



جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران

۸۹۲۳-۱

چاپ اول

ISIRI

8923-1

1st. Edition

میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام –  
آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و  
رقت های اعشاری برای آزمون های  
میکروبیولوژی –

قسمت اول : مقررات کلی برای آماده سازی  
سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری

**Microbiology of food and animal feeding  
stuffs – Preparation of test samples, initial  
suspension and decimal dilutions for  
microbiological examination**

**Part 1: General rules for the preparation of  
initial suspension and decimal dilutions**

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران  
تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوبی میدان ونک، پلاک ۱۲۹۴، صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۳۹  
تلفن: ۸۸۸۷۹۴۶۱-۵  
دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳  
کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۳۱۵۸۵-۱۶۳  
تلفن: ۸-۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶۱)  
دورنگار: ۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶۱)  
پیام نگار: [standard@isiri.org.ir](mailto:standard@isiri.org.ir)  
وبگاه: [www.isiri.org](http://www.isiri.org)  
بخش فروش، تلفن: ۲۸۱۸۹۸۹ (۰۲۶۱)، دورنگار: ۲۸۱۸۷۸۷ (۰۲۶۱)  
قیمت: ۸۷۵ 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](mailto:standard@isiri.org.ir)  
Website: [www.isiri.org](http://www.isiri.org)  
Sales Dep.: Tel: +98(261) 2818989, Fax.: +98(261) 2818787  
Price : 875 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)<sup>۱</sup> کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)<sup>۲</sup> و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)<sup>۳</sup> است و به عنوان تنها رابط<sup>۴</sup> کمیسیون کدکس غذایی (CAC)<sup>۵</sup> 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 - آماده سازی آزمایشه، سوسپانسیون اولیه و رقت های  
اعشاری برای آزمون های میکروبیولوژی - قسمت اول : مقررات کلی برای آماده سازی  
سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری "

**رئیس :**

رحیمی فرد ، ناهید  
( دکترای تخصصی میکروبیولوژی )

**نمایندگی**  
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی -  
اداره کل آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو

**دبیر :**

داورزنی ، ساره  
( لیسانس علوم تغذیه )

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

**اعضاء :** ( اسامی به ترتیب حروف الفبا )

اطهری نیا ، معصومه  
( فوق لیسانس بیولوژی )

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

بابائی بالدرلو ، پریسا  
( فوق لیسانس میکروبیولوژی )

شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران

پیری آذر هریس ، رسول  
( لیسانس میکروبیولوژی )

شرکت صنایع غذایی بهروز نیک

دوچشمه ، مهدی  
( فوق لیسانس مهندسی محیط زیست )

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

زندوکیلی ، فاطمه  
( فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه )

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

گروه تولیدی صنایع غذایی مه‌رام

سخی پور ، ناهید  
( لیسانس علوم تغذیه )

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی -  
مرکز سلامت محیط و کار

غلامی ، سید رضا  
( فوق لیسانس بهداشت محیط )

انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور

کوهی کمالی دهکردی ، پالیز  
( فوق لیسانس میکروبیولوژی )

## فهرست مندرجات

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
ج	آشنایی با مؤسسه استاندارد
د	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
ز	پیش‌گفتار
۱	۱ هدف
۱	۲ دامنه کاربرد
۱	۳ مراجع الزامی
۲	۴ اصطلاحات و تعاریف
۳	۵ اصول آزمون
۳	۶ نمونه برداری
۳	۷ محلول های رقیق کننده
۵	۸ وسایل
۵	۹ آماده سازی آزمایه
۵	۱۰ روش اجرای آزمون

## پیش‌گفتار

استاندارد « میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده‌سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی – قسمت اول : مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری » نخستین بار در سال ۱۳۴۶ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهادهای رسیده و تأیید کمیسیون‌های مربوطه دریکصد و پنجاه و چهارمین اجلاس کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۸۶/۱۲/۲۶ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده 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 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 تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

استانداردهای ملی ایران شماره: ۳۵۶ سال ۱۳۸۰ باطل و استاندارد ۱-۸۹۲۳ جایگزین آن می‌شود.

