



جمهوری اسلامی ایران

Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۸۶۶۳-۱

چاپ اول

ISIRI

8663-1

1st. edition

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام -
راهنمای آماده سازی و ساخت محیط های
کشت -

قسمت اول: راهنمای عمومی تضمین کیفیت
برای آماده سازی محیط های کشت در
آزمایشگاه

**Microbiology of food and animal feeding
stuffs- Guidelines on preparation and
production of culture media
Part 1:General guidelines on quality
assurance for the preparation of culture
media in the laboratory**

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوبی میدان ونک، پلاک ۱۲۹۴، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۳۹
تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱
دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳
کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۳۱۵۸۵-۱۶۳
تلفن: ۸-۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶۱)
دورنگار: ۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶۱)
پیام نگار: standard@isiri.org.ir
وبگاه: www.isiri.org
بخش فروش، تلفن: ۲۸۱۸۹۸۹ (۰۲۶۱)، دورنگار: ۲۸۱۸۷۸۷ (۰۲۶۱)
بها: ۲۸۷۵ ریال

Institute of Standards and Industrial Research of IRAN
Central Office: No.1294 Valiaser Ave. Vanak corner, Tehran, Iran
P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran
Tel: +98 (21) 88879461-5
Fax: +98 (21) 88887080, 88887103
Headquarters: Standard Square, Karaj, Iran
P.O. Box: 31585-163
Tel: +98 (261) 2806031-8
Fax: +98 (261) 2808114
Email: standard@isiri.org.ir
Website: www.isiri.org
Sales Dep.: Tel: +98(261) 2818989, Fax.: +98(261) 2818787
Price: 2875 Rls.

به نام خدا

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)^۱ کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بینالمللی بهره گیری می شود.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و / یا اقلام وارداتی، 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 آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سا زمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

* مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

- 1- International organization for Standardization
- 2 - International Electro technical Commission
- 3- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)
- 4 - Contact point
- 5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

"میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای آماده سازی و ساخت محیط های کشت -
قسمت اول: راهنمای عمومی تضمین کیفیت برای آماده سازی محیط های کشت در آزمایشگاه"

نمایندگی

رئیس:

رحیمی فرد ، ناهید
وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی -
(دکترای میکروب شناسی)
اداره کنترل آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو

دبیر:

رسولی ، یلدا
مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

اعضاء: (به ترتیب حروف الفبا)

امینیان ، حمید رضا
سازمان حمایت از مصرف کنندگان
(دکترای دام پزشکی)

حاجی گل ، سارا
شرکت آریا وجد
(لیسانس سلولی مولکولی-ژنتیک)

کندابی ، جمیله
مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
(فوق لیسانس شیمی فیزیک)

ضرغامپور ، زهره

(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

سازمان آب و فاضلاب تهران

مختاری ، فهیم‌دخت

(فوق لیسانس ایمنولوژی)

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

کوهی کمالی دهکردی ، پالیز

(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور

مدبر، گلایل

(فوق لیسانس میکروبیولوژی)

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ج	آشنایی با موسسه استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ز	پیشگفتار
ح	مقدمه
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه‌ی کاربرد
۱	۳ مراجع الزامی
۲	۴ واژه شناسی
۲	۴-۱ کلیات
۲	۴-۲ واژه‌های مربوط به تضمین کیفیت
۳	۴-۳ واژه‌های مربوط به محیط‌های کشت
۷	۴-۴ واژه‌شناسی میکروارگانیزم آزمون
۸	۵ کاربرد عملی برای کنترل کیفی محیط‌های کشت
۸	۵-۱ مستندات
۹	۵-۲ نگهداری
۱۰	۵-۳ محیط‌های کشتی که در آزمایشگاه تهیه می‌شوند
۱۳	۵-۴ آماده سازی برای استفاده
۱۵	۵-۵ دفع محیط‌های کشت
۱۵	۶ کنترل کیفی محصول نهایی
۱۵	۶-۱ کنترل کیفی فیزیکی
۱۶	۶-۲ کنترل کیفی میکروبیولوژی
	پیوست الف (اطلاعاتی) معرفی ترکیبات محیط های کشت در استانداردهای
۱۸	میکروبیولوژی خوراک انسان و دام
۱۹	پیوست ب (اطلاعاتی) راهنمای نگهداری و حفظ سویه های کنترل
۲۱	پیوست پ (اطلاعاتی) تضمین کیفیت محیط های کشت - مشکلات موجود و دلیل آنها
۲۳	پیوست ت (اطلاعاتی) کتابنامه

پیش‌گفتار

استاندارد " میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای آماده‌سازی و ساخت محیط‌های کشت - قسمت اول: راهنمای عمومی تضمین کیفیت برای آماده‌سازی محیط‌های کشت در آزمایشگاه " که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تهیه و تدوین شده و در یکصد و پنجاه و هشتمین اجلاس کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۸۶/۱۲/۵ مورد تصویب قرار گرفته است ، اینک به استاندارد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه 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 تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود ، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت . بنابراین ، باید همواره از آخرین تجدید نظر استانداردهای ملی استفاده کرد .

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است :

1- ISO/TS 11133 –1 :2000, Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines on preparation and production of culture media
part 1:General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory

مقدمه

انجام آزمون‌های میکروبیولوژی به سازگار بودن محیط‌های کشت با روش آزمون بستگی دارد که منجر به نتایج تجدیدپذیر می‌گردد. در همه روش‌های کشت معمولی (سنتی) و همچنین در بسیاری از روش‌های جایگزین، از محیط‌های کشت استفاده می‌شود.

ترکیبات بسیاری از محیط‌های کشت به صورت بدون آب در بازار موجود است و بسیاری از آنها برای رشد خاص میکروارگانیسمها طراحی شده‌اند. هدف در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی غذایی نگهداری، بازیابی، رشد، ردیابی (جستجو) و یا شمارش تعداد وسیعی از میکروارگانیسمها است. الزامات مربوط به محیط‌های کشت هم به نمونه و هم به میکروارگانیسم مورد بررسی بستگی دارد. بنابراین دارا بودن حداقل معیارهای عملکردی محیط‌های کشت، پیش نیاز هر فعالیت قابل اعتماد است. برای نشان دادن هر سری ساخت محیط کشت و همچنین مناسب بودن یک محیط کشت برای هدف مورد نظر و ایجاد نتایج سازگار، باید آزمون‌های کافی انجام شود.

این سه معیار از فعالیت‌های اساسی کنترل کیفی داخلی در هر آزمایشگاه است، که به وسیله آن می‌توان به داده‌های دقیق و صحیح دست یافت.

"میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- راهنمای آماده سازی و ساخت محیط های کشت - قسمت اول: راهنمای عمومی تضمین کیفیت برای آماده سازی محیط های کشت در آزمایشگاه"

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین واژه‌های عمومی مربوط به تضمین کیفیت تهیه و آماده سازی محیط- های کشت و تضمین حداقل الزامات مورد نیاز برای انجام آزمون‌های میکروبیولوژی می‌باشد.

۲ دامنه‌ی کاربرد

این الزامات در سه گروه از محیط‌های کشت مورد استفاده در آزمایشگاه‌هایی که محیط‌های کشت را به منظور انجام آزمون‌های میکروبیولوژی تهیه یا مصرف می‌کنند، کاربرد دارد.

۱-۲ محیط‌های کشت آماده مصرف قابل دسترس در بازار

۲-۲ محیط‌های کشت آماده مصرف قابل دسترس در بازار با فرمولاسیون بدون آب (مثل، پلیت کانت آگار^۱ یا محیط‌های کشت پایه که به آنها مکمل‌هایی اضافه می‌شود مثل برد پارکر آگار^۲)

۳-۲ محیط‌های کشت تهیه شده از ترکیبات مجزا

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدارکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه‌های بعدی آن‌ها مورد نظر است. استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱- استاندارد ایران - ایزو ۸۴۰۲: مدیریت کیفیت و تضمین کیفیت - اصطلاحات و تعاریف

1- EN 1659:1996, In vitro diagnostic system –Culture media for microbiology- Terms and definition.

2- EN12322:1999, In vitro diagnostic system –Culture media for microbiology- Performance criteria for culture media

1-Plate count agar
2-Baird-Parker agar

۴ واژه شناسی

۱-۴

کلیات

در این بند تعاریف کلی مربوط به تضمین کیفیت و انواع مختلف اصطلاحات مربوط به تهیه محیط‌های کشت و محیط‌های کشت شرح داده شده است.

۲-۴

واژه های مربوط به تضمین کیفیت

۱-۲-۴

تضمین کیفیت^۱

تمامی فعالیت‌های طرح ریزی شده و نظام گرا که در چارچوب سیستم کیفیت اجرا گردیده و در صورت لزوم اثبات شده باشد که آنها برای ایجاد اطمینان کافی از اینکه یک مقوله نیازمندی‌های کیفیت را برآورده خواهد کرد لازم هستند.

۲-۲-۴

کنترل کیفیت^۲

فنون و فعالیت‌های عملیاتی که برای برآورده کردن نیازمندی‌های کیفیت به کار می‌روند.

۳-۲-۴

کنترل کیفی داخلی^۳

یک برنامه کنترل مداوم که برای فعالیت‌های آزمایشگاهی تهیه شده، و بر اساس انجام آزمایش‌های کنترلی، همراه با پی گیری، و در صورت لزوم، اقدامات اصلاحی انجام می‌گیرد.

۴-۲-۴

سری ساخت محیط کشت^۴

واحدی از محیط کشت که به طور کامل قابل ردیابی بوده و به مقدار مشخصی از محصول به صورت فله، نیمه تمام یا محصول نهایی گفته می‌شود که در نوع و کیفیت یکسان بوده و الزامات تولید (کنترل حین تولید) و

1-Quality assurance

2-Quality control

3-Internal quality control

4-Batch of culture media; Lot of culture media

آزمون های تضمین کیفیت را بر آورده کرده است. یک سری ساخت در یک دوره زمانی مشخص تولید تهیه شده و دارای یک شماره سری ساخت یا بهر می باشند.

۵-۲-۴

عملکرد محیط های کشت^۱

واکنش یک محیط کشت در مواجهه با میکروارگانیسم های آزمون در شرایط معین است.

۳-۴

واژه های مربوط به محیط های کشت

۱-۳-۴

محیط کشت^۲

فرمولاسیونی از مواد به صورت، مایع، نیمه جامد یا جامد است، که حاوی اجزای متشکله طبیعی یا مصنوعی بوده که به منظور تکثیر و یا حفظ قابلیت زیستی^۳ میکروارگانیسم ها مورد استفاده قرار می گیرد.

یادآوری- هنگامی که محیط کشت با کلمات ترکیبی دیگر به کار می رود به اختصار " محیط " نامیده می شود. (بطور مثال محیط غنی سازی)

۲-۳-۴

طبقه بندی محیط های کشت بر اساس ترکیبات

۱-۲-۳-۴

محیط کشت با ترکیب شیمیایی معین^۴

محیط کشتی که تنها از ترکیبات شیمیایی معین (یعنی با ساختار مولکولی و درجه خلوص مشخص) تشکیل شده است.

۲-۲-۳-۴

محیط کشت نیمه تمام شیمیایی^۵

محیط کشتی که بخشی یا تمام آن مواد طبیعی باشد یا به عبارتی ترکیب شیمیایی آن کاملاً مشخص نباشد.

1-Performance of culture media
2-Culture medium
3-Viability
4-Chemically defined culture medium
5-Chemically incomplete culture medium

یادآوری- برای انواع ترکیبات شیمیایی نا مشخص مورد استفاده در محیط های کشت، در ISO/TC 34/SC 9 عنوان معادلی وجود دارد. به پیوست الف مراجعه کنید.

۳-۳-۴

طبقه بندی محیط های کشت بر اساس غلظت^۱

۱-۳-۳-۴

محیط کشت مایع^۲

محیط کشت حاوی محلول آبی متشکل از یک یا چند ترکیب (مثل پپتون واتر^۳، نوترینت براث^۴)

یادآوری ۱- در بعضی موارد ذرات جامد به محیط کشت مایع اضافه می شود.

یادآوری ۲- محیط های مایع موجود در لوله، ارلن، یا بطری ها به طور معمول براث^۵ نامیده می شوند.

۲-۳-۳-۴

محیط کشت جامد^۶ و محیط کشت نیمه جامد^۷

محیط کشت مایع حاوی مواد جامد شدنی (مثل آگار-آگار، ژلاتین و غیره...) در غلظتهای مختلف

یادآوری ۱- با توجه به کاربرد فراگیر لغت آگار-آگار در محیط-های کشت جامد، اصطلاح کوتاه شده آگار، اغلب به صورت مترادف برای محیط های کشت جامد و همچنین در مورد اسامی مثل پلیت کانت آگار به کار می رود.

یادآوری ۲- محیط کشت پخش شده در ظرف پتری معمولاً "پلیت"^۸ نامیده می شود. محیط کشت پخش شده در لوله به حالت شیب دار "اسلنت"^۹ نامیده می شود.

۴-۳-۴

طبقه بندی محیط کشت بر اساس نوع استفاده

۱-۴-۳-۴

محیط کشت انتقال^{۱۰}

محیط کشتی است که به منظور نگهداری اولیه و حفظ قابلیت زیستی میکروارگانیسمها برای دوره زمانی بین جمع آوری نمونه و کار بر روی آن در آزمایشگاه طراحی شده است.

