INSO
4806
2nd Revision
2020
Identical with
ISO 18593:
2018

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران
Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۴۸۰۶
تجدیدنظر دوم
۱۳۹۹

# میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش‌های جامع برای نمونه‌برداری از سطح

# Microbiology of the food chain- Horizontal methods for surface sampling

ICS: 13.340.10

**سازمان ملی استاندارد ایران**

تهران، ضلع جنوب غربی میدان ونک، خیابان ولیعصر، پلاک ۲۵۹۲

صندوق‌پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران- ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و ۸۸۸۸۷۱۰۳

کرج، شهر صنعتی، میدان استاندارد

صندوق پستی: ۱۶۳-۳۱۵۸۵ کرج - ایران

تلفن: ۸-۳۲۸۰۶۰۳۱ (۰۲۶)

دورنگار: ۳۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶)

رایانامه: standard@isiri.gov.ir

وبگاه: http: //www.isiri.gov.ir

**Iranian National Standardization Organization (INSO)**

No. 2592 Valiasr Ave., South western corner of Vanak Sq., Tehran, Iran

P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran

Tel: + 98 (21) 88879461-5

Fax: + 98 (21) 88887080, 88887103

Standard Square, Karaj, Iran

P.O. Box: 31585-163, Karaj, Iran

Tel: + 98 (26) 32806031-8

Fax: + 98 (26) 32808114

Email: standard@isiri.gov.ir

Website: http: //www.isiri.gov.ir

## به نام خدا

## آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

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

تدوین استاندارد در حوزه‌های مختلف در کمیسیون‌های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب‌نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و واردکنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیردولتی حاصل می‌شود. پیش‌نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون‌های مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان‌های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیته ملی طرح، بررسی و درصورت تصویب، به‌عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد (ISO)[1]، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)[3] است و به‌عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن تـوجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کند. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدور گواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز واسنجی (کالیبراسیون) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد این‌گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج دستگاه بین‌المللی یکاها، واسنجی وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

---

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legals)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

## کمیسیون فنی تدوین استاندارد

## «میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش‌های جامع برای نمونه‌برداری از سطح»

| **رئیس:** | **سمت و/یا محل اشتغال:** |
|---|---|
| نورالهی، زهره<br>(دکتری تکنولوژی صنایع غذایی) | دانشگاه شهید باهنر کرمان- دانشکده کشاورزی |
| **دبیر:** | |
| حکاک زاده، ستاره<br>(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی) | اداره کل استاندارد استان کرمان |
| **اعضا:** (اسامی به ترتیب حروف الفبا) | |
| امینی، جاوید<br>(دکتری میکروبیولوژی) | دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات |
| ایرانمنش، زهرا<br>(کارشناسی میکروبیولوژی) | شرکت صنایع شیر پاستوریزه پگاه کرمان (سهامی خاص) |
| پاشاپور، رقیه<br>(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی) | عضو مستقل |
| تاج‌الدینی، سمانه<br>(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی) | آزمایشگاه همکار ایرانیان غذا آزما (سهامی خاص) |
| حافظی اردکانی، پرتو<br>(کارشناسی شیمی کاربردی) | اداره کل استاندارد استان کرمان |
| خوشخو، علی<br>(کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی) | سازمان ملی استاندارد ایران- دفتر نظارت بر استاندارد صنایع غذایی، آرایشی، بهداشتی و حلال |
| دامن‌کشان، بهاره<br>(کارشناسی ارشد فیزیولوژی) | سازمان جهاد کشاورزی- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی |
| دهقانی، فاطمه<br>(کارشناسی شیمی) | اداره کل استاندارد استان کرمان |

| **اعضا:** (اسامی به ترتیب حروف الفبا) | **سمت و/یا محل اشتغال:** |
|---|---|
| روحانی، منیر<br>(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی) | سازمان جهاد کشاورزی استان کرمان |
| شیخ، مصطفی<br>(کارشناسی بهداشت مواد غذایی) | شرکت پارسان دی سمبل (سهامی خاص) |
| طهماسبی آرش‌لو، حلیمه<br>(کارشناسی شیمی کاربردی) | کارشناس استاندارد |
| غلامحسین‌زاده، سمیه<br>(کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی) | کارشناس استاندارد |
| مولوی، لیلا<br>(کارشناسی ارشد محیط زیست) | شرکت محیط اندیشان سبز (سهامی خاص) |
| قلعه خانی صفات، عباس<br>(کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی) | دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کرمان- معاونت غذا و دارو |
| کاکوئی، حسین<br>(دکتری صنایع غذایی) | سازمان غذا و دارو- اداره کل فرآورده های غذایی و آشامیدنی |
| نقوی، ستوده<br>(کارشناسی شیمی) | آزمایشگاه پویا سنجش کیفیت (سهامی خاص) |
| **ویراستار:** | |
| رشیدی، لادن<br>(دکتری تخصصی مهندسی شیمی-بیوتکنولوژی) | پژوهشگاه استاندارد- پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده های کشاورزی |

## فهرست مندرجات


| عنوان | صفحه |
|---|---|
| پیش‌گفتار | ح |
| مقدمه | ط |
| ۱ هدف و دامنه کاربرد | ۱ |
| ۲ مراجع الزامی | ۱ |
| ۳ اصطلاحات و تعاریف | ۲ |
| ۴ اصول | ۳ |
| ۵ محیط‌های کشت و شناساگرها | ۳ |
| ۵-۱ رقیق‌کننده | ۳ |
| ۵-۲ محیط کشت برای پلیت تماسی | ۴ |
| ۵-۳ خنثی‌کننده | ۴ |
| ۶ خنثی‌کننده | ۴ |
| ۷ روش اجرایی نمونه‌برداری | ۵ |
| ۷-۱ کلیات | ۵ |
| ۷-۲ مکان نمونه‌برداری | ۶ |
| ۷-۳ ناحیه نمونه‌برداری | ۶ |
| ۷-۴ زمان و تناوب نمونه‌برداری | ۷ |
| ۷-۵ فنون نمونه‌برداری | ۷ |
| ۷-۵-۱ کلیات | ۷ |
| ۷-۵-۲ روش پلیت تماسی | ۸ |
| ۷-۵-۳ روش سوآب | ۸ |
| ۷-۵-۴ روش اسفنج/پارچه | ۹ |
| ۸ انبارش و انتقال | ۱۰ |
| ۸-۱ پلیت تماسی | ۱۰ |
| ۸-۲ سوآب، اسفنج/پارچه | ۱۰ |
| ۹ تجزیه و تحلیل میکروب‌شناسی نمونه‌ها | ۱۱ |
| ۹-۱ روش پلیت تماسی | ۱۱ |
| ۹-۲ روش سوآب/ پارچه/اسفنج | ۱۱ |
| ۱۰ بیان نتایج و محاسبات | ۱۱ |
| ۱۰-۱ کلیات | ۱۱ |
| ۱۰-۲ روش پلیت تماسی | ۱۱ |

