولاز مثبت ضعیف می دهند این گونه ها ممکن است با دیگر باکتریها اشتباه شوند که با استفاده از آزمونهای تکمیلی بعنوان مثال تولید ترمونوکلئاز ـ آزمایش تخمیر مانیتول ـ ایجاد همولیز و حساسیت به لیزواستافین[4] از دیگر باکتریها تشخیص داده می شوند .

۳-۲ شمارش استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت

منظور تعیین تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت موجود در هر میلی لیتر یا در هر گرم از نمونه است که طبق روش شرح داده شده در این استاندارد مورد آزمایش قرار می گیرد.

۴ اساس آزمایش

۴-۱ کشت مقدار مشخصی از آزمایه[7] (در صورت مایع بودن) و یا سوسپانسیون اولیه (در صورت جامد بودن) و رقت های تهیه شده از آنها ، در سطح محیط کشت جامد انتخابی (ترجیحاً برای هر رقت دو پلیت استفاده می شود.)

1- Typical colonies
2- Atypical colonies
3 - aureus
4- Intermedius
5- Hyicus
6-Lysostaphin
7- Test sample

۴-۲ گرمخانه گذاری هوازی پلیت ها ، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲۴ و ۴۸ ساعت .

۴-۳ محاسبه تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت در هر میلی لیتر یا در هر گرم از نمونه، به طریق شمارش پرگنه های مشخص و/ یا نا مشخص موجود در پلیت های دارای رقت انتخابی که نتیجه معنی داری داده و بوسیله آزمایش کواگولاز تأیید شده باشند .

۵ نمونه برداری

نمونه هایی که به آزمایشگاه تحویل داده می شود باید نماینده واقعی کل نمونه بوده و در طی حمل، جابه جایی و نگهداری صدمه ندیده و یا تغییری در آن ایجاد نشده باشد .

برای اطلاع ازشرایط نمونه برداری به استاندارد ملی ایران ۲۳۲۵ : سال ۱۳۸۰ مراجعه کنید.

۶ مواد لازم

جهت آگاهی بیشتر در رابطه با آئین کار در آزمایشگاههای میکروبیولوژی به استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷ : سال ۱۳۸۰ مراجعه کنید .

یادآوری _ در صورت استفاده از محیط کشت تجاری ، طبق دستور سازنده عمل نمایید.

۶-۱ رقیق کننده

برای تهیه رقیق کننده به استاندارد ملی ایران شماره ۳۵۶ : سال ۱۳۸۰ مراجعه کنید.

۶-۲ محیط های کشت

۶-۲-۱ محیط کشت برد ـ پارکر آگار[1]

۶-۲-۱-۱ محیط کشت پایه

مواد تشکیل دهنده	مقدار
کازئین هضم شده پانکراتیک[2]	۱۰ گرم

1 - Baird- parker agar medium
2 -Pancreatic digest of casein

عصاره مخمر[۳]	۱ گرم
عصاره گوشت[۴]	۵ گرم
پیرووات سدیم[۵]	۱۰ گرم
ال ـ گلیسین [۶]	۱۲ گرم
کلرید لیتیم [۷]	۵ گرم
آگار	۲۲-۱۲ گرم[۸]
آب مقطر	به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر برسانید

روش تهیه

مواد فوق یا محیط کشت تجاری را با آب مقطر به حجم رسانده و حرارت دهید تا شفاف شود. سپس به حجم های ۱۰۰ میلی لیتری در ارلن های مناسب تقسیم کنید و در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت زمان ۱۵ دقیقه سترون نمایید .

pH را طوری تنظیم نمایید که پس از سترون کردن، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۰/۲ ± ۷/۲ باشد.

۶-۲-۱-۲ محلول ها

۶-۲-۱-۲-۱ محلول تلوریت پتاسیم

مواد تشکیل دهنده	**مقدار**
تلوریت پتاسیم[۱]	۱ گرم
آب مقطر	۱۰۰ میلی لیتر

1- Yeast extract
2-Meat extract
3-Sodium pyruvate
4-L – Glycine
5-Lithium chloride

٦-مقدارآگار بستگی به قدرت بستن آن دارد .