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

1-ISO 6887-1:1999 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination  
Part 1: General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions

# میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون های میکروبیولوژی

## قسمت اول : مقررات کلی برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری

### ۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین مقررات کلی برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری در شرایط هوای برای آزمون های میکروبیولوژی فرآورده های مورد مصرف انسان و خوراک دام می باشد.

### ۲ دامنه کاربرد

این استاندارد برای کلیه فرآورده های غذایی مورد مصرف انسان و خوراک دام به استثناء فرآورده های نامبرده شده در دامنه کاربرد استانداردهای ملی ایران شماره های ۲-۸۹۲۳ ، ۳-۸۹۲۳ و ۴-۸۹۲۳ کاربرد دارد.

### 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 می شود. در صورتی که به مدارکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه ها 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 اصلاحیه های بعدی آنها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۱-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۷۴۷ ، آیین کار در آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی

۲-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۵ ، میکروبیولوژی – آیین کاربرد روش های عمومی آزمایش های میکروبیولوژی

۳-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۲-۸۹۲۳ ، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت دوم – مقررات ویژه برای آماده سازی گوشت و فرآورده های آن

۴-۳ استاندارد ملی ایران شماره ۳-۸۹۲۳ ، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی – قسمت سوم – مقررات ویژه برای آماده سازی ماهی و فرآورده های آن



۳-۵ استاندارد ملی ایران شماره ۴-۸۹۲۳، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی - قسمت چهارم - مقررات ویژه برای آماده سازی محصولاتی به غیر از شیر، گوشت، ماهی و فرآورده های آن ها

## ۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات با تعاریف زیر به کار می رود :

### ۱-۴

#### سوسپانسیون اولیه ( اولین رقت اعشاری )<sup>۱</sup>

به سوسپانسیون، محلول یا امولسیون گفته می شود که پس از توزین یا اندازه گیری حجم معینی از فرآورده مورد آزمون ( یا یک نمونه آماده شده از فرآورده ) و مخلوط کردن با ۹ برابر حجم یا وزن آن از یک محلول رقیق کننده به دست می آید. در صورت وجود ذرات درشت، سوسپانسیون باید مدتی به حالت سکون باقی بماند تا این ذرات ته نشین شوند.

یادآوری - به بند ۷ و یادآوری های ۱ و ۲ بند ۱۰-۱ مراجعه شود.

### ۲-۴

#### رقت های اعشاری بعدی<sup>۲</sup>

به سوسپانسیون ها یا محلول هایی گفته می شود که پس از مخلوط کردن حجم معینی از سوسپانسیون اولیه ( بند ۴-۱ ) با ۹ برابر حجم محلول رقیق کننده به دست می آید. با تکرار این عمل رقت های اعشاری بعدی حاصل می شوند که برای تلقیح در محیط کشت مناسب می باشند.

### ۳-۴

#### استاندارد خاص<sup>۳</sup>

استاندارد یا دستورالعمل مستندی است که آزمایش یک فرآورده خاص ( یا گروهی از فرآورده ها ) را به منظور جستجو یا شمارش یک میکروارگانیسم خاص ( یا گروهی از میکروارگانیسم ها ) شرح می دهد.

---

1- Initial suspension ( primary dilution )  
2- Further decimal dilutions  
3- Specific standard

## ۵ اصول آزمون

آماده سازی سوسپانسیون اولیه ( بند ۴-۱ ) باید به صورتی باشد که توزیع یکنواختی از میکروارگانیزم های موجود در آزمایش به دست آید. در صورت لزوم، برای کاهش تعداد میکروارگانیزم ها در واحد حجم، رقت های اعشاری تهیه و پس از گرمخانه گذاری، رشد میکروارگانیزم ها ( در لوله ) یا شمارش کلنی ها ( در پلیت ) بررسی می شود.