**عنوان** **صفحه**

۱۰-۳ روش سوآب یا پارچه/ اسفنج ۱۲
۱۱ گزارش آزمون ۱۲
پیوست الف (آگاهی‌دهنده) خنثی‌کننده‌ها ۱۳
کتاب‌نامه ۱۵

## پیش‌گفتار

استاندارد «میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش‌های جامع برای نمونه‌برداری از سطح» که نخستین‌بار در سال ۱۳۷۸ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهای دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی/منطقه‌ای به‌عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد الف، بند ۷، استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ برای دومین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در پانصد و چهل و ششمین اجلاسیه کمیتهٔ ملی استاندارد میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۹۹/۷/۲ 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، به‌عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ (استانداردهای ملی ایران- ساختار و شیوهٔ نگارش) تدوین می‌شوند. برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در صورت لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۴۸۰۶ :سال ۱۳۸۶ می‌شود.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به روش «معادل یکسان» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی می‌باشد و معادل یکسان استاندارد بین‌المللی مزبور است:

ISO 18593: 2018, Microbiology of the food chain- Horizontal methods for surface sampling

## مقدمه

تعیین حضور یا تعداد میکروب‌ها روی سطوح ظروف، سطوح کاری و سایر تجهیزات در محیط‌های تولید مواد غذایی، به‌منظور تخمین سطح آلودگی در محیط‌های تولید مواد غذایی امری مهم است.

این استاندارد، روش‌های جامع[1] برای نمونه‌برداری از سطوح را توصیف می‌کند.

1 - Horizontal methods

# میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش‌های جامع برای نمونه‌برداری از سطح

## ۱ هدف و دامنهٔ کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش‌های جامع برای فنون نمونه‌برداری با استفاده از پلیت‌های تماسی[۱]، سوآب‌ها[۲]، اسفنج‌ها[۳] و پارچه‌ها روی سطوح در محیط‌های تولید مواد غذایی، به‌منظور شناسایی و شمارش میکروارگانیسم‌های[۴] قابل کشت مثل باکتری‌های بیماری‌زا یا غیربیماری‌زا یا مخمرها و کپک‌ها است.

**یادآوری**- اصطلاح «محیط[۵]» به هر عاملی مانند مواد، محوطه ساختمان، کارکنان گفته می‌شود که با فرآورده مواد غذایی در تماس بوده یا احتمال دارد که منبع آلودگی یا آلودگی ثانویه باشد.

این استاندارد برای اعتبارسنجی روش‌های تمیزکاری و گندزدایی[۶] کاربرد ندارد.

این استاندارد برای فنون نمونه‌برداری برای نمونه‌های فرآورده اولیه تحت پوشش استاندارد ISO 13307 هستند، کاربرد ندارد. فنون نمونه‌برداری برای لاشه‌های حیوانات تحت پوشش استاندارد ISO 17604 هستند. فنون نمونه‌برداری برای تجزیه نورو‌ویروس‌ها[۷] و ویروس‌های هپاتیت نوع A در استاندارد ISO 15216-1 پوشش داده شده‌اند.

این استاندارد در مورد تناوب نمونه‌برداری، تعداد نقاط نمونه‌برداری، یا نیاز به چرخش نقاط نمونه‌برداری توصیه‌ای ارائه نمی‌کند، زیرا این موارد بر مبنای مورد به مورد انتخاب می‌شوند.

## ۲ مراجع الزامی

در مراجع زیر ضوابطی وجود دارد که در متن این استاندارد به‌صورت الزامی به آن‌ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب، آن ضوابط جزئی از این استاندارد محسوب می‌شوند.

درصورتی‌که به مرجعی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن برای این استاندارد الزام‌آور نیست. در مورد مراجعی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی برای این استاندارد الزام‌آور است.

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است:

---

1- Contact plates
2- Stick swabs
3- Sponge
4- Microorganisms
5- Environmen
6- Disinfection
7- Noroviruses

**2-1** ISO 6887-1, Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۲۳ (تجدیدنظر اول): سال ۱۳۹۷، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی- قسمت ۱: مقررات کلی برای آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری، با استفاده از استاندارد ISO 6887-1: 1999 تدوین شده است.

**2-2** ISO 6887-5, Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 5: Specific rules for the preparation of milk and milk products

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۵-۸۹۲۳: سال ۱۳۹۰، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- آماده‌سازی آزمایه- سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی- قسمت ۵: مقررات ویژه برای آماده‌سازی شیر و فراورده‌های آن، با استفاده از استاندارد ISO 6887-5: 2010 تدوین شده است.

**2-3** ISO 7218, Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۹۸۹۹ (تجدیدنظر اول): سال ۱۳۹۴، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- الزامات کلی و راهنما برای آزمون‌های میکروبیولوژی، با استفاده از استاندارد ISO 7218: 2007 تدوین شده است.

**2-4** ISO 11133, Microbiology of food, animal feed and water – Preparation, production, storage and performance testing of culture media

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۸۶۶۳: سال ۱۳۹۴، میکروبیولوژی مواد غذایی، خوراک دام و آب- آماده‌سازی، ساخت، ذخیره‌سازی و آزمون عملکرد محیط‌های کشت، با استفاده از استاندارد ISO 11133: 2014 تدوین شده است.

**2-5** ISO 16140-2, Microbiology of the food chain – Method validation – Part 2: Protocol for the validation of alternative (proprietary) methods against a reference method

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۵۲۷: سال ۱۳۹۶، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- صحه‌گذاری روش‌ها- قسمت ۲: پروتکل صحه‌گذاری روش جایگزین (اختصاصی) در برابر یک روش مرجع، با استفاده از استاندارد ISO 16140-2: 2016 تدوین شده است.

## ۳ اصطلاحات و تعاریف

این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف ندارد.[۱]

۱- اصطلاحات و تعاریف به‌کار رفته در استانداردهای ISO و IEC در وبگاه‌های www.iso.org/obp و www.electropedia.org/ قابل‌دسترس است.

## ۴ اصول

هدف طرح‌های نمونه‌برداری، ارزیابی میزان آلودگی میکروبی سطوح در محیط‌های تولید مواد غذایی، به‌منظور اجرای عملیات اصلاحی برای جلوگیری از آلودگی غذا توسط میکروارگانیسم‌ها است. برنامه‌ها یا فنون نمونه‌برداری غیرموثر ممکن است منجر به عدم شناسایی میکروارگانیسم‌های موجود شود.