7 –Potassium tellurite (K_2TeO_3)

روش تهیه

تلوریت پتاسیم رادر آب مقطر به کمک حرارت ملایم کاملاًحل کنید . محلول را با استفاده از صافی باکتریولوژیک که قطر منافذ آن ۰/۲۲ میکرومتر می باشد سترون نمایید . محلول تهیه شده حداکثر برای مدت زمان یک ماه در دمای ۲± ۳ درجه سلسیوس قابل نگهداری می باشد . در صورت مشاهده رسوب، آنرا دور بریزید .

یادآوری _ با توجه به اینکه پودرتلوریت پتاسیم رطوبت را سریع جذب می کند ، بنابراین بعد از مصرف در آن را محکم ببندید وآنرا در جای خشک و خنک نگهداری کنید .

۶-۲-۱-۲-۲ امولسیون زرده تخم مرغ (با غلظت تقریبی ۲۰ درصد یا مطابق با دستور سازنده)

تخم مرغ تازه و سالم را با استفاده از موادپاک کننده شستشو داده ، آبکشی نمائید . سپس آنرا در الکل اتیلیک (اتانل) ۷۰ درصد حجمی به مدت زمان۳۰ ثانیه قرار دهید و خارج نمایید . با رعایت شرایط سترون از قسمت انتها (طرفی که قسمت اطاقک هوایی وجود دارد) با پنس سترون به قطر تقریبی دو سانتی متر سوراخ نموده ، پس از کنار زدن غشاء لیفی تا حد امکان سفیده را خارج کنید ، سپس سوراخ ایجاد شده را کمی بزرگتر کرده با استفاده از یک پی پت سترون نوک گرد ۲ یا ۵ میلی لیتری سفیده باقیمانده در اطراف زرده را خارج نمایید . سپس زرده را داخل یک استوانه مدرج سترون ریخته و چهار برابر حجم آن آب مقطر سترون اضافه نموده وکاملاً هم بزنید . این مخلوط را در حمام آب گرم با دمای ۴۷ درجه سلسیوس به مدت دو ساعت قرار دهید و بگذارید به مدت زمان ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای
۲ ±۳ درجه سلسیوس بماند تا رسوب تشکیل شود . در شرایط سترون، لایه رویی امولسیون تشکیل شده را جهت اضافه کردن به محیط کشت ، جمع آوری نمایید . این امولسیون را حداکثر برای مدت زمان ۷۲ ساعت می توان، در دمای ۲± ۳ درجه سلسیوس نگهداری و مصرف نمود.

یادآوری _ در صورتیکه امولسیون تجاری دردسترس بود می توانیدآنرا مطابق دستور سازنده مورد استفاده قرار دهید .

۶-۲-۱-۲-۳ محلول سولفامزاتین[1] (سولفامتازین[2] ، سولفادیمیدین[3])

مواد تشکیل دهنده	مقدار
سولفامزاتین	۰/۲ گرم
محلول هیدروکسیدسدیم($NaOH$) : ۰/۱ مول درلیتر	۱۰ میلی لیتر
آب مقطر	۹۰ میلی لیتر

روش تهیه

سولفامزاتین رادر محلول هیدروکسید سدیم حل نموده با آب مقطر حجم نهایی را به ۱۰۰ میلی لیتر برسانید .

محلول را با استفاده از صافی باکتریولوژیک که قطر منافذ آن ۰/۲۲ میکرومتر سترون نمایید .

محلول تهیه شده حداکثر برای یک ماه در دمای ۲± ۳ درجه سلسیوس قابل نگهداری می باشد .

یادآوری - این محلول درمواردی که احتمال حضور پروتئوس در آزمایه وجود دارد برای جلوگیری از رشد این میکرو ارگانیسم استفاده می شود .

۶-۲-۱-۳ محیط کشت کامل

مواد تشکیل دهنده	مقدار
محیط کشت پایه (طبق بند ۶-۲-۱-۱)	۱۰۰ میلی لیتر
محلول تلوریت پتاسیم (طبق بند ۶-۲-۱-۲-۱)	۱ میلی لیتر
امولسیون زرده تخم مرغ (طبق بند۶-۲-۱-۲-۲)	۵ میلی لیتر
محلول سولفامزاتین در صورت لزوم (طبق بند ۶-۲-۱-۲-۳)	۲/۵ میلی لیتر

روش تهیه

محیط کشت پایه را ذوب نموده سپس با استفاده از حمام آب گرم به دمای ۴۷ درجه

---

1 -Sulfamezathine
2 -Sulfamethazine
3 –Sulfadimidine

سلسیوس برسانید . آنگاه دو محلول دیگر(طبق بندهای ۶-۲-۱-۲-۱ و ۶-۲-۱-۲- ۲) ودرصورت لزوم محلول (طبق بند۶-۲-۱-۲-۳) را که قبلاً جهت هم دما شدن با محیط کشت پایه در حمام آب گرم قرار داده اید تحت شرایط سترون به محیط کشت پایه اضافه نمایید . پس از هربار افزودن، مخلوط را کاملاً هم بزنید .