**یادآوری** - در صورتی که پیش بینی شود تعداد میکروارگانیزم ها در نمونه بسیار بالاست و یا به منظور محدود کردن دامنه شمارش تا حد مجاز مورد نظر، می توان فقط رقت های اعشاری ( حداقل دو رقت متوالی ) لازم برای محاسبه و شمارش را تلقیح کرد. ( مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۵ )

## ۶ نمونه برداری

نمونه برداری باید مطابق با استاندارد های خاص هر فرآورده انجام شود. در صورتی که استاندارد خاصی موجود نباشد، توصیه می شود بر اساس نوع فرآورده میان طرفین توافق حاصل شود.

## ۷ محلول های رقیق کننده

### ۱-۷ مواد اولیه

به منظور بهبود تجدیدپذیری<sup>۱</sup> در نتایج حاصله، توصیه می شود که برای تهیه محلول رقیق کننده، از مواد تشکیل دهنده پایه خشک یا یک ترکیب کامل خشک استفاده شود و آماده سازی آن مطابق با دستورالعمل سازنده انجام شود.

مواد شیمیایی باید از کیفیت مطلوب برخوردار بوده و برای آزمایش های میکروبیولوژی مناسب باشند. آب مورد استفاده باید آب مقطر یا آبی با کیفیت مشابه ( مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۷۴۷ ) باشد.

### ۲-۷ محلول های رقیق کننده برای کاربرد کلی

#### ۱-۲-۷ محلول پپتون نمکی<sup>۲</sup>

مقدار	مواد تشکیل دهنده
۱٫۰ g	کازئین هضم شده به روش آنزیمی <sup>۳</sup>
۸٫۵ g	سدیم کلراید
۱۰۰۰ ml	آب مقطر

1- Reproducibility

2- Peptone salt solution

3- Enzymatic digest of casein

## روش تهیه:

مواد فوق را در آب مقطر حل کنید و در صورت لزوم حرارت دهید. pH را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی برابر  $7.0 \pm 0.2$  در دمای  $25^\circ\text{C}$  باشد.

### ۲-۲-۷ آب پپتونه بافری<sup>۱</sup>

مقدار	مواد تشکیل دهنده
۱۰۱۰ g	بافت حیوانی هضم شده به روش آنزیمی <sup>۲</sup>
۵۱۰ g	سدیم کلراید
۹۱۰ g	دی سدیم هیدروژن فسفات ( با ۱۲ ملکول آب )
۱۱۵ g	پتاسیم دی هیدروژن فسفات
۱۰۰۰ ml	آب مقطر

## روش تهیه:

مواد فوق را در آب مقطر حل کنید و در صورت لزوم آن را حرارت دهید. pH را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون سازی برابر  $7.0 \pm 0.2$  در دمای  $25^\circ\text{C}$  باشد.

### ۳-۷ محلول های رقیق کننده ها برای مصارف خاص

برای تهیه محلول های رقیق کننده برای کاربرد خاص به استاندارد خاص هر فرآورده مراجعه شود.

یادآوری - در استاندارد ملی ایران شماره ۲-۸۹۲۳ مقررات خاص برای تهیه محلول های رقیق کننده ارائه شده است.

### ۴-۷ توزیع و سترون سازی محلول های رقیق کننده

محلول های رقیق کننده ( بند ۲-۷ یا ۳-۷ ) را در حجم های لازم برای آماده سازی سوسپانسیون اولیه در ارلن یا بطری های با ظرفیت مناسب ( ۴-۸ ) تقسیم کنید.

محلول های رقیق کننده ( بند ۲-۷ یا ۳-۷ ) را در حجم های لازم برای آماده سازی رقت های اعشاری داخل لوله های آزمایش ( ۵-۸ ) یا بطری ها ( ۴-۸ ) بریزید به طوری که پس از سترون سازی، هر لوله یا بطری حاوی ۹۱۰ ml محلول رقیق کننده باشد. عدم قطعیت در اندازه گیری حجم نهایی پس از سترون سازی نباید بیش از  $\pm 2\%$  باشد.