-
- 1-Consistency
 - 2-Liquid culture medium
 - 3-Pepton water
 - 4-Nutrient broth
 - 5-Broth
 - 6-Solid culture medium
 - 7-Semi-solid culture medium
 - 8-Plates
 - 9--Slants
 - 10-Transport medium

یادآوری - محیط انتقال معمولا شامل موادی است که اجازه تکثیر به میکروارگانیسم‌ها نمی دهند، اما از آنها نگهداری می-کند. (مثل محیط انتقال استوارت یا آمیس^۱)

۲-۴-۳-۳

محیط نگهدارنده^۲

محیط کشتی که به منظور حفظ و نگهداری قابلیت زیستی میکروارگانیسم‌ها در یک دوره زمانی طولانی طراحی شده است و از آنها در برابر اثرات زیان آور ذخیره سازی طولانی مدت محافظت کرده و به آنها قدرت بازیابی می دهد.

۳-۴-۳-۴

محیط احیا^۳

محیط کشتی که میکروارگانیسم‌های آسیب دیده و تحت استرس را قادر به ترمیم و بازیابی می کند و توانایی رشد طبیعی آنها را بدون نیاز به تکثیر افزایش می دهد.

۴-۴-۳-۴

محیط غنی کننده^۴

محیط کشت مایعی است که ترکیبات تشکیل دهنده آن شرایط ویژه و مناسب برای تکثیر میکروارگانیسم‌ها را فراهم می کند.

۱-۴-۴-۳-۴

محیط غنی کننده انتخابی^۵

محیط کشت غنی کننده‌ای که تکثیر میکروارگانیسم‌های خاص را تقویت می کند در حالی که رشد دیگر میکروارگانیسم‌ها را تا حدودی یا کاملا محدود می سازد. (مثل محیط راپپورت- واسیلیادیس)^۶

۲-۴-۴-۳-۴

محیط غنی کننده غیر انتخابی^۷

محیط کشت غنی کننده‌ای که رشد اغلب میکروارگانیسم‌ها را تقویت می کند. (مثل نوترینت برات)

-
- 11-Stuarts or Amies 'Transport medium
 - 1-Preservation medium
 - 2-Resuscitation
 - 3-Enrichment medium
 - 4-Selective enrichment medium
 - 5-Rappaport-Vassiliadis medium
 - 6-Non-selective enrichment medium

۵-۴-۳-۴

محیط جداسازی^۱

محیط کشت جامد یا نیمه جامدی که رشد میکروارگانیسم‌ها را تقویت می‌کند.

۱-۵-۴-۳-۴

محیط جدا کننده انتخابی^۲

محیط کشت جدا کننده‌ای که رشد میکروارگانیسم‌های خاصی را تقویت کرده در حالیکه از رشد بقیه میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند. (مثل مک کانکی آگار^۳، پالکام آگار^۴)

۲-۵-۴-۳-۴

محیط جدا کننده غیر انتخابی^۵

محیط کشت جدا کننده‌ای که به‌طور خاص رشد میکروارگانیسم‌ها را محدود نمی‌کند. (مثل نوترینت آگار)

۶-۴-۳-۴

محیط افتراقی^۶

محیط کشتی که بررسی یک یا چند خاصیت فیزیولوژیک یا بیوشیمیایی میکروارگانیسم‌ها را به‌منظور تشخیص آنها فراهم می‌کند. (مثل محیط اوره، لیگلر آگار^۷)

یادآوری - محیط کشت افتراقی که به‌عنوان محیط جداسازی نیز استفاده می‌شود محیط جداسازی یا افتراقی نامیده می‌شود. (بعنوان مثال گزیلوز لیزین دزوکسی کولات (XLD) آگار)

۷-۴-۳-۴

محیط تشخیصی^۸

محیط کشتی که برای ایجاد یک واکنش تشخیصی خاص تعیین شده است و به‌هیچ‌تست تائیدی دیگری نیاز ندارد.

یادآوری - محیط تشخیصی که به‌عنوان محیط جداسازی نیز استفاده می‌شود محیط جداسازی یا تشخیصی نامیده می‌شود.

-
- 7-Isolation medium
 - 1-Selective isolation medium
 - 2-MacConkey agar
 - 3-PALKAM agar
 - 4-Non-selective isolation medium
 - 5-Differential medium
 - 6-Kligler agar
 - 7-Identification medium

۸-۴-۳-۴

محیطهای کشت با موارد استفاده متعدد

محیط کشتی که برای هدفهای متعددی استفاده می شود، مثل بلاد آگار که به عنوان محیط احیاء طبق بند ۳-۴-۳-۴ محیط جدا کننده طبق بند ۵-۴-۳-۴، محیط افتراقی طبق بند ۶-۴-۳-۴ می باشد و همچنین برای شناسایی اثرهمولیز نیز استفاده می شود.

۵-۳-۴

طبقه بندی محیط کشت بر اساس روش های آماده سازی

۱-۵-۳-۴

محیط آماده مصرف^۱

محیط کشتی به شکل آماده برای استفاده در ظرف (مثل ظرف پتری یا لوله یا ظروف دیگری)

۲-۵-۳-۴

محیط کشت آماده شده از فرمولاسیون تجاری بدون آب^۲

محیط کشت پودری که فوراً آماده مصرف نیست. (مثل پودرها، گرانولها، محصولات لیو فلیزه شده) از محیطهای بدون آب یکی از دو نوع محیط زیر به دست می آید:

- محیط کشت کامل آماده مصرف
- محیط کشت ناتمامی که در زمان استفاده باید ترکیبی به آن اضافه شود

۳-۵-۳-۴

محیط کشت آماده شده از ترکیبات مجزا در آزمایشگاه

۴-۴

واژه شناسی میکروارگانیزم های آزمون

۱-۴-۴

کلیات

این میکروارگانیزم ها به طور کلی برای کنترل کیفی و عملکرد صحیح محیطهای کشت استفاده می شوند. این میکروارگانیزم ها بر اساس منابع تهیه شده به شرح زیر تعیین می شوند:

۲-۴-۴

1-Ready-to-use medium

2-Culture medium prepared from commercially dehydrated formulation

سویه مرجع^۱

میکروارگانسیم‌هایی که حد اقل در حد جنس یا گونه مشخص شده‌اند و بر اساس خصوصیات و ترجیحاً با ذکر منشاء طبقه بندی و توصیف شده‌اند.

۳-۴-۴

کشت ذخیره^۲

مجموعه‌ای از محیط کشت‌های یکسان و مجزایی که در آزمایشگاه از یک کشت مجدد^۳ از سویه مرجع، یا در آزمایشگاه یا توسط یک تامین کننده تهیه شده‌اند.