این استاندارد، روش‌های نمونه‌برداری از سطح برای شناسایی یا شمارش میکروارگانیسم‌های موجود در سطوح در محیط‌های تولید مواد غذایی را توصیف می‌کند. فنون نمونه‌برداری مختلف شامل پلیت‌های تماسی، سوآب‌ها، پارچه‌ها و اسفنج‌ها توصیف شده‌اند.

این استاندارد همچنین توصیه‌هایی در مورد مکان‌ها و نواحی مورد نمونه‌برداری و مناسب‌ترین زمان نمونه‌برداری ارائه می‌کند.

مطابق با وسایل[1] و میکروارگانیسم‌های مورد شناسایی یا شمارش، تعیین آلودگی میکروبی سطح می‌تواند به دو صورت زیر انجام شود:

- نمونه‌برداری از سطح؛ و
- تجزیه و تحلیل مطابق با استانداردهای مشخص شده.

## ۵ محیط‌های کشت و شناساگرها

از شیوه آزمایشگاهی رایج تعیین شده در استاندارد ISO 7218 پیروی کنید. از آزمون عملکردی محیط‌های کشت، که در استاندارد ISO 11133 مشخص شده است، پیروی کنید.

### ۵-۱ رقیق‌کننده

به‌طور کلی، رقیق‌کننده مورد استفاده شامل آب پپتونه بافری[2] سترون، پپتون نمکی مشخص شده در استاندارد ISO 6887-1، محلول پپتون با غلظت ۱g/l یا محلول رینگر[3] (رقیق شده به نسبت یک به چهار) مشخص شده در استاندارد ISO 6887-1، به همراه خنثی‌کننده‌هایی طبق(زیربند ۵-۳) که در صورت لزوم اضافه می‌شوند، است.

**یادآوری**- یک رقیق‌کننده انتقال مناسب که به‌طور مناسب اعتبارسنجی شده باشد، را می‌توان برای زمان انتقال بلند مدت اضافه کرد.

1- Device
2- Buffered peptone water
3- Ringer’s solution

### ۵-۲ محیط کشت برای پلیت تماسی

مطابق با سطحی که نمونه‌برداری از آن انجام می‌شود، ممکن است قطر یا سطح پلیت‌ها طبق(زیربند ۶-۱) متفاوت باشند. محیط کشت، مطابق با روش استانداردهای ISO برای میکروارگانیسم‌های مورد نظر انتخاب می‌شود به همراه خنثی‌کننده‌هایی طبق(زیربند ۵-۳) که در صورت لزوم به آن اضافه می‌شوند. محیط کشت باید یک سطح محدب با پلیت تماسی ایجاد کند.

فرمول‌بندی‌های جایگزین محیط‌های کشت باید با مطالعه اعتبارسنجی، همان‌گونه که در استاندارد ISO 16140-2 مشخص شده است، پشتیبانی شوند.

### ۵-۳ خنثی‌کننده

در مواردی که احتمال باقی ماندن ضدعفونی‌کننده‌ها وجود دارد، بهتر است قبل از نمونه‌برداری، خنثی‌کننده‌های مناسبی به محلول رقیق‌کننده طبق(زیربند ۵-۱) و محیط‌های کشت طبق(زیربند ۵-۲) افزوده شود تا از هر گونه اثر بازدارندگی ضدعفونی‌کننده‌ها بر رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری شود.

هنگامی‌که هیچ ضدعفونی‌کننده‌ای باقی نمانده است، خنثی‌کننده را به محلول رقیق‌کننده اضافه نکنید [۹]. خنثی‌کننده‌ای که برای از بین بردن اثر ضدعفونی‌کننده باقیمانده استفاده می‌شود، ممکن است کمی اثر مضر روی سلول‌های باکتری داشته باشد و این احتمال وجود دارد که چنین اثری در هنگامی‌که سلول‌ها در معرض تنش قرار می‌گیرند، بیشتر گردد.

نمی‌توان یک خنثی‌کننده مناسب برای تمام شرایط «یک خنثی‌کننده عمومی» را توصیه کرد [۹]. تعدادی از خنثی‌کننده‌ها در استانداردهای EN1276، EN1650، EN13697 و EN13704 توصیه شده‌اند.

برای مثال‌هایی از خنثی‌کننده‌ها به پیوست **الف** مراجعه شود.

## ۶ تجهیزات و ظروف مصرفی

ظروف یکبار مصرف سترون با ویژگی‌های مشابه می‌تواند جایگزین ظروف شیشه‌ای قابل استفاده مجدد شود.

تجهیزات معمول آزمایشگاه میکروبیولوژی مطابق با استاندارد ISO 7218، به‌صورت زیر هستند:

**۶-۱ پلیت تماسی**، ظرف پلاستیکی با قطر متغیر است.

**یادآوری**- همچنین این امکان وجود دارد که از هر ظرف انعطاف‌پذیر یا غیرقابل انعطاف دیگری که تماس با سطح مورد نمونه‌برداری را ممکن می‌کند، استفاده شود.

**۶-۲ سوآب سترون**، میله‌هایی از جنس پنبه یا مواد مصنوعی (از قبیل آلژینات یا ابریشم مصنوعی) که در یک لوله یا پوشش سترون قرار گرفته‌اند. مواد مورد استفاده در سوآب، باید عاری از مواد بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها باشد.

**یادآوری**- دقت کنید در بعضی از انواع سطوح، باقیمانده پنبه می‌تواند قسمت‌های داخلی این سطوح را بعد از نمونه‌برداری آلوده کند.

**۶-۳ پارچه سترون**، عاری از مواد بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها باشد.

**۶-۴ اسفنج با یا بدون میله یا دسته سترون**، عاری از مواد بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها باشد.

**۶-۵ ظروف**، مثل بطری‌ها، لوله‌ها یا ارلن‌های مناسب برای سترون‌سازی و انبارش محیط‌های کشت هستند.

**۶-۶ جعبه خنک**[1]**، خنک‌کننده**[2]، جعبه عایق‌بندی شده حاوی کیسه‌های یخ با قابلیت نگهداری نمونه‌ها در دمای پایین در حین انتقال به آزمایشگاه است.