1- Buffered peptone water

2- Enzymatic digest of animal tissues

در لوله ها، ارلن ها یا بطری ها را بسته و سپس آن را در اتوکلاو با دمای  $121^{\circ}\text{C}$  به مدت زمان 15 min استرون کنید.

**یادآوری** - در صورتی که چند گروه از میکروارگانیسم ها با استفاده از محیط کشت های مختلف شمارش می شوند، لازم است که تمام محلول های رقیق کننده ( یا برخی از آن ها ) در حجم های بیشتر از 9/0 ml تقسیم شوند. اندازه لوله ها و ارلن ها باید متناسب با حجم محلول رقیق کننده باشد .

## ۸ وسایل

از وسایل معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۷۴۷ و همچنین از وسایل زیر استفاده کنید:

- ۱-۸ تجهیزات استرون سازی خشک (آون<sup>۱</sup>) و مرطوب (اتوکلاو<sup>۲</sup>)
- ۲-۸ تجهیزات مخلوط کردن<sup>۳</sup>
- ۳-۸ همزن مکانیکی<sup>۴</sup>
- ۴-۸ ارلن یا بطری های درپیچ دار با حجم مناسب
- ۵-۸ لوله های آزمایش با حجم مناسب
- ۶-۸ پیپت های مدرج 1 ml و 10 ml به ترتیب با تقسیمات 0/1 ml و 0/5 ml
- ۷-۸ pH متر با قابلیت سنجش 0/01 واحد در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و دقت معادل 0/1 واحد
- ۸-۸ ترازو با قابلیت توزین 0/01 g

## ۹ آماده سازی آزمایش

آماده سازی آزمایش، آزمون و رقت های بعدی را مطابق با استانداردهای خاص هر فرآورده مانند استانداردهای ملی ایران شماره های ۲-۸۹۲۳، ۳-۸۹۲۳ و ۴-۸۹۲۳ انجام دهید.

## ۱۰ روش اجرای آزمون

۱-۱۰ آماده سازی آزمون<sup>۵</sup>، سوسپانسیون اولیه (اولین رقت)

در ظرف یا کیسه پلاستیکی استرون، مقدار  $m$  g یا  $v$  ml (حداقل 10 g یا 10 ml غیر از موارد خاص) از آزمایش را با میزان عدم قطعیت  $\pm 5\%$  وزنی یا حجمی اندازه گیری کنید. خطای اندازه گیری در موارد وزنی و

---

1- Oven  
2- Autoclave  
3- Blending equipment  
4- Mechanical stirrer  
5- Test portion

حجمی می تواند  $\pm 5\%$  باشد.

به اندازه ۹ برابر وزن یا حجم آزمایش به آن محلول رقیق کننده را بیافزائید. میزان عدم قطعیت وزنی یا حجمی می تواند  $\pm 5\%$  باشد.

**یادآوری ۱-** در برخی موارد خاص، به خصوص در مورد فرآورده هایی که سوسپانسیون اولیه آن ها به نسبت ۱ به ۹ ساخته شده است و بسیار چسبناک و غلیظ می باشند، لازم است که محلول رقیق کننده بیشتری به آن افزوده شود. این مقدار باید در عملیات بعدی، محاسبه و در بیان نتایج نیز منظور شود.