۴-۴-۴

کشت کاری^۴

اولین کشت مجدد از یک کشت ذخیره مرجع (طبق بند ۳-۴-۳)

۵ کاربرد عملی برای کنترل کیفی محیط‌های کشت

۱-۵

مستندات

۱-۱-۵

مستنداتی که باید از طرف سازنده ارائه شود

جزئیات زیر باید از طرف سازنده ارائه شود:

- نام محیط کشت، اجزای محیط کشت و مکمل‌های آن، شناسه‌های محصول
- شناسه سری ساخت
- مقدار PH قبل از استفاده محیط
- اطلاعات انبار داری و تاریخ انقضای مصرف
- اطلاعات مربوط به ارزیابی عملکرد و ارگانسیم آزمون مورد استفاده
- برگه اطلاعات فنی
- گواهی کنترل کیفی
- اطلاعات مربوط به ایمنی و یا خطرات، در صورت لزوم

۲-۱-۵

لیست بررسی کنترل که باید در آزمایشگاه تهیه شود

بررسیهای آزمایشگاه طبق دستورالعمل روی محیط کشت:

- نام محیط کشت و شناسه سری ساخت
- تاریخ دریافت محیط کشت
- تاریخ انقضای مصرف
- شرایط بسته بندی و دست نخورده بودن آن

۲-۵

نگهداری

۱-۲-۵

کلیات

در همه موارد، شامل اطلاعات مربوط به شرایط نگهداری، تاریخ انقضای مصرف و چگونگی استفاده از محیط کشت، طبق دستورات سازنده، در صورتی که موجود باشد، عمل شود.

۲-۲-۵

مدیریت کیفیت و کنترل محیطهای کشت بدون آب و مکملها

محیطهای کشت معمولاً از سازندگان تجاری خریداری می‌شوند. این محیطها به صورت پودرهای بدون آب و گرانوله شده در ظرفهای دربسته توزیع می‌شوند و مکملهای مختلف شامل مواد تشخیصی یا انتخابی به صورت مایع یا لیوفیلیزه توزیع می‌شوند. خرید و استفاده از محیطهای کشت باید روی برنامه مشخص و منظمی انجام شود. به صورتیکه محیط کشتی که اول خریداری می‌شود، باید زودتر استفاده شود^۱.

در این زمینه، کنترل های بیشتری شامل موارد زیر باید انجام شود:

- بررسی مجدد بسته بودن کامل درپوش محیط کشت
- تاریخ اولین باز کردن
- ارزیابی چشمی محتویات ظرف باز شده

بعد از باز کردن یک قوطی جدید، کیفیت محیط کشت بستگی به شرایط نگهداری دارد. کاهش کیفیت محیطهای کشت بدون آب بوسیله تغییر درحالت پودری یا همگنی آن، کلوخه شدن، تغییر در رنگ و غیره نشان داده می‌شود. هر محیط بدون آبی که رطوبت جذب کرده یا تغییرات آشکاری در ظاهر فیزیکی نشان بدهد، باید امحاء شود.

۳-۲-۵

محیط آماده مصرف قابل دسترس در بازار

در مورد شرایط نگهداری، تاریخ انقضای مصرف و چگونگی استفاده طبق دستورات سازنده عمل می‌شود.

۴-۲-۵

آماده سازی محیط‌های کشت آماده مصرف قابل دسترس در بازار از فرمولاسیون بدون آب و ترکیبات پایه مجزا

زمان ماندگاری این نوع از محیط‌های کشت متنوع است. از این رو محدودیت زمانی کلی برای ذخیره محیط های آماده شده متفاوت است. استانداردهای ملی یا بین المللی خاصی برای زمان ماندگاری و شرایط نگهداری وجود دارد.

محیط‌های کشت استریل شده، پخش شده در پلیت، لوله یا بطری و معرف‌هایی که فوراً استفاده نمی‌شوند، باید در مقابل نور و خشک شدن محافظت شوند

در مواردی که زمان انقضای مصرف تعیین شده باشد یا در استانداردهای مربوطه ذکر شده باشد، باید محیط‌های استریل شده نیمه کامل یعنی محیط‌هایی که ترکیبات نهایی آنها فوراً قبل از استفاده اضافه می‌شوند، در فریزر کمتر از سه ماه و در دمای اتاق کمتر از یک ماه در شرایطی که از تغییر ترکیبات آنها جلوگیری شود، نگهداری شوند.

توصیه می‌شود محیط‌هایی که باید مکمل‌های ناپایدار به آنها اضافه شود در همان روز استفاده، آماده شوند. محیط‌های کشت جامد شامل واکنش دهنده‌های شیمیایی و یا مواد تغییر پذیر نباید مجدداً ذوب شود. مشاهده هر تغییر رنگی، نشان خشک شدگی، تبخیر یا رشد میکروبی است، آن سری ساخت محیط نباید استفاده شود.

پیش از استفاده یا قبل از حرارت دهی توصیه می‌شود که دمای محیط کشت با دمای محیط متعادل شود.

۳-۵

محیط‌های کشتی که در آزمایشگاه تهیه می‌شوند

۱-۳-۵

کلیات

آماده سازی صحیح محیط‌های کشت از اصلی ترین مراحل آزمایش‌های میکروبی است که باید با مراقبت خاص انجام شود.

باید در رابطه با تهیه محیط‌های بدون آب و ترکیبات دیگر بویژه آنهایی که شامل مواد خطر زا هستند مانند نمک‌های صفاوی و یا معرف‌ها دستورات سازنده کاملاً رعایت شود. در مواردی که محیط از فرمولاسیون آماده تجاری تهیه می‌شود باید دقیقاً طبق دستور سازنده باشد. همه اطلاعات مربوطه یعنی، وزن، حجم، pH، تاریخ آماده سازی، شرایط استریلیزاسیون و نام کاربر ثبت شود. در مورد محیط‌های کشت آماده شده از ترکیبات مجزا، باید کاملاً طبق دستورالعمل عمل شده و همه جزئیات با توجه به آنچه که در بند ۲-۲-۴ شرح داده شد همراه با مشخصات کامل ترکیبات اضافه شده (مانند کد و شماره سری ساخت) باید ثبت شود.

۲-۳-۵

آب

آب مورد استفاده باید آب مقطر و یا آبی با کیفیت معادل باشد، یعنی عاری از موادی که در شرایط آزمون روی رشد میکروارگانیسم‌ها تاثیر و یا رشد آنها را مهار می‌کند باشد. اگر آب مقطر از آب کلر زده تهیه می‌شود باید قبل از تقطیر کلر آن خنثی شود. آب مقطر باید در ظرف‌هایی ذخیره شود که ترجیحاً از مواد بی اثر ساخته شده باشند. (مانند: شیشه طبیعی، پلی اتیلن و غیره) که پیش از اولین استفاده عاری از هر مواد بازدارنده‌ای باشد.