۶-۲-۱-۴ آماده کردن پلیت ها

مقدار مناسبی از محیط کشت کامل (طبق بند ۶-۲-۱-۳) را به درون پلیت های سترون ریخته به گونه ای که ضخامت محیط کشت حدود ۴ میلی متر باشد و بگذارید تا محیط ببندد. پلیت ها را می توان به مدت زمان ۲۴ ساعت در دمای۲ ± ۳ درجه سلسیوس نگهداری نمود . قبل از استفاده از پلیت ها بهتر است در پوش پلیت ها را بردارید و در گرمخانه با درجه حرارت بین ۲۵ تا ۵۰ درجه سلسیوس بصورت وارونه قرار دهید تا قطرات آب از سطح آگار حذف شود .

یادآوری ـ درصورت استفاده از پلیت های آماده حاوی محیط کشت ، مدت زمان نگهداری باید مطابق دستور کارخانه سازنده باشد .

۶-۲-۲ آبگوشت عصاره مغز و قلب[1]

مواد تشکیل دهنده	مقدار
بافتهای حیوانی هضم شده آنزیمی[2]	۱۰ گرم
عصاره بدون آب مغز گوساله[3]	۱۲/۵ گرم
عصاره بدون آب قلب گوساله[4]	۵ گرم
گلوکز[5]	۲ گرم
کلریدسدیم	۵ گرم

1 –Brain –heart infusion broth
2 –Enzymatic digest of animal tissues
3 – Dehydrated calf brain infusion
4 – Dehydrated beef heart infusion
5 – Glucose

دی سدیم هیدروژن فسفات بدون آب[1]	۲/۵ گرم
آب مقطر	۱۰۰۰ میلی لیتر

روش تهیه

مواد فوق یا محیط کشت تجاری را در آب مقطر و در صورت لزوم با حرارت دادن حل نمایید.pH را طوری تنظیم نمایید که پس از سترون کردن در دمای ۲۵ درجه سلسیوس ۰/۲ ± ۷/۴ باشد.

محیط کشت را درحجمهای ۵ تا ۱۰ میلی لیتری به لوله یا ظروف مناسب منتقل نمایید و به مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس در اتوکلاوسترون نمایید .

۶-۲-۳ پلاسمای خرگوش

از پلاسمای خرگوش که بصورت تجاری در دسترس می باشد استفاده نمایید و طبق دستور سازنده عمل نمایید . در صورتیکه پلاسمای تجاری در دسترس نباشد پلاسمای تازه خرگوش که در شرایط سترون تهیه شده است رابه نسبت یک به ۳ با آب مقطر سترون رقیق نمایید. (یک حجم پلاسما و ۳ حجم آب مقطر سترون). برای تهیه پلاسما از محلول $EDTA$[2] یک در صد استفاده کنید . از ضد انعقادهای اکسالات یا هپارین نیز میتوان استفاده نمود. در این آزمایش سیترات پتاسیم یا سیترات سدیم را بعنوان ضد انعقاد نباید بکار برد .

در صورت استفاده از پلاسمای آماده باید آن را بلافاصله پس از رقیق کردن استفاده نمود . پیش از انجام آزمایش ، پلاسما را با سویه های استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت و همچنین کواگولاز منفی آزمایش کنید .