**۶-۷ مخلوط‌کن**، برای مخلوط کردن مایعات در لوله‌های کشت برای مثال مخلوط‌کن مدل ورتکس[3] است.

**۶-۸ همگن‌کننده ضربه‌ای**[4]، با کیسه‌های پلاستیکی سترون برای آماده‌سازی سوسپانسیون‌های اولیه توسط حرکت ضربه‌ای است.

**۶-۹ ظروف پتری**، ساخته شده از پلاستیک یا شیشه است.

**۶-۱۰ قالب**[5] **سترون یکبار مصرف یا چند بار مصرف**، دربرگیرنده یک سطح خاص است.

## ۷ روش اجرایی نمونه‌برداری

### ۷-۱ کلیات

مکان‌ها و نواحی نمونه‌برداری، زمان‌های نمونه‌برداری و روش‌های نمونه‌برداری بهتر است، مطابق با اصول مبتنی بر ریسک انتخاب شوند و باید متناسب با احتمال بالاتر شناسایی سطوح آلوده در طی فرآوری مواد غذایی (هنگام ارزیابی بهداشت مراحل ویژه تولید یا در صورت لزوم کل فرآیند تولید) باشند، همیشه یک روش نمونه‌برداری یکسان را برای یک روال خاص حفظ کنید تا روند بررسی داده‌ها امکان‌پذیر باشد.

1- Cool box
2- Cooler
3- Vortex mixer
4- Peristaltic blender
5- Template

### ۷-۲ مکان نمونه‌برداری

میکروارگانیسم‌ها می‌توانند روی سطوحی که تمیز دیده می‌شوند، یافت شوند اما اغلب در مکان‌های مرطوب و کثیف، جایی‌که باکتری‌ها قادر به رشد و بقا هستند، یافت می‌شوند. مکان‌هایی که دسترسی به آن‌ها دشوار است مانند سوراخ‌ها یا شکاف‌های موجود در تجهیزات الیافی، خلل و فرج‌دار یا تجهیزاتی که به سختی قابل تمیز کردن هستند و مواد قابل زنگ زدن و توخالی مکان‌های بالقوه نمونه‌برداری هستند.

نمونه‌برداری از مکان‌های غیرقابل دسترسی که باقی مانده‌های غذا می‌توانند در آن مکان‌ها جمع شوند دشوار است. برای نمونه‌برداری از این مکان‌ها باید آب‌کشی با محلول استریل انجام شود.

انتخاب مکان نمونه‌برداری باید مطابق با سوابق قبلی مرتبط با هر مکان و بعد از بررسی مرحله به مرحله فرایند مشخص شود.

یک فهرست غیرکامل از مکان‌های بالقوه نمونه‌برداری، در زیر ارائه شده است:

- سطوح در تماس با مواد غیرغذایی: آب‌روها، کف‌ها، حوضچه‌های آب‌رو کف، وسایل نظافت، محل‌های شستشو، افزاره توزین تعبیه شده درکف، شیلنگ‌ها، غلتک‌های توخالی نوار نقاله‌ها، نوارنقاله‌ها، بدنه تجهیزات، پانل‌های داخلی تجهیزات، ظروف قطره‌ای میعانات، جراثقال چنگک‌دار، کامین‌های دستی، واگن برقی، چرخ‌های واگن برقی، سطل‌های زباله، فریزرها، دستگاه‌های یخ‌ساز، پره‌های خنک‌کننده در دستگاه-های کندانسور، دیوارها، سقف‌ها، نقاط سرد جایی‌که آب متراکم می‌شود، عایق مرطوب در دیوارها یا اطراف لوله‌ها، واحدهای خنک‌کننده، درزگیرهای لاستیکی اطراف درها (خصوصاً در کولرها)، جاروبرقی‌ها، دستگیره‌های در و شیرها.
- سطوح در تماس با مواد غذایی: تسمه‌نقاله‌ها، برش‌دهنده‌ها[1]، تخته‌های برش مواد غذایی[2]، قیف‌ها، رنده-ها[3]، مخلوط‌کن‌ها، پوست‌کن‌ها، دستگاه‌های مونتاژ شده، تجهیزات پرکننده و بسته‌بندی‌کننده، سایر ظروف و وسایل، مخازن، دستکش‌ها و دست‌ها.

### ۷-۳ ناحیه نمونه‌برداری

یک ناحیه تعیین شده از سطح مورد آزمون، باید شناسایی شود. بسیار مهم است که آزمایشگاه نمونه‌ای دریافت کند که معرف سطح مورد نظر برای نمونه‌برداری باشد. این ناحیه همیشه با یک اندازه عددی مشخص نمی‌شود.

اگر این ناحیه توسط یک اندازه عددی مشخص نشود، ناحیه موردبرداری باید به وضوح توصیف شود.

اگر این ناحیه توسط یک اندازه عددی مشخص شود، از توصیه‌های زیر پیروی کنید.

---

1- Slicers
2- Dicers
3- Shredders

برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها، هنگامی‌که این نواحی قابل دسترس هستند، ناحیه کلی مورد نمونه‌برداری باید تا حد امکان بزرگ باشد تا احتمال شناسایی میکروارگانیسم‌ها را افزایش دهد. در این مورد، پیشنهاد شده است در صورت امکان، تا نمونه‌برداری بین ۱۰۰۰ $cm^2$ و ۳۰۰۰ $cm^2$ (۰٫۱ $m^2$ تا ۰٫۳ $m^2$) انجام شود.

برای شمارش میکروارگانیسم‌ها، نیازی نیست که ناحیه مورد نظر خیلی بزرگ باشد. برای مثال کوچک‌تر مساوی ۱۰۰ $cm^2$ مناسب است.

### ۴-۷ زمان و تناوب نمونه‌برداری

نمونه‌برداری می‌تواند یا در حین یا بعد از تولید یا بعد از تمیزکاری و گندزدایی انجام شود. زمان نمونه‌برداری باید در روش اجرایی نمونه‌برداری هر تولیدکننده، بسته به هدف نمونه‌برداری تعیین شود.

اگر نمونه‌برداری‌ها بلافاصله بعد از تمیزکاری و گندزدایی انجام شوند، شناسایی میکروارگانیسم‌های خاص می‌تواند دشوار باشد. سلول‌ها در اثر آسیب ناشی از مواد شیمیایی مورد استفاده برای تمیزکاری و گندزدایی، ممکن است هنوز زنده باشند اما غیرقابل کشت می‌شوند و ممکن است به آسانی قابل شناسایی نباشند. برای افزایش احتمال شناسایی این میکروارگانیسم‌ها، نمونه‌برداری باید یا در حین تولید: بعد از گذشت حداقل ۲ h از تولید یا در انتهای فرایند تولید (برای مثال قبل از تمیزکاری و گندزدایی) انجام شود.