یادآوری - در بعضی موارد استفاده از آب تازه تهیه شده که عاری از دی اکسید کربن حل شده است لازم می باشد .

آب با کیفیت آب مقطری است که حداقل دارای مقاومت الکتریکی $30000 \text{ cm } \Omega$ باشد.

اخطار - آب تهیه شده از دستگاه دیونیزه ممکن است شامل مقادیر زیادی از میکروارگانیسم‌ها باشد توصیه می‌شود بدون بررسی میزان میکروارگانیسم‌های موجود در آب از آن استفاده نشود. برای به حداقل رساندن آلودگی با سازنده مشورت کنید. آلودگی زیاد آب دیونیزه شده که از طریق صافی استریل گردیده، ممکن است شامل موادی باشد که رشد بعضی از میکروارگانیسم‌ها را محدود کند.

۳-۳-۵

وزن کردن و اضافه کردن آب

مقدار مناسب از محیط بدون آب را وزن کرده (مراقب باشید پودر را استنشاق نکنید، به‌خصوص محیط‌هایی را که حاوی ترکیبات سمی هستند) و کم کم آب را به محیط اضافه کنید تا گلوله نشود.

۴-۳-۵

حل کردن و یکنواخت کردن محیط کشت

برای حل کردن سریع محیط بدون آب در هنگام گرم کردن، آن را مرتباً تکان دهید. محیط آگاردار باید قبل از گرم کردن برای چند دقیقه همراه با هم زدن خیسانده شود. برای محیط‌هایی که با ترکیبات مجزا آماده می‌شوند هر ترکیبی باید جدا گانه قبل از اینکه به حجم نهایی برسد، حل شود.

۵-۳-۵

اندازه گیری و تنظیم pH

برای اندازه گیری pH از pH متر استفاده می‌شود و باید دقت pH در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد تا ± 0.2 باشد مگر اینکه مقادیر دیگری توصیه شده باشد.

تنظیم pH معمولاً با استفاده از محلول یک مولار هیدروکسید سدیم (NaOH) با غلظت تقریبی ۴۰g/l یا محلول یک مولار اسید هیدروکلریک (HCL) با غلظت تقریبی ۳۶/۵g/l انجام می‌شود.

یادآوری - محیط‌های تجاری ممکن است تغییرات معنی داری در pH قبل و بعد از اتوکلاو نشان دهند. اگرچه، آب مقطر یا آب دیونیزه ای که به خوبی تهیه شده باشد نیازی به تنظیم pH پیش از اتوکلاو کردن ندارد.

۶-۳-۵

توزیع

محیط را در ظروف مناسب با حجم ۱ تا ۳ برابر حجم محیط کشت توزیع کنید.

۷-۳-۵

استریلیزاسیون

۱-۷-۳-۵

کلیات

استریلیزاسیون محیط‌های کشت و معرف‌ها یا از طریق حرارت مرطوب (طبق بند ۳-۷-۳-۵) یا به صورت صاف کردن (طبق بند ۳-۷-۳-۵) انجام می‌شود.

محیط‌های خاصی هستند که نیازی به استریلیزاسون از طریق اتوکلاو ندارند ولی می‌توانند دمای جوش را تحمل کنند. برای مثال، محیط‌هایی که برای آنتروباکتریاسه‌ها از آنها استفاده می‌شوند و حاوی برلیانت گرین هستند به خصوص به حرارت و نور بسیار حساس‌اند و باید به سرعت بعد از جوشاندن سرد شده و از آنها در مقابل نور شدید محافظت شود.

بعضی از معرف‌ها را نیز می‌توانند بدون استریلیزاسیون استفاده کرد (به استانداردهای مربوطه و دستورات سازنده مراجعه شود)

۲-۷-۳-۵

استریلیزاسیون به وسیله حرارت مرطوب

استریلیزاسیون به وسیله حرارت مرطوب در اتوکلاو یا وسیله معادل آن انجام می شود. عموماً اتوکلاو کردن بمدت ۵ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتیگراد انجام می شود. برای حجم‌های بالاتر از ۱۰۰۰ میلی لیتر باید شرایط استریلیزاسیون لازم را تامین کنید. در همه موارد طبق دستورالعمل‌های موجود در استانداردهای مربوطه وسازندگان عمل کنید. عملکرد اتوکلاو باید توسط کنترل دما با استفاده از ترموکوپل و نوارهای آزمون در شرایط کاملاً مشخص از نظر پر بودن اتوکلاو و برای اطمینان از رسیدن به دمای مورد نظر پایش شود.

یادآوری - زیاد تر از حد حرارت دیدن^۱ برای محیط‌هایی که حجم‌های بالاتر از ۱۰۰۰ میلی لیتر دارند در اتوکلاو ممکن است بوجود آید.

کنترل کارایی استریلیزاسیون از ارکان اساسی است.

سرد کردن محیط بعد از حرارت به منظور جلوگیری از اینکه زیادتر از حد حرارت نبیند ضروری است. این مسئله به خصوص برای محیط‌های حساسی مثل محیط آنروباکتریاسه ها و محیط‌هایی که در حجم بالا تهیه می‌شوند، بسیار مهم است.

۳-۷-۳-۵

استریلیزاسیون به وسیله فیلتراسیون

استریلیزاسیون توسط فیلتراسیون، تحت خلاء و فشار انجام می شود. از فیلترهای غشایی استریل با روزه‌های به قطر ۰/۲۲ میکرون استفاده کنید. در صورتی که از فیلترهای غشایی استریل استفاده نشود، باید آن‌ها را اتوکلاو کرد. قسمت‌های مختلف دستگاه فیلتراسیون، روی هم سوار شده یا به صورت مجزا را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد، اتوکلاو کنید. پس از اتوکلاو عملیات فیلتراسیون در زیر هود لامینر انجام شود.

یادآوری - بعضی از فیلترهای غشایی ممکن است مواد پروتینی مانند آنتی بیوتیک ها را در خود جذب کنند بنابراین به منظور به دست آوردن غلظت مناسب در محلول فیلتر شده کاربر باید فیلتر را قبل از استفاده به وسیله آب مقطر مرطوب کند.

۴-۷-۳-۵

پایش

همه محیط‌ها باید بعد از اتوکلاو، جوشاندن یا صاف کردن به خصوص از نظر PH، رنگ، استریل بودن و قوام پایش شوند.