۷ وسایل لازم

وسایل معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی مطابق با استاندارد ملی ایران ۲۷۴۷ : سال ۱۳۸۰ و به ویژه وسایل مشروحه زیر :

۷-۱ تجهیزات سترون سازی خشک (آون) و مرطوب (اتوکلاو)

---

1 –Disodium hydrogen phosphate , anhydrous
2 – Ethylen diamine tetra acetic acid

۷-۲ گرمخانه، قابل تنظیم در دمای ۱ ±۳۷ درجه سلسیوس

۷-۳ گرمخانه ، قابل تنظیم در دمای بین ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس و ۱ ± ۵۰ درجه سلسیوس

۷-۴ حمام آب گرم ، قابل تنظیم در دمای ۲ ± ۴۷ درجه سلسیوس

۷-۵ لوله آزمایش با اندازه ۷۵ ×۱۰ میلی متر، ارلن یا بطری ترجیحاً در پیچ دار ، با ظرفیت مناسب برای سترون کردن و نگهداری محیط های کشت

۷-۶ پلیت های شیشه ای یا پلاستیکی سترون یکبار مصرف

۷-۷ حلقه[1] و سوزن کشت از جنس پلاتین ـ ایریدیوم ، نیکل ـ کروم یا پلاستیکی (یکبار مصرف سترون) با قطر تقریبی ۳ میلی متر یا حلقه کشت استریل یکبار مصرف ۱۰ میکرولیتری و یا پیپت پاستور

۷-۸ پی پت های مدرج ۱ ، ۲ و ۱۰ میلی لیتری که به ترتیب با تقسیمات ۰/۱ و۰/۱ و ۰/۵ میلی لیتری درجه بندی شده باشد .

۷-۹ میله پخش کننده سترون شیشه ای یا پلاستیکی یکبار مصرف

۷-۱۰ pH متر با دقت ۰/۱ ± واحد pH

کمترین آستانه اندازه گیری باید ۰/۰۱ واحد pH در دمای ۲۵ درجه سلسیوس باشد .

۸ آماده کردن آزمایه

جهت آماده سازی آزمایه به استاندارد ملی ایران ۳۵۶ : سال ۱۳۸۰ مراجعه نمایید . درصورت موجود بودن استاندارد خاص هرفرآورده ، مطابق با آن استاندارد عمل نمایید.

۹ روش اجرای آزمون

۹-۱ تهیه آزمونه ، سوسپانسیون اولیه و رقت ها

جهت تهیه آزمونه ، سوسپانسیون اولیه و رقت های بعدی به استاندارد ملی ایران ۳۵۶ : سال ۱۳۸۰ مراجعه نمایید .

۹-۲ تلقیح

۹-۲-۱ با استفاده از پی پت سترون ، یکدهم میلی لیتر از آزمایه (در مورد محصولات مایع) یا

1-Loop

یکدهم میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه (رقت $۱۰^{-۱}$)(در مورد سایر محصولات) را به پلیت حاوی محیط کشت (طبق بند ۶-۲-۱-۴) منتقل کنید .

در صورت نیاز ، این عمل را برای رقت $۱۰^{-۲}$ و رقت های بعدی تکرار کنید. در هر مورد بصورت دوتایی[1] کار شود.

۹-۲-۲ در مورد فرآورده هایی که احتمال وجود استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت در آنها کم می باشد ، حدود شمارش را با ضریب ۱۰ افزایش دهید . به این ترتیب که یک میلی لیتر از آزمایه (در مورد محصولات مایع) یا یک میلی لیتر ازسوسپانسیون اولیه (در مورد سایر محصولات) را بر روی سطح یک پلیت بزرگ (۱۴۰ میلی متر) یا سه پلیت کوچک (۹۰ میلی متر) حاوی محیط کشت (طبق بند ۶-۲-۱-۴) منتقل کنید .

در هر دوحالت بصورت دو تایی کار شود یعنی از دو پلیت بزرگ یا ۶ پلیت کوچک استفاده کنید.

۹-۲-۳ با دقت و تا حدامکان به سرعت ، نمونه را به کمک میله شیشه ای در سطح محیط کشت پخش نمایید . از تماس نمونه با جدار پلیت خودداری کنید . پلیت ها را به مدت زمان ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه قرار دهید تا مایع کشت داده شده جذب محیط کشت شود .

۹-۳ گرمخانه گذاری

پلیت های بند ۹-۲-۳ را بصورت وارونه به مدت زمان ۲ ± ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری کنید . این کار را برای مدت زمان ۲ ± ۲۴ ساعت دیگر ادامه دهید .

۹-۴ انتخاب پلیت ها و تفسیر

۹-۴-۱ بعد از گرمخانه گذاری به مدت زمان ۲ ± ۲۴ ساعت ، کلنی های مشخص موجود را با علامت گذاری در پشت پلیتها مشخص نمایید. (به یادآوری شماره یک مراجعه کنید.)