اگر نمونه‌برداری به‌صورت روزانه انجام نمی‌شود، بهتر است همیشه در روزهای یکسانی از هفته انجام نشود. از آنجا که تعمیر تجهیزات، یا ساخت و افزایش ظرفیت تولید می‌توانند خطر آلودگی میکروبی را افزایش دهند، برداشت نمونه‌های سطحی بعد از این فرآیندها می‌تواند مناسب باشد.

بهتر است نمونه‌برداری اغلب در نواحی انجام شود که در آنجا محصول غذایی در معرض آلودگی قرار می‌گیرد، اما نمونه‌برداری در نواحی که در معرض آلودگی نیست (نواحی انبارش) ممکن است شایان توجه باشد.

### ۵-۷ فنون نمونه‌برداری

#### ۱-۵-۷ کلیات

روش پلیت تماسی تنها قابل به‌کارگیری برای سطوح صاف است، درحالی‌که روش‌های دیگر می‌توانند برای تمام انواع سطوح مورد استفاده قرار گیرند.

برای نمونه‌برداری از نواحی کوچک با قابلیت دسترسی دشوار (کوچک‌تر یا مساوی ۱۰۰ $cm^2$)، بهتر است از سوآب‌های سترون استفاده شود.

برای نمونه‌برداری از سطوح بزرگ (بیشتر از ۱۰۰ $cm^2$)، بهتر است از پارچه‌ها یا اسفنج‌های سترون استفاده شوند.

بعد از نمونه‌برداری، در صورت لزوم سطح تمیز و/یا ضدعفونی می‌شود تا بقایای مواد غذایی، رطوبت، عناصر شیمیایی یا فیزیکی ناشی از روش نمونه‌برداری که روی سطح نمونه‌برداری شده باقی مانده‌اند زدوده شوند. این امر می‌تواند با دستمال‌های سترون مرطوب شده با الکل انجام شود.

### ۷-۵-۲ روش پلیت تماسی

سطح آگار[1] پلیت تماسی را به‌طور محکم و بدون هیچ حرکت جانبی روی سطح مورد آزمون، فشار دهید. تثبیت زمان (برای مثال ۱۰ s) و فشار (برای مثال با یک جرم ۵۰۰ g) تکرارپذیری نتایج را بهتر خواهد کرد. بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، در پلیت تماسی را بسته و آن را درون ظرف انتقال قرار دهید.

از روش پلیت تماسی برای روش‌های کیفی استفاده نکنید.

### ۷-۵-۳ روش سوآب

#### ۷-۵-۳-۱ کلیات

بهتر است از سوآب برای نمونه‌برداری از مکان‌های کوچک با قابلیت دسترسی دشوار استفاده شود (برای مثال داخل غلتک‌های توخالی یا جایگاه موتورها). توصیه شده است که از قالب‌های یکبار مصرف سترون برای جلوگیری از انتقال آلودگی و/یا ترکیبات گندزدا استفاده شود. اندازه ناحیه نمونه‌برداری شده باید تقریبا شناخته شده باشد و/یا مکان مورد نظر به‌خوبی شرح داده شود.

درصورتی‌که ناحیه مورد نمونه‌برداری مرطوب باشد، می‌توان از یک سوآب خشک استفاده کرد، مگر این‌که خنثی‌کننده‌ها مورد نیاز باشند. درصورتی‌که ناحیه مورد نمونه‌برداری خشک باشد، سوآب مرطوب باید استفاده شود، درصورتی‌که نتوان رطوبت را از ناحیه فرآوری حذف کرد. به‌منظور افزایش ترمیم میکروارگانیسم‌ها، بهتر است که از سوآب‌های مرطوب استفاده شود.

#### ۷-۵-۳-۲ سوآب مرطوب

برای استفاده از یک سوآب مرطوب، سر سوآب را پس از خارج کردن از پوشش سترون، در یک لوله حاوی رقیق‌کننده/خنثی‌کننده غوطه‌ور کنید. سپس سر سوآب را به‌طور چرخشی روی دیوارهٔ لوله فشار دهید تا محلول رقیق‌کننده/خنثی‌کننده اضافی آن خارج شود. سر پنبه‌ای سوآب را روی سطح مورد بررسی قرار داده و درحالی‌که آن‌را بین انگشت شست و سبابه گرفته‌اید آن را در دو جهت عمود بر هم در سطح تقریبی، به طور مثال کوچک‌تر یا مساوی ۱۰۰ $cm^2$، بغلتانید. برای سطوح صاف، نمونه‌برداری باید به‌صورت افقی و عمودی، برای مثال ۱۰ مرتبه در هر جهت انجام شود. برای سطوح کوچک با قابلیت دسترسی دشوار، اطمینان حاصل کنید که نمونه‌برداری از کل مکان توصیف شده شامل شکاف‌ها، فضاهای خالی، اتصالات

1- Agar surface

سطحی و غیره انجام شود. سوآب را به لوله حاوی رقیق‌کننده/خنثی‌کننده برگردانید. اطمینان حاصل کنید که در لوله بسته است، به این ترتیب سوآب تا زمان تجزیه مرطوب باقی می‌ماند.

### ۷-۵-۳-۳ سوآب خشک

برای استفاده از یک سوآب خشک، سر سوآب را پس از خارج کردن از پوشش سترون روی سطح مورد آزمون قرار داده و درحالی‌که آن را بین انگشت شست و سبابه گرفته‌اید در دو جهت عمود بر هم در سطح تقریبی، به طور مثال کوچک‌تر یا مساوی ۱۰۰ $cm^2$، بغلتانید. برای سطوح صاف، نمونه‌برداری باید به‌صورت افقی و عمودی، برای مثال ۱۰ مرتبه در هر جهت انجام شود. برای سطوح کوچک با قابلیت دسترسی دشوار، اطمینان حاصل کنید که از کل مکان توصیف شده شامل شکاف‌ها، جاهای خالی، اتصالات سطحی و غیره نمونه‌برداری شده است. سوآب میله‌ای را به لوله برگردانید. اطمینان حاصل کنید که در لوله تا زمان آنالیز بسته است.

### ۷-۵-۴ روش اسفنج/پارچه

#### ۷-۵-۴-۱ کلیات

برای نمونه‌برداری از سطوح بزرگ بهتر است از اسفنج یا پارچه استفاده کرد. برخلاف سوآب، آن‌ها می‌توانند خیلی محکم روی سطوح مالیده شوند و شدیدا جاذب هستند. بهتر است اسفنج/پارچه با مقدار کافی از رقیق‌کننده/خنثی‌کننده (به‌گونه‌ای که آب اضافی نداشته باشد) مرطوب شود. درصورتی‌که ناحیه نمونه-برداری مرطوب باشد، می‌توان از یک اسفنج/پارچه خشک استفاده کرد مگر این‌که نیاز به خنثی‌کننده‌ها باشد. درصورتی‌که ناحیه نمونه‌برداری خشک باشد، باید اسفنج/پارچه مرطوب استفاده شود، مگر آنکه رطوبت را نتوان از ناحیه فرآوری زدود. به‌منظور افزایش ترمیم میکروارگانیسم‌ها، بهتر است که از اسفنج/پارچه مرطوب استفاده شود.