۸-۳-۵

آماده سازی مکمل‌ها

باید از انتشار پودر مکمل‌های آماده قابل دسترس در بازار که حاوی مواد سمی به خصوص آنتی بیوتیک‌ها هستند جلوگیری کرد. زیرا باعث آلرژی و ایجاد واکنش‌های دیگری در بین کارکنان آزمایشگاه می‌شود. باید احتیاط لازم در هنگام تهیه محلول‌ها مطابق با دستور سازنده صورت گیرد. محلول‌های کاری آنتی بیوتیکی که معمولاً در روز تهیه باید استفاده شوند، بعد از گذشتن زمان ماندگاری، آنها را استفاده نکنید. در شرایط خاص می‌توان محلول‌های آنتی بیوتیکی را در حجم‌های کوچک به صورت فریز شده نگهداری کرد. در این صورت پس از استفاده نباید آنها را مجدداً فریز کنید. باید در خصوص کاهش اثر فعالیت آنها بعد از فریز کردن با سازنده مشورت کرد و یا توسط کاربر مورد آزمون قرار گیرد.

۴-۵

آماده سازی برای استفاده

۱-۴-۵

ذوب محیط کشت آگاردار

ذوب محیط کشت به وسیله قرار دادن آن در حمام آب جوش و یا هر فرایند دیگری که همان نتیجه را دهد صورت می‌گیرد (مانند قرار دادن در بخار اتوکلاو). محیطی که قبلاً اتوکلاو شده باید برای از دست ندادن کیفیت در حداقل زمان مجدداً گرم شود. از حرارت دادن طولانی اجتناب کرده و به محض ذوب شدن محیط کشت حرارت را متوقف کنید. محیط ذوب شده را در بن ماری با دمای 47 ± 2 درجه سانتیگراد دارای دما سنج تا زمان استفاده نگهداری کنید. زمان لازم برای رسیدن به دمای ۴۷ درجه سانتیگراد بستگی به نوع محیط، حجم آن و تعداد محیط‌های موجود در بن ماری دارد. محیط ذوب شده باید در حد اقل زمان ممکنه استفاده شود در غیر این صورت توصیه می‌شود بیش از ۴ ساعت نگهداری نشود.

۲-۴-۵

ذوب کردن مجدد محیط‌های کشت

قبل از استفاده، در صورت لزوم، محیط کشت را در آب جوش و یا بخار برای مدت ۱۵ دقیقه با درپوش شل گرم کرده، بعد از گرم کردن درپوش را بسته و سرعت سرد کنید.

۳-۴-۵

افزودن مکمل‌ها

مکمل‌هایی که به گرما حساس هستند، باید بعد از اینکه دمای محیط به 47 ± 2 درجه سانتیگراد رسید به محیط اضافه شوند. مکمل استریل شده باید قبل از افزودن به محیط آگاردار به دمای محیط برسد. افزودن مایعات سرد ممکن است سبب بسته شدن آگار شود. مکمل‌ها را در محیط کشت به آرامی و کامل مخلوط و به سرعت در ظرف نهایی تقسیم کنید.

آماده سازی و نگهداری محیط‌های کشت در ظرف های پتری

محیط کشت آگاردار ذوب شده را با حداقل ضخامت ۲ میلی متر درون ظرف پتری بریزید (بطور مثال برای ظرفهای با قطر ۹۰ میلی متر، ۱۵ میلی لیتر محیط کافی است). پلیت ها را در یک سطح افقی و خنک قرار دهید، در آن ها را بسته صبر کنید تا آگار سرد شده و ببندد.

یادآوری - در طول گرم‌خانه گذاری، رطوبت محیط کاهش پیدا خواهد کرد. کاهش بیش از ۱۵٪ رطوبت محیط تاثیر عکس بر روی رشد میکروارگانیسم‌ها در بعضی شرایط دارد. فاکتورهای موثر در کاهش آب محیط، ترکیبات محیط کشت، حجم محیط کشت در پلیت، نوع انکوباتور مثل وجود فن یا موارد دیگر، رطوبت موجود در هوای داخل انکو باتور، نوع قرار گرفتن و تعداد پلیتهای موجود در انکو باتور و دمای انکوباتور می باشد.

محیط کشت بسته شده باید فوراً استفاده شود یا در شرایطی که ترکیبات آن تغییری نکند یعنی در تاریکی و یا در بسته‌هایی که در آن‌ها محکم شده، در داخل یخچال با دمای ۴ تا ۱۲ درجه سانتیگراد حداکثر تا یک هفته و یا طبق دستور سازنده یا استاندارد مخصوص به آن محیط نگهداری شود. برچسب روی پلیت‌ها باید شامل اطلاعات مربوط به تاریخ آماده سازی و یا تاریخ انقضای مصرف و مشخصات کامل باشد. می‌توان از هر روش نشانه‌گذاری که الزامات مختلف را برآورده می‌کند، استفاده کرد.

زمان ماندگاری محیط کشت‌هایی که در پلیت‌های داخل بسته های پلاستیکی نگهداری می شوند افزایش می‌یابد. برای اجتناب از جمع شدن محیط‌های کشت، باید قبل از بسته بندی در بسته های پلاستیکی، صبر کنید تا محیط کشت سرد شود. سطح آگار پلیت‌ها را قبل از قرار دادن در داخل یخچال خشک نکنید. برای انجام کشت سطحی، محیط کشت جامد را قبل از تلقیح خشک کنید، برای این کار بهتر است در پلیت را باز کرده و پلیت‌ها را به صورتی که سطح آگار به سمت بالا قرار گیرد، در داخل یک آون با دمای ۲۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد یا در زیر هود لامینر قرار دهید تا زمانی که حباب‌های روی سطح محیط کشت از بین برود. محیط‌ها را زیاد خشک نکنید. محیط‌های آگاردار آماده مصرف قابل دسترس در بازار را باید طبق دستور سازنده نگهداری و استفاده کرد.

گرمخانه گذاری

در داخل انکوباتور، پلیت‌ها را بیشتر از ۶ عدد روی هم نگذارید، تا هوا در بین آنها جریان داشته باشد. اجازه دهید هر چه سریعتر دمای محیط کشت با دمای انکوباتور یکی شود. برای محیط های کشت مایع، رسیدن به دمای انکوباتور بستگی به فاکتورهای مختلفی مثل، حجم، ظرف، پر بودن ظرف و نوع انکوباتور دارد. گاهی اوقات ممکن است لازم باشد، در جارهای بی هوای بیش از ۶ پلیت روی هم قرار گیرند.

دفع محیط های کشت

محیط های کشت آلوده و همچنین محیط های کشت استفاده نشده که زمان مصرف آن ها گذشته است، باید به صورت ایمن طبق قوانین ملی یا منطقه ای دفع و دور ریخته شوند.