پس از گذشت مدت زمان ۲ ± ۲۴ ساعت دیگر کلنی های مشخص و همچنین نامشخص تازه رشد کرده را علامت گذاری کنید (به یادآوری شماره دو مراجعه کنید .)

برای شمارش ، پلیت هایی از دو رقت متوالی را انتخاب کنید که دارای حداکثر ۳۰۰ کلنی که

---

1 -Duplicate

۱۵۰ کلنی آن مشخص و/یا نامشخص باشد . یکی از پلیت های انتخاب شده باید حداقل دارای ۱۵ کلنی باشد . برای انجام آزمایش تأییدی (طبق بند ۹-۵) تعداد A کلنی (معمولاً ۵ کلنی در صورتیکه همه کلنی ها مشخص باشد . و یا ۵ کلنی نامشخص در صورتیکه همه کلنی از نوع نامشخص باشد ویا ۵ کلنی مشخص و ۵ کلنی نامشخص در صورتیکه از هر دو نوع کلنی موجود باشد) از هر پلیت بردارید .

در صورتیکه تعداد کلنی های مشخص / و یا نامشخص کمتر از ۱۵ عدد در پلیت های کشت داده شده بدون تهیه رقت (در مورد محصولات مایع) یا پایین ترین رقت (در مورد سایر محصولات) باشد ، باید شمارش طبق بندهای ۹-۴-۳ و ۱۰-۲ صورت گیرد .

یادآوری ۱ ـ کلنی های مشخص بصورت کلنی های سیاه یا خاکستری براق و محدب (با قطر۱ تا ۱/۵ میلی متر بعد از مدت زمان ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری و قطر ۱/۵ تا ۲/۵ میلی متر پس از مدت زمان ٤۸ ساعت گرمخانه گذاری) با هاله شفاف که ممکن است بصورت جزیی تیره شده باشد دیده می شوند .

بعد از حداقل مدت زمان ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در داخل هاله روشن ممکن است یک حلقه رسوبی چسبیده به کلنی ایجاد شود.

یادآوری ۲ ـ کلنی های نامشخص که همان اندازه کلنی های مشخص را دارند ممکن است به یکی از اشکال زیر ظاهر گردند :

- کلنی های سیاه براق ، با ،یا بدون حاشیه باریک سفیدرنگ ، که در آن هاله شفاف و حلقه رسوبی کدر ممکن است وجود نداشته باشد و یا به سختی دیده شود

- کلنی های خاکستری بدون هاله شفاف

- کلنی های نامشخص ، معمولاً توسط سویه های استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت آلوده کننده مواد

غذایی نظیر فرآورده های لبنی ، میگو و دل و جگر مرغ تولید می شوند . این کلنی ها کمتر بوسیله سویه های جدا شده از محصولات دیگر تشکیل می گردند .

یادآوری ۳ ـ کلنی های دیگری ، که احتمالاً وجود دارند و در محدوده شرح نوشته شده دریادآوری های ۱ و ۲ جای نمی گیرند بعنوان فلور زمینه در نظر گرفته می شوند .

۹-۴-۲ درصورتیکه یک میلی لیتر آزمایه یاسوسپانسیون اولیه را در سطح سه پلیت پخش نموده اید (طبق بند ۹-۲-۲) در شمارش و آزمایشات تأییدی بعدی هر سه پلیت را یکی بحساب آورید .

۹-۴-۳ جهت شمارش تخمینی تعداد کم استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت ، همه پلیت‌هایی که دارای کلنی های مشخص و نامشخص هستند نگهداری شود . تمام این کلنی ها جهت انجام آزمایشات تأئیدی تحت شرایط بیان شده انتخاب گردد .

۹-۵ تأیید (آزمون کواگولاز)

با استفاده از یک حلقه کشت سترون از هر کلنی انتخاب شده (طبق بند ۹-۴) بر دارید و به یک لوله آزمایش (طبق بند ۷-۵) حاوی محیط کشت آبگوشت عصاره مغز و قلب (طبق بند ۶-۲-۲) منتقل کرده و سپس در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۲ ± ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری کنید .

در شرایط سترون ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون فوق را در لوله سترون به اندازه ۷۵ ×۱۰ میلی متر ریخته و ۰/۳ میلی لیتر پلاسمای خرگوش (طبق بند ۶-۲-۳)(غیر از مواردی که مقادیر خاصی توسط سازنده ذکر شده باشد) اضافه کرده و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت زمان ۴ تا ۶ ساعت گرمخانه گذاری کنید .