**یادآوری ۲-** گاهی بسته به نوع روش، استفاده از چنین سوسپانسیون اولیه ای باعث محدود شدن شمارش می شود. ( برای مثال در شرایطی که از روش پورپلیت که در آن ۱ ml از رقت ۰/۱ آزمون استفاده می شود و حد مجاز ۱۰ میکروارگانیزم در گرم باشد) در صورت لزوم، برای برخی از شمارش ها در فرآورده های خاص که دارای حد مجاز پایین هستند، می توان از حجم کمتری از محلول رقیق کننده استفاده کرد. البته باید توجه داشت که تلقیح چنین سوسپانسیون اولیه ای به علت ایجاد عدم تعادل در نسبت حجم تلقیح شده به محیط کشت، منجر به مشکلاتی چون بازدارندگی رشد میکروبی بر اثر افزایش غلظت ترکیبات موجود در نمونه می شود.

**یادآوری ۳-** به علت محدودیت ها و مشکلاتی که روش پورپلیت برای شمارش تعداد کم میکروارگانیزم ها دارد، توصیه می شود که در این موارد از روش MPN<sup>۱</sup> برای این موارد استفاده کنید.

به منظور پیشگیری از آسیب به میکروارگانیزم ها در اثر تغییرات ناگهانی درجه حرارت، دمای محلول رقیق کننده در حین آزمایش باید نزدیک به دمای محیط باشد. ( به جزء فرآورده های خاص که باید به استانداردهای مربوطه مراجعه شود).

مخلوط را مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۳۲۵ همگن کنید. در صورت لزوم مخلوط را حداکثر به مدت ۱۵min بگذارید تا ذرات درشت آن ته نشین شوند. از فیلتراسیون<sup>۲</sup> با کارایی مشابه نیز می توان استفاده کرد. برای شمارش اسپورها، باید سوسپانسیون اولیه را بلافاصله پس از تهیه، تحت شوک حرارتی قرار دهید ( برای مثال آن را به مدت ۱۰min در دمای ۸۰°C بگذارید ) و سپس به سرعت خنک کنید.

#### ۲-۱۰ تهیه رقت های اعشاری بعدی

با استفاده از یک پی پت سترون، ۱ml از سوسپانسیون اولیه را با عدم قطعیت اندازه گیری  $\pm 5\%$ ، به لوله های حاوی ۹ml محلول رقیق کننده سترون که دمای مناسبی دارند، منتقل کنید. رقت تهیه شده را با استفاده از یک همزن مکانیکی ( بند ۸-۳ ) به مدت ۵s تا ۱۰s مخلوط کنید. رقت به دست آمده  $10^{-2}$  می باشد. در صورت لزوم، به همین ترتیب با استفاده از رقت  $10^{-2}$  و پی پت سترون، رقت  $10^{-3}$ ،  $10^{-4}$  و رقت های بعدی را تهیه کنید تا حدی که برای شمارش میکروارگانیزم ها مناسب باشند.

1- Most Probable Number

2- Filtration

**یادآوری ۱-** اگر حجم بیشتری مورد نیاز است، حجم معینی ( بیشتر از یک میلی لیتر ) از سوسپانسیون اولیه با عدم قطعیت اندازه گیری  $\pm 5\%$  را به لوله حاوی حجم ۹ برابر محلول رقیق کننده سترون بیفزایید.

**یادآوری ۲-** برای دقت مناسب، پی پت را بیش از ۱cm داخل سوسپانسیون اولیه فرو نکنید.

**یادآوری ۳-** از تماس پی پت حاوی سوسپانسیون اولیه با محلول رقیق کننده سترون جلوگیری کنید.

### **۳-۱۰ مدت زمان آزمون**

پس از آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های اعشاری بعدی، آن ها را در مدت زمان حداکثر ۱۵min به محیط کشت تلقیح کنید. مدت زمان آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های بعدی به جزء موارد خاص، نباید از ۳۰min بیشتر شود.

**یادآوری ۱-** مدت زمان کل از زمان شروع آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت های بعدی تا تلقیح آن ها به محیط کشت نباید بیش از ۴۵ min طول بکشد.

**یادآوری ۲-** در صورت بالا بودن دمای محیط آزمایشگاه، مدت زمان های فوق باید کوتاه تر شوند.

---

**ICS: 07.100.30**

صفحة ٧

---