#### ۷-۵-۴-۲ اسفنج/پارچه مرطوب

ظرف یا پوشش پلاستیکی حاوی اسفنج/پارچه را باز کنید. اسفنج/پارچه را به‌طور مثال با استفاده از پنس سترون یا با دستکش سترون، یا با گرفتن اسفنج/پارچه از درون پوشش خارج کنیدو پوشش را به طور واژگون روی دست بکشید. از سطح انتخابی در دو جهت افقی و عمودی با استفاده از فشار ثابت و یکنواخت نمونه‌برداری کنید، سطح وجوه اسفنج/پارچه را تغییر دهید و اطمینان حاصل کنید که از کل ناحیه نمونه-برداری شده است. اسفنج/پارچه را به ظرف یا کیسه پلاستیکی برگردانید و اطمینان حاصل کنید که تا زمان آنالیز یا آزمون، مرطوب باقی می‌ماند. اگر از خنثی‌کننده‌ها استفاده می‌شود، بلافاصله بعد از نمونه‌برداری آب اسفنج را بفشارید و اجازه دهید در محلول رقیق‌کننده به همراه خنثی‌کننده‌ها خیس بخورد تا کاملاً با ضدعفونی‌کننده واکنش دهد. ظرف یا پوشش پلاستیکی را طوری ببندید که اطمینان حاصل شود به هیچ وجه نشتی نداشته باشد.

### ۷-۵-۴-۳ اسنفج/پارچه خشک

ظرف یا پوشش پلاستیکی حاوی اسفنج/پارچه را باز کنید. اسفنج/پارچه را به‌طور مثال با استفاده از پنس سترون یا با دستکش سترون، یا با گرفتن اسفنج/پارچه از درون پوشش خارج کنید و پوشش را به‌طور واژگون روی دست بکشید از سطح انتخابی در دو جهت افقی و عمودی با استفاده از فشار ثابت و یکنواخت نمونه‌برداری کنید، سطح وجوه اسفنج/پارچه را تغییر دهید و اطمینان حاصل کنید که از کل ناحیه نمونه-برداری شده است. اسفنج/پارچه را به ظرف یا کیسه پلاستیکی برگردانید ظرف یا پوشش پلاستیکی را طوری ببندید که اطمینان حاصل شود هیچ‌گونه آلودگی سرتاسری رخ ندهد.

## ۸ انبارش و انتقال

### ۸-۱ پلیت تماسی

بهتر است فاصله زمانی بین نمونه‌برداری و انجام آزمون تا حد امکان کوتاه باشد. بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، نمونه‌ها در ظروف انتقال عایق‌بندی شده در دمای $^{\circ}C$ ۱ تا $^{\circ}C$ ۸ طوری قرار داده می‌شوند که هیچ‌گونه آلودگی نتـواند رخ دهد و سپس در دمای $^{\circ}C$ ۱ تا $^{\circ}C$ ۸ انتقال داده می‌شوند. بهتر است نمونه‌ها طی مدت h ۴۸ پس از نمونه‌برداری گرم‌خانه‌گذاری[1] شوند.

به نوبت، نمونه‌ها می‌تواننـد به‌منظور حفظ دمای ثابت، در ظروف حمل عایق‌بندی شده انتقال داده شـوند، به‌گونه‌ای که هیـچ‌گونه آلودگی نتواند رخ دهد. بهتر است نمونه‌ها طی مدت h ۴۸ پس از نمونه‌برداری گرم-خانه‌گذاری شوند، در صورت لزوم می‌توان مدت زمان از نمونه‌برداری تا گرم‌خانه‌گذاری به‌عنوان قسمتی از زمان گرم‌خانه‌گذاری، در نظر گرفته شود.

### ۸-۲ سوآب میله‌ای، اسفنج/پارچه

بهتر است فاصله زمانی بین نمونه‌برداری و انجام آزمون تا حد امکان کوتاه باشد. بهتر است نمونه‌ها قبل از قرارگیری در داخل ظروف انتقال عایق‌بندی شده، ترجیحاً خنک شوند و در دمای $^{\circ}C$ ۱ تا $^{\circ}C$ ۸ انتقال داده شوند. بهتر است نمونه‌ها ترجیحاً طی مدت h ۲۴ پس از نمونه‌برداری مورد بررسی قرار بگیرند.

اگر آزمون بعد از دریـافت نمونه در آزمایشـگاه، با تاخیر انجـام شود، نمونه‌ها باید در دمای $^{\circ}C$ (۲ ± ۳) و برای مدت بیشینه h ۴۸ پس از نمونه‌برداری نگه‌داری شوند.

1- Incubated

## ۹ تجزیه و تحلیل میکروب‌شناسی نمونه‌ها

### ۹-۱ روش پلیت تماسی

پلیت‌های تماسی را مطلبق با نوع میکروارگانیسم‌هایی که باید شمارش شوند، با استفاده از استاندارد بین-المللی مناسب گرم‌خانه‌گذاری کنید. بعد از گرم‌خانه گذاری، با شمارش تعداد کلنی‌های رشد کرده، تخمینی از آلودگی سطحی به‌دست می‌آید.

### ۹-۲ روش سوآب / پارچه/اسفنج

به مقدار کافی محلول رقیق‌کننده/محیط مایع غنی‌کننده اضافه کنید تا افزاره را بپوشاند. حجم دقیق باید معلوم باشد. مثال‌هایی از حجم‌های مورد استفاده برای رقیق سازی، ۹ ml تا ۱۰ ml برای سوآب‌ها، ۹۰ ml تا ۱۰۰ ml برای اسفنج‌ها و ۲۲۵ ml برای پارچه‌ها است. محتویات را به‌طور کامل با دست یا ماساژ مکانیکی اسفنج/پارچه یا ورتکس سوآب میله‌ای، همگن کنید.

برای شمارش، این معرف سوسپانسیون اولیه است.