سپس تشکیل لخته پلاسما را بررسی کنید .اگر نتیجه منفی بود تا مدت زمان ۱۸ تا ۲٤ ساعت در دمای اتاق یا مدت زمانی که توسط تولید کننده پلاسما سفارش شده است نگهداری کنید . آزمایش کواگولاز در صورتی مثبت است که لخته تشکیل شده باشد.

بعنوان شاهد منفی برای هربسته پلاسما ، ۰/۱ میلی لیتر از آبگوشت عصاره سترون مغز و قلب (طبق بند ۶-۲-۲) به مقدار توصیه شده پلاسمای خرگوش (طبق بند ۶-۲-۳) افزوده و بدون افزودن سوسپانسیون ، گرمخانه گذاری کنید . در صورتی آزمایش معتبر است که نشانه ای از لخته در پلاسمای شاهد دیده نشود .

۱۰ بیان نتایج

۱۰- ۱ موارد کلی

۱۰-۱-۱ محاسبه تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولازمثبت شناسایی شده برای هر پلیت انتخاب شده

برای هر پلیت ، تعداد a از استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت شناسایی شده را با استفاده از فرمول شماره(۱) محاسبه کنید :

فرمول (۱)

$$a = \frac{b_c}{A_c} \times C_c + \frac{b_{nc}}{A_{nc}} \times C_{nc}$$

که در آن :

A_C تعداد کلنی های مشخص که برای آزمون کواگولاز برداشته شده است .(طبق بند۹-۵)

A_{nc} تعداد کلنی های نامشخص که برای آزمون کواگولاز برداشته شده است . (طبق بند۹-۵)

b_c تعداد کلنی های مشخص که کواگولاز مثبت می باشند .

b_{nc} تعداد کلنی های نامشخص که کواگولاز مثبت می باشند.

C_Cتعداد کل کلنی های مشخص شمارش شده بر روی پلیت (طبق بند۹-۴)

C_{nc} تعداد کل کلنی های نامشخص شمارش شده برروی پلیت (طبق بند۹-۴)

نتیجه را تا دو رقم معنی دار گرد کنید . (به استانداردملی ایران ۲۳۲۵ : سال ۱۳۸۰ مراجعه کنید)

۱۰-۱-۲ محاسبه استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت شناسایی شده موجود در آزمونه

پلیت های شامل حداکثر ۳۰۰ کلنی ، با ۱۵۰ کلنی مشخص /یا نامشخص را در دو رقت متوالی در نظر گرفته ، تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت برای هر پلیت را طبق بند ۱۰-۱-۱ محاسبه کنید . تعداد N از استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت موجود در آزمونه را بعنوان میانگین حسابی در دو رقت متوالی با استفاده از فرمول شماره (۲) محاسبه کنید :

فرمول (۲)

$$N = \frac{\sum a}{v\,(n_1 + 0.1\,n_2) \times d}$$

$?_a$ مجموع پرگنه های استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت شمارش شده در همه ی پلیت های انتخاب شده

V حجم تلقیح شده در هر پلیت به میلی لیتر

n_1 تعداد پلیت های انتخاب شده در اولین رقت

n_2 تعداد پلیت های انتخاب شده در دومین رقت

d ضریب رقت مربوط به اولین رقت انتخاب شده (سوسپانسیون اولیه نیز بعنوان رقت درنظر گرفته می شود)

نتیجه را تا دو رقم معنی دار گرد کنید .

نتیجه را به صورت تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت درمیلی لیتر(در مورد نمونه های مایع)

یا در گرم (در مورد سایر نمونه ها) بیان کنید . تعداد را بصورت دو رقم معنی دار ، عددی بین ۹/۹-۱/۰ ضرب در توانی از ۱۰ گزارش کنید .

۱۰-۱-۳ مثال

از شمارش یک نمونه بعد از کشت دادن ۰/۱ میلی لیتر نتایج زیر بدست آمده است :

- برای اولین رقت انتخاب شده ($۱۰^{-۲}$) : ۶۵ و ۸۵ کلنی مشخص و بدون هیچ کلنی نامشخص .