۶ کنترل کیفی محصول نهایی

۱-۶

کنترل کیفی فیزیکی

بررسی های آزمایشگاهی باید حداقل شامل موارد زیر باشد:

- اندازه گیری pH در دمای ۲۰ تا ۲۵ درجه سانتیگراد

و مشاهده

- میزان پری پلیت و یا ضخامت لایه محیط کشت در پلیت

- رنگ

- شفافیت ، وجود اجسام یا ذرات خارجی که با چشم مشاهده می شوند

- پایداری ژل و قوام ، رطوبت

۲-۶

کنترل کیفی میکروبیولوژی

۱-۲-۶

آلودگی

مقدار مناسبی از هر سری ساخت باید از نظر آلودگی تست شود.

۲-۲-۶

میکروارگانسیم های آزمون

مجموعه ای از میکروارگانسیم های آزمون است که شامل میکروارگانسیم هایی با خصوصیات ثابت می باشد که شاخص گونه خود بوده و نشان داده شده باشد که بهترین عملکرد محیط کشت خاصی را در آزمایشگاه اثبات می کند.

میکروارگانسیم های آزمون باید سویه های اولیه از گونه های اصلی مجموعه کشت مرجع باشند اما سویه ای که توسط آزمایشگاه به خوبی شناسایی و شناخته شده اند نیز می توانند استفاده شوند. خصوصیات کشت میکروارگانسیم از کشت ذخیره باید توسط آزمایشگاه آزمایش و ثبت شود و تجدید کشت سویه هایی که ویژگی غیر تیپیک دارند صورت گیرد. ترجیحاً از سویه ای استفاده شود که از مواد غذایی جدا شده اند گرچه تمام مجموعه های کشت چنین اطلاعاتی را از منشا سویه ها در اختیار ندارند.

ارگانسیم‌های آزمون برای هر محیط می‌تواند شامل موارد زیر باشد:

- گونه‌های مثبت با ویژگیهای تیپیک
- گونه‌های مثبت با رشد ضعیف (یعنی از یک گونه طبیعی حساس تر)
- گونه‌هایی با واکنشهای بیوشیمیایی غیر طبیعی مانند آنهایی که فرماتتاسیون و واکنش‌های فلورسانس متفاوت نشان می‌دهند
- گونه‌هایی که کاملاً مهار شده‌اند

یادآوری - کمیته بین المللی میکروبیولوژی غذایی و (WPCM)^۱ دارای یک مجموعه تائید شده برای گونه های آزمون و برای ارزیابی محیط های کشت دارند.

۳-۲-۶

محیط های آماده استفاده و معرفها

در خصوص محیط‌های آماده استفاده قابل دسترس در بازار، اگر مورد تصویب استانداردهای ISO 9001 و یا ISO 9002 باشند یک برنامه کنترل کیفی خواهند داشت و ممکن است یک گواهینامه کیفیت توسط تامین کننده برای آنها صادر شود. تحت چنین شرایطی نیازی به انجام آزمون‌های کامل روی محیط‌ها توسط کاربر نیست، اما باید از شرایط انبارداری و پایداری محیط اطمینان حاصل کرد.

۴-۲-۶

محیط های آماده مصرف قابل دسترس در بازار با فرمولاسیون بدون آب

در این بخش از استاندارد آزمون‌های کیفی برای هر سری ساخت از محیط کشت آماده دارای حداقل الزامات می باشد، اما از آنجائیکه آزمونهای کیفیت بر روی نمونه ها انجام می شود، آزمون‌های کیفی روی هر سری ساخت از کیفیت محیط‌های کشت اطمینان بیشتری خواهد داد. برای محیط‌هایی که اندیکاتور و معرف انتخابی ندارند استفاده از تنها یک تست مثبت کافی است. برای محیط‌هایی که شامل اندیکاتور و معرف‌های انتخابی هستند گونه‌هایی باید استفاده شود که عملکرد اندیکاتورها و معرف‌های انتخابی را اثبات کند. برای محیط‌های مخلوط یعنی محیط‌هایی که مکمل به آنها اضافه می شود باید هر سری ساخت با گونه‌هایی که ویژگیهای آنها در بند ۲-۲-۵ اشاره شده بررسی شوند. در مواردی که از محیط‌هایی که مکمل آنها در آزمایشگاه تهیه می شود استفاده می کنیم نیز باید به همین صورت عمل کرد.

۵-۲-۶

محیط های تهیه شده از ترکیبات پایه مجزا

توصیه می شود علاوه بر انجام تست‌های کیفی شرح داده شده در بند ۵-۲-۴ از بعضی تست‌های کمی نیز که از روش‌هایی مثل روش اصلاح شده Miles & Misra یا روش‌هایی به منظور پایش کیفیت مواد اولیه ، اختصاصی بودن محیط کشت و روش‌های تولید داخلی آزمایشگاه استفاده شود.

یادآوری - این موارد حداقل راهنمای عملی می باشد. فرآورده های غذایی بهتر است حاوی میکروارگانسیم های ضعیف شده باشند. محیط‌های کشت با توجه به اینکه بتوانند میکروارگانسیم‌های ضعیف شده را بازیافت کنند تضمین می شوند. برای اطلاعات از روش‌های محافظت، نگهداری و مجموعه کشت مرجع به پیوست ب مراجعه کنید.

پیوست الف

(اطلاعاتی)

معرفی ترکیبات محیط های کشت در استانداردهای میکروبیولوژی خوراک انسان و دام

الف- ۱ کلیات

در این پیوست به منظور هماهنگ سازی در شرح انواع مختلف ترکیبات محیط های کشت به استانداردهای مربوطه مراجعه شود، نام‌گذاری طبقه بندی ترکیبات در بندهای الف-۲ تا الف - ۵ آمده است.

الف- ۲ پیتونها

- هضم شده آنزیمی کازئین
- هضم شده آنزیمی سویا
- هضم شده آنزیمی بافت حیوانی
- هضم شده آنزیمی قلب
- هضم شده آنزیمی ژلاتین
- هضم شده آنزیمی بافت گیاهی و حیوانی

الف - ۳ عصاره ها

- عصاره گوشت
- عصاره قلب و مغز
- عصاره مخمر
- صفرای گاوی برای باکتریولوژی
- نمک‌های صفراوی
- نمک‌های صفراوی شماره ۳

الف - ۴ آگار

- آگار باکتریولوژی

الف - ۵ سایر موارد

- امولسیون زرده تخم مرغ
- شیر خشک
- هیدرولیز اسیدی کازئین

پیوست ب

(اطلاعاتی)

راهنمای نگهداری و حفظ سوبیه های کنترل

ب - ۱ کلیات

چندین روش برای نگهداری و حفظ صحیح میکروارگانیسم‌های مرتبط به میکروبیولوژی مواد غذایی موجود می باشد. این روش‌ها شامل: لیوفیلزاسیون، ذخیره سازی روی مهره های شیشه ای در دمای ۷۰- درجه سلسیوس یا نیتروژن مایع. یک روش ممکن است برای نگهداری همه سوبیه ها مناسب نباشد.