برای شمارش (گروهی از) میکروارگانیسم‌هایی که باید در آزمایشگاه مورد آزمون قرار گیرند، سوسپانسیون اولیه و در صورت لزوم رقت‌های اعشاری دیگری را می‌توان برای تعیین تعداد میکروارگانیسم‌ها به دنبال روش‌های شرح داده شده در مجموعه استانداردهای بین‌المللی ISO 6887، بسته به محیط زنجیره غذایی مورد استفاده قرار داد. مطابق با استاندارد بین المللی ISO 7218، بیشینه تعداد کلنی‌هایی را که می‌توان به‌طور قابل اعتمادی شمارش کرد متناسب با قطر پلیت است.

برای شناسایی میکروارگانیسم‌ها، از استاندارد بین‌المللی مناسب استفاده کنید. بعد از پیش‌غنی‌سازی، از دستورالعمل‌هایی متناسب با میکروارگانیسم‌های مورد نظر پیروی کنید.

## ۱۰ بیان نتایج و محاسبات

### ۱۰-۱ کلیات

برای بیان نتایج و محاسبات به استاندارد ISO 7218 مراجعه شود.

### ۱۰-۲ روش پلیت تماسی

تعداد کلنی‌های شمارش شده (مشخص) را بر مساحت سطح پلیت تقسیم کنید. تعداد کلنی‌ها را به‌صورت تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی[1] در هر سانتی‌مترمربع از سطح نمونه‌برداری گزارش کنید.

1- Colony forming unit (CFU)

### ۱۰-۳ روش سوآب میله‌ای یا پارچه/ اسفنج

**۱۰-۳-۱** هنگامی‌که سطح، قابل اندازه‌گیری نیست یا در هر سانتی‌مترمربع اندازه‌گیری نشده، تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی (cfu)[1] در هر سانتی‌مترمربع از سطح مورد بررسی ($N_S$) را با استفاده از فرمول (۱) محاسبه کنید.

$$N_S = \frac{N \times F}{A} \times D \qquad (۱)$$

که در آن:

$N$ تعداد واحدهای تشکیل‌دهنده کلنی در یک میلی‌لیتر محلول رقیق‌کننده (یا مایع خنثی‌کننده)؛

$F$ حجم استفاده شده از محلول رقیق‌کننده (یا مایع خنثی‌کننده) در لوله یا کیسه همگن‌کننده برحسب میلی‌لیتر؛

$A$ سطح نمونه برداری شده، برای مثال برحسب سانتی‌مترمربع (هنگامی‌که سطح قابل اندازه گیری نباشد، A فرمول ۱ در نظر گرفته می‌شود)؛

$D$ عکس رقت مورد استفاده است.

**۱۰-۳-۲** در مورد روش‌های کیفی، میکروارگانیسم هدف را به‌صورت شناسایی شده یا شناسایی نشده در سطح نمونه‌برداری شده، یا افزاره درصورتی‌که ناحیه شناخته شده نباشد، گزارش کنید.

## ۱۱ گزارش آزمون

گزارش آزمون باید حداقل دارای آگاهی‌های زیر باشد:

**الف**- روش مورد استفاده برای انجام آزمون، با ارجاع به این استاندارد ملی ایران؛

**ب**- وسایل مورد استفاده برای نمونه‌برداری، تاریخ نمونه‌برداری، ساعت و شناسایی مکان نمونه‌برداری، تاریخ شروع تجزیه؛

**پ**- جزئیات هر عملی که در این استاندارد ملی ایران مشخص نشده، یا به‌صورت اختیاری مورد توجه قرار داده شده است، همراه با جزئیات هر حادثه یا موردی که در هنگام اجرای روش آزمون رخ داده و می‌تواند بر نتیجه آزمون اثرگذار باشد؛

**ت**- هرگونه انحراف در محیط‌های کشت یا شرایط مورد استفاده برای گرم‌خانه‌گذاری؛

**ث**- تمام اطلاعات ضروری برای شناسایی کامل نمونه؛

**ج**- نتایج به‌دست آمده که مطابق با سطح نمونه‌برداری شده (اندازه و نام) بیان شده باشند؛

1- Colony-forming units (cfu)

# پیوست الف

# (آگاهی‌دهنده)

# خنثی‌کننده‌ها

**هشدار – خنثی‌کننده‌های فعالیت ضدمیکروبی[1] باقی‌مانده گندزداهای شیمیایی و ضدعفونی کننده ها باید مطابق با دستورالعمل‌های استاندارد مناسب (برای مثال استاندارد EN 13697) اعتبارسنجی شوند.**

فهرست نشان داده شده در جدول الف-۱ تنها مثال‌هایی را ارائه می‌دهد و دقیق و کامل نیست (پیوست **B** استاندارد EN 1276: 2009).

برای محصولات حاوی بیشتر از یک ماده ضدمیکروبی، ممکن است سایر مخلوط‌های خنثی‌کننده مورد نیاز باشند.

غلظت‌های ترکیبات مختلف خنثی‌کننده یا خنثی‌کننده‌هایی از این قبیل ممکن است برای خنثی کردن غلظت‌های بالای محصولات کافی نباشد.

**جدول الف-۱ – مثال‌هایی از خنثی‌کننده‌ها**

| ماده ضدمیکروبی | ترکیبات شیمیایی با قابلیت خنثی کردن فعالیت ضدمیکروبی | مثال‌هایی از خنثی‌کننده‌های[a] مناسب |
|---|---|---|
| ترکیبات آمونیوم چهار ظرفیتی و آمین‌های چرب | لسیتین، ساپونین، پلی-سوربات ۸۰، سدیم دو دسیل سولفات، چگالیده اتیلن اکسید الکل چرب (سورفاکتانت‌های غیریونی)[b] | - پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + ساپونین، ۳۰ g/l + لسیتین، ۳ g/l<br>- پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + سدیم دودسیل سولفات، ۴ g/l + لیسیتین، ۳ g/l<br>- چگالیده اتیلن اکسید الکل چرب، ۳ g/l + لسیتین، ۲۰ g/l + پلی‌سوربات ۸۰، ۵ g/l |
| بیگوانیدها[2] و ترکیبات مشابه | لسیتین [c]، ساپونین، پلی‌سوربات ۸۰ | - پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + ساپونین، ۳۰ g/l + لسیتین، ۳ g/l |
| ترکیبات اکسیدکننده (کلرین، یدین، هیدروژن پراکسید، پراستیک اسید، هیپوکلریت‌ها، غیره) | سدیم تیوسولفات [d]، کاتالاز یا پراکسیداز (برای هیدروژن پراکسید یا محصولات آزاد کننده هیدروژن پراکسید)[e] | - سدیم تیوسولفات، ۳ g/l تا ۲۰ g/l + پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + لسیتین، ۳ g/l گرم بر لیتر<br>- پلی‌سوربات ۸۰، ۵۰ g/l + کاتالاز ۰٫۲۵ g/l + لسیتین ۱۰ g/l |