- برای دومین رقت انتخاب شده ($۱۰^{-۳}$) : ۳ و ۷ کلنی مشخص و بدون هیچ کلنی نامشخص .

تعداد کلنی هایی که مورد آزمایش تأییدی قرار گرفته اند :

- از ۶۵ کلنی ، ۵ کلنی مورد آزمون قرار گرفته و همه ۵ کلنی استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت

می باشند بنابراین $a = ۶۵$

- از ۸۵ کلنی ، ۵ کلنی مورد آزمون قرار گرفته و ۳ کلنی کواگولاز مثبت می باشند بنابراین a=۵۱ (طبق فرمول شماره ۱)

- از۳ کلنی ، همه ۳ کلنی مورد آزمون قرار گرفته و کواگولاز مثبت می باشند بنابراین a=۳

- از ۷ کلنی ، ۵ کلنی مورد آزمون قرار گرفته و همه ۵ کلنی کواگولاز مثبت می باشند بنابراین a=۷

$$N=\frac{۶۵+۵۱+۳+۷}{۰/۱(۲+۰/۱\times۲)۱۰^{-۲}}$$

نتیجه بعد از گرد کردن $۵/۷\times۱۰^{۴}$ می باشد .

۱۰-۲ تخمین تعداد کم

۱۰-۲-۱ اگر دو پلیت حاوی آزمایه (در مورد محصولات مایع) یا رقت اولیه (در مورد سایر محصولات)، هریک دارای کمتر از ۱۵ کلنی باشد نتیجه بصورت زیر گزارش می شود .

الف – برا ی محصولات مایع ،N_e تخمین تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت در میلی لیتر بااستفاده از فرمول شماره (۳) محاسبه می شود .

فرمول (۳)

$$N_e=\frac{\sum a}{V\times 2}$$

$\sum a$ مجموع کلنی های استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت شمارش شده (طبق بند ۱۰-۱-۱)در دو پلیت انتخاب شده

V حجم مایع پخش شده روی هر پلیت

ب ـ برای سایر محصولات ، N_e تخمین تعداد استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت در گرم بااستفاده از فرمول شماره (۴)محاسبه می شود :

فرمول (۴)

$$N_e=\frac{\sum a}{V\times 2\times d}$$

$\sum a$ مجموع کلنی های استافیلوکوکوسهای کواگولاز مثبت شمارش شده (طبق بند ۱۰-۱-۱) در دو پلیت انتخاب شده

d ضریب رقت سوسپانسیون اولیه

V حجم مایع پخش شده روی هر پلیت

۱۰-۲-۲ اگر در دو پلیت حاوی آزمایه (در مورد محصولات مایع) یا سوسپانسیون اولیه (در مورد سایر محصولات) هیچ کلنی استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت مشاهد نشود و اگر ۰/۱ میلی لیتر نمونه تلقیح شده باشد ، نتیجه بصورت زیر گزارش می شود :

- کمتر از ۱۰ استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت در میلی لیتر (در مورد محصولات مایع)
- کمتراز $۱۰/d$ استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت در گرم (در مورد سایرمحصولات) ، که d ضریب رقت

سوسپانسیون اولیه است .

اگر یک میلی لیتر نمونه تلقیح شده باشد ، نتیجه بصورت زیر گزارش می شود :

- کمتر ازیک استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت در میلی لیتر (در مورد محصولات مایع)
- کمتر از $۱/d$ استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت در گرم (در مورد سایر محصولات)

۱۱ دقت

برای اندازه گیری دقت آزمون به اصلاحیه استاندارد بین المللی *ISO 6888-1* مراجعه نمایید

۱۲ گزارش آزمون

گزارش آزمایش باید دارای آگاهی های زیر باشد :

۱-۱۲ اطلاعات لازم برای شناسایی نمونه

۲-۱۲ ذکر روش نمونه برداری مورد استفاده در صورت لزوم

۳-۱۲ روش ازمون به کار رفته طبق استاندارد ملی ایران ۱-۶۸۰۶ : سال ۱۳۸٤

۴-۱۲ سایر مواردی که ممکن است بر نتایج آزمایش تأثیر داشته و در این استاندارد ذکر نشده است .

۵-۱۲ نتایج بدست آمده

۶-۱۲ تاریخ انجام آزمون

۷-۱۲ نام نام خانوادگی و امضاء آزمایش کننده

ICS: 07.100.30