این راهنمایی ها در جدول ب - ۱ آمده است.

ب-۲ سوبیه های مرجع از منابع تجاری

اگر سوبیه های مرجع از مجموعه های مرجع یا تامین کننده هایی که دارای استانداردهای ISO 9001 و ISO 9002 هستند خریداری و در ظرف‌های اصلی نگهداری می شوند، باید طبق دستور سازنده کشت داده و استفاده شوند.

ب - ۳ کشت‌های ذخیره مرجع آماده شده در آزمایشگاه

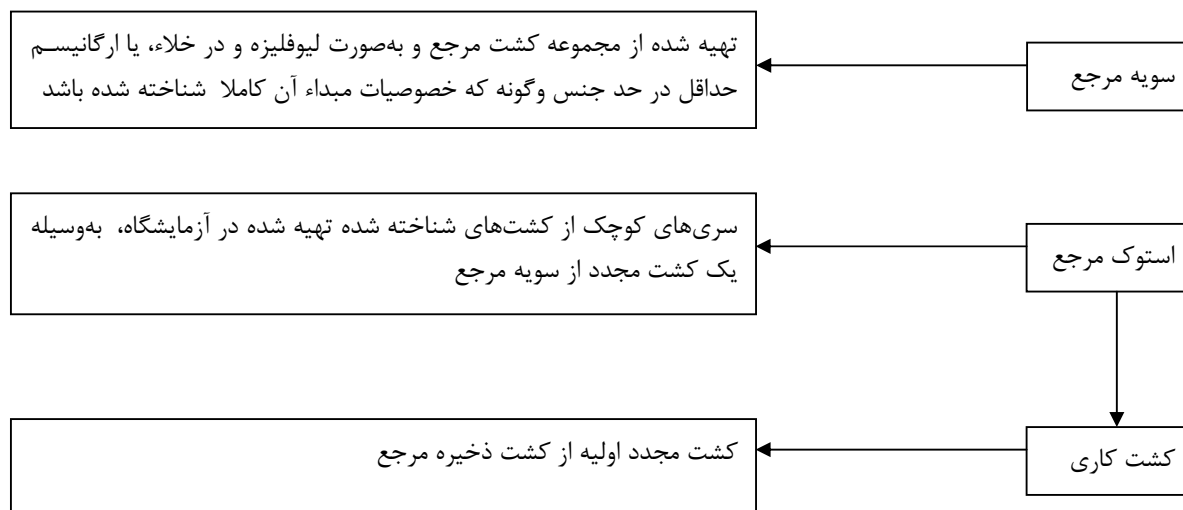
کشت‌های ذخیره از سویه های مرجع (ب-۲) برای کنترل کیفی و انجام آزمون هدف باید به صورتی نگهداری و بررسی شوند که حداقل امکان ایجاد آلودگی ثانویه، جهش یا تغییر در خصوصیات ویژه آنها باشد. کشت‌های ذخیره مرجع باید در حجم‌های کوچک و مساوی در فریزر ۷۰- درجه یا به صورت لیوفیلز شده ذخیره شوند. خصوصیات رشد آنها باید کاملاً بر روی هر محیط که به عنوان میکروارگانیسم‌های آزمون استفاده می شوند ثبت شود.

ب-۴ کشت کاری

کشت‌های کاری از کشت‌های ذخیره مرجع لیوفیلز شده آماده می شوند(ب-۳). بررسی آنها باید با روشی انجام شود که حداقل امکان ایجاد آلودگی ثانویه و یا هر نوع تغییری از کشت ذخیره مرجع صورت گیرد. کشت‌های کاری باید با بردن مقداری از کشت ذخیره مرجع به یک محیط رشد غیر انتخابی آماده و تا رسیدن به یک فاز ثابت گرم‌خانه گذاری شوند. برای روش‌های نگهداری قابل دسترس تجاری دستورات سازنده باید طبق آنچه در ادامه آمده عمل شود.

یادآوری - کشت‌های مجددی که از کشت های کاری تهیه می شوند نباید استفاده شوند. بنابراین کشت‌های کاری ممکن است بیش از یکبار استفاده شده باشند. کشت‌های کاری باید به روش مناسبی بررسی و ذخیره به‌طوری‌که از آلودگی ثانویه و یا سپری شدن زمان بیشتر از یک هفته از تهیه آنها اجتناب می شود

جدول ب-۱



پیوست پ

(اطلاعاتی)

تضمین کیفیت محیط های کشت – مشکلات موجود و دلیل آنها

دلیل احتمالی	حالت غیر عادی محیط کشت
در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است کاهش pH به دلیل هیدرولیز اسید مقدار نادرست آگار مورد استفاده آگار به طور کامل و یکنواخت حل نشده است اجزای تشکیل دهنده محیط کشت به خوبی حل نشده اند	محیط آگار دار بسته نمی شود
در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است کیفیت پایین آب آلودگی شیمیایی خارجی اندازه گیری pH در دمای نادرست دستگاه PH متر کالیبره نشده است کیفیت پایین محیط کشت بدون آب	pH نادرست

<p>در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است</p> <p>کیفیت پایین آب</p> <p>کیفیت پایین محیط کشت بدون آب</p> <p>PH نادرست</p> <p>آلودگی خارجی</p>	<p>رنگ غیر عادی</p>
<p>در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است</p> <p>کیفیت پایین آب</p> <p>کیفیت پایین محیط کشت بدون آب</p> <p>عدم کنترل pH</p>	<p>تشکیل رسوب</p>
<p>در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است</p> <p>کیفیت پایین محیط کشت بدون آب</p> <p>کیفیت پایین آب</p> <p>استفاده از فرمولاسیون نا درست مانند: وزن کردن نادرست ترکیبات یا افزودن مکمل ها با غلظت نادرست</p>	<p>بازدارندگی محیط کشت / انتخابی بودن پایین</p>
<p>در طول آماده سازی، محیط کشت بیش از حد حرارت دیده است</p> <p>کیفیت پایین محیط کشت بدون آب</p> <p>استفاده از فرمولاسیون نادرست</p> <p>اضافه کردن نادرست مکمل ها، برای مثال: هنگامی که محیط کشت بسیار داغ بوده یا با غلظت نادرست افزوده شده است</p>	<p>انتخاب پذیری ضعیف</p>

پیوست ت
(اطلاعاتی)
کتابنامه

[1] Culture media for Food Microbiology . Progress in Industrial Microbiology, Vol. 34 (1995).Eds. Corry J.E.L., Curtis, G.D.W and Baird, R.M. Eisevier, Amsterdam

ICS: 07.100.30

صفحة : ٢٢