1- Antimicrobial activity[2] Biguanides
[2] Biguanides

| | | |
|---|---|---|
| آلدهیدها | ال – هیستیدین یا گلیسین | - پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + لیسیتین، ۳ g/l + ال-هیستیدین، ۱ g/l (یا + گلیسین، ۱ g/l گرم بر لیتر)<br>- پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + ساپونین، ۳۰ g/l + ال-هیستیدین، ۱ g/l (یا + گلیسین، ۱ g/l) |
| ترکیبات فنولی و مرتبط: اورتوفنیل فنول، فنوکسی اتانول، تریکلوزان، فنیل اتانول، غیره.<br>آنیلیدها | لسیتین، پلی‌سوربات ۸۰، چگالیده اتیلن اکسید الکل چرب[b] | -پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + لسیتین، ۳ g/l گرم بر لیتر<br>چگالیده اتیلن اکسید الکل چرب، ۷ g/l گرم بر لیتر+ لسیتین، ۲۰ g/l + پلی‌سوربات ۸۰، ۴ g/l |
| الکل‌ها | لسیتین، ساپونین، پلی-سوربات ۸۰[f] | -پلی‌سوربات ۸۰، ۳۰ g/l + ساپونین، ۳۰ g/l + لسیتین، ۳ g/l |
| ترکیبات شیمیایی دارای جیوه | سدیم تیوگلیکولات | سدیم تیوگلیکولات در ۰٫۵ g/l تا ۵ g/l |

[a] مطابق با pH محصول مورد بررسی، pH خنثی‌کننده یا آب شستشو ممکن است در یک مقدار مناسب تنظیم شود یا در بافر فسفات تهیه شود (برای مثال: بافر فسفات ۰٫۲۵ mol/l؛ پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH2PO4) ۳۴g؛ آب مقطر (۵۰۰ ml)؛ تنظیم شده تا pH (۷٫۲ ± ۰٫۲) با سدیم هیدروکسید (NaOH) ۱ mol/l؛ آب مقطر تا ۱۰۰۰ ml)

[b] طول زنجیره کربنی از $C_{12}$ تا $C_{18}$ متغیر است.

[c] تخم مرغ و سویا; تخم مرغ ترجیح داده می‌شود.

[d] اثر سمی سدیم تیوسولفات بر یک ارگانیسم مورد بررسی تا ارگانیسم دیگر متفاوت است.

[e] یک واحد از این آنزیم‌ها تجزیه ۱ µmol پراکسید هیدروژن در یک دقیقه در دمای ۲۵ °C و pH برابر ۷ را کاتالیز می‌کند.

[f] برای خنثی‌سازی الکل‌های دارای زنجیره کوتاه (کمتر از $C_5$)، رقت سازی ساده می‌تواند مناسب باشد. باید دقت شود که محصولات بر پایه الکل شامل مواد ضدمیکروبی اضافی می‌باشد.

## کتاب‌نامه

[1] ISO 6887 (series) , Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination

**یادآوری**- مجموعه استانداردهای ملی ایران شماره ۸۹۲۳، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- آماده‌سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی، با استفاده از مجموعه استاندارد ISO 6887 تدوین شده است.

[2] ISO 13307, Microbiology of food and animal feed – Primary production stage – Sampling techniques

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۹۸۰: سال ۱۳۹۲، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- مرحله آماده‌سازی اولیه- روش‌های نمونه‌برداری، با استفاده از استاندارد ISO 13307: 2013 تدوین شده است.

[3] ISO 15216-1, Microbiology of the food chain – Horizontal method for determination of hepatitis A virus and norovirus using real-time RT-PCR – Part 1: Method for quantification

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱-۲۰۱۱۰: سال ۱۳۹۷، میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش جامع برای تعیین ویروس هپاتیت A و نورووویروس با استفاده از real-time RT-PCR، قسمت ۱: روش کمّی، با استفاده از استاندارد ISO 15216-1: 2017 تدوین شده است.

[4] ISO 17604, Microbiology of the food chain – Carcass sampling for microbiological analysis

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۲۱۹: سال ۱۳۹۲، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- نمونه‌برداری از لاشه دام و طیور برای آنالیزهای میکروبی، با استفاده از استاندارد ISO 17604: 2003+ Amd1: 2009 تدوین شده است.

[5] EN 1276:2009, Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic, and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1)

[6] EN 1650, Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal and yeasticidal activity of chemical disinfectants and antiseptics in food, industrial, domestic, and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1)

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۶۹۸۶ (تجدیدنظر اول): سال ۱۳۸۹، ضدعفونی‌کننده‌ها و گندزداهای شیمیایی- آزمون سوسپانسیون کمی برای ارزیابی فعالیت‌های قارچ‌کشی و مخمرکشی ضدعفونی‌کننده‌ها و گندزداهای شیمیایی مورد استفاده در مواد غذایی- صنعتی- فضاهای خانگی و سازمانی -روش آزمون و الزامات- فاز ۲ درجه ۱، با استفاده از استاندارد BS EN 1650: 2010 تدوین شده است.

[7] EN 13697, Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative non-porous surface test for the evaluation of bactericidal and/or fungicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 2)

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۷۹۸ (تجدیدنظر اول): سال ۱۳۹۵، ضدعفونی‌کننده‌ها و گندزداهای شیمیایی- آزمون کمی سطح بدون منفذ برای ارزیابی فعالیت باکتری‌کشی و یا قارچ‌کشی ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی مورد استفاده در غذا، صنعت، مکان‌های سازمانی و خانگی- روش آزمون و الزامات بدون عملیات مکانیکی (فاز ۲، مرحله ۲)، با استفاده از استاندارد DIN EN 13697: 2002 تدوین شده است.

[8] EN 13704, Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity of chemical disinfectants used in food, industrial, domestic and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1)

**یادآوری**- استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۷۹۶: سال ۱۳۸۷، ضدعفونی‌کننده‌ها وگندزداهای شیمیایی- آزمون سوسپانسیون کمی برای ارزیابی فعالیت اسپورکشی ضدعفونی‌کننده‌های شیمیایی مورد استفاده در غذا، صنعت و مکان‌های سازمان و خانگی- روش آزمون و الزامات، با استفاده از استاندارد DIN EN 13704: 2002 تدوین شده است.

[9] Sutton S.V., Proud D.W., Rachui S., Brannan D.K. Validation of Microbial Recovery From Disinfectants. J of Pharmaceutical Science and Technology, 2002, 56 (5) , pp. 255–266