

بسم الله الرحمن الرحيم

استریل پسته با پلاسما (Gliding arc)

فصل اول: اصول کلی بهداشت در مواد غذایی

فصل دوم: روش نمونه برداری در خشکبار

فصل سوم: آماده سازی آزمایه، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای
آزمون‌های میکروبیولوژی

فصل اول: اصول کلی بهداشت در مواد غذایی

اهداف کلی

۱. شناسایی اصول اساسی بهداشت مواد غذایی در طول زنجیره مواد غذایی از تولید اولیه تا مصرف کننده نهایی برای اطمینان از ایمنی و مناسب بودن مواد غذایی برای مصرف انسان
۲. توصیه رویکردی بر اساس سیستم تجزیه و تحلیل خطرو نقاط کنترل بحرانی به عنوان ابزاری برای ارتقاء ایمنی مواد غذایی
۳. ارائه نحوه اجرا و چگونگی اجرای اصول کلی بهداشت مواد غذایی
۴. تهیه راهنما برای آیین کارهای ویژه ای که ممکن است برای بخش هایی از زنجیره مواد غذایی، فرایندها یا کالاها مورد نیاز باشد و تقویت الزامات بهداشتی خاص برای آن نواحی

نقش صنعت

صنعت باید عملیات بهداشتی این استاندارد را برای دستیابی به موارد زیر به کارگیرد:

- فراهم آوردن مواد غذایی ایمن و مناسب برای مصرف
- اطمینان از اینکه مصرف کنندگان اطلاعات شفافی را که به آسانی درک می گردد، از راه برچسب گذاری و سایر روش های مقتضی دریافت می کنند و این اطلاعات آن ها را قادر می سازد تا مواد غذایی خود را در برابر آلودگی، رشد و بقا عوامل بیماریزا ناشی از جداسازی، جابجایی و آماده سازی به نحو صحیح محافظت نمایند

- حفظ اطمینان در مبادله جهانی مواد غذایی

نقش مصرف کننده

مصرف کنندگان باید نقش خود را با پیروی از دستور العمل های مربوطه و به کارگیری اقدامات متقاضی بهداشت مواد غذایی ایفاء نمایند

اصطلاحات و تعاریف

۱. تمیز کردن: زدودن گرد و غبار، باقیمانده مواد غذایی، کثیفی، چربی یا سایر موارد

نامطلوب

۲. آلاینده: هر عامل یا ماده بیولوژیکی یا شیمیایی، ماده خارجی یا سایر موادی است که به

صورت غیر عمدی به غذا اضافه شده و ممکن است ایمنی و مناسب بودن مواد غذایی را به

خطر اندازد

۳. آلودگی: ورود یا وجود یک آلاینده در ماده غذایی یا محیط ماده غذایی

۴. ضد عفونی: کاهش تعداد میکروارگانیسم ها در محیط به وسیله عوامل شیمیایی، روش های

فیزیکی و یا هر دو به میزانی که ایمنی و مناسب بودن ماده غذایی را به خطر نیندازد

۵. تاسیسات: هر ساختمان یا فضایی است که در آن عملیات مربوط به مواد غذایی انجام

می شود و محیط اطراف آن تحت کنترل همان مدیریت قرار دارد

۶. بهداشت مواد غذایی: کلیه شرایط و اقدامات لازم برای اطمینان از ایمنی و مناسب بودن

مواد غذایی در تمام مراحل زنجیره مواد غذایی

۷. خطر: عامل بیولوژیکی، شیمیایی یا فیزیکی در مواد غذایی و یا شرایط غذا است که به

طوبالقه موجب اثر سوء بر سلامتی انسان شود

۸. تجزیه و تحلیل خطر و نقاط کنترل بحرانی: سیستمی است برای شناسایی، ارزش‌یابی

و کنترل خطراتی که از نظر ایمنی مواد غذایی اهمیت دارند

۹. دست‌اندر کار مواد غذایی: هر شخصی است که به طور مستقیم با مواد غذایی بسته بندی

شده یا بسته بندی نشده، تجهیزات مواد غذایی و ظروف و لوازم یا سطوح در تماس با

مواد غذایی ارتباط داشته و بنابراین انتظار می‌رود که الزامات بهداشت مواد غذایی را

رعایت کند

۱۰. ایمنی مواد غذایی: به مفهوم آن است که هنگامی که مواد غذایی بر طبق مصرف

مورد نظر تهیه و یا خورده می‌شود، آسیبی به مصرف کننده نخواهد رساند

۱۱. مناسب بودن مواد غذایی: حصول اطمینان از اینکه مواد غذایی بر طبق مصرف

مورد نظر برای مصرف انسانی قابل پذیرش است

۱۲. تولید اولیه: مراحل در زنجیره مواد غذایی از آغاز تا پایان شامل برای مثال:

برداشت، کشتار و ماهیگیری

تولید اولیه: بهداشت محیط، تولید بهداشتی منابع غذایی، جابجایی، انبارداری و

حمل و نقل و تمیز کردن، حفظ و بهداشت کارکنان در تولید اولیه

اهداف تولید اولیه:

تولید اولیه باید به طریقی مدیریت شود که اطمینان دهد مواد غذایی برای مصرف مورد نظر ایمن و مناسب است و در جایی که ضرورت یابد نکات زیر در نظر گرفته شود:

- خودداری از به کار گیری نواحی که محیط ایمن غذا را تهدید می کند
- کنترل آلاینده ها، آفات و بیماری های حیوانات و گیاهان به طریقی که ایمنی مواد

غذایی را تهدید نکند

- سازگاری عملیات و اقداماتی که اطمینان دهد مواد غذایی تحت شرایط بهداشتی مقتضی تولید می شوند

الف. بهداشت محیط: منابع بالقوه آلودگی های ناشی از محیط باید در نظر گرفته شود. به ویژه، تولید اولیه مواد غذایی نباید در مکان هایی انجام شود که بتواند منجر به حد غیر قابل قبول مواد بالقوه زیان آور در مواد غذایی شوند

ب. تولید بهداشتی منابع غذایی: اثرات بالقوه فعالیت های مربوط به تولید اولیه روی ایمنی و مناسب بودن غذا باید همواره در نظر گرفته شود. به ویژه موارد زیر باید رعایت شود:

- شناسایی نقاط خاصی که احتمال وقوع آلودگی در آنها بالاست

- انجام اقدامات ویژه برای به حداقل رساندن این احتمال. استفاده از سیستم HACCP به انجام چنین اقداماتی کمک می کند

پ. جابجایی، انبارداری و حمل و نقل: به کارگیری روش های اجرایی زیر توصیه می شود:

- جداسازی مواد غذایی و مواد متشکله غذا به منظور تفکیک موادی که به وضوح برای مصرف انسان نامناسب هستند

- دفع مواد برگشت داده شده با یک روش بهداشتی

- حفاظت مواد غذایی و مواد متشکله غذا از آلودگی توسط آفات، عوامل شیمیایی، فیزیکی یا آلاینده‌های میکروبی یا سایر مواد نامطلوب در طی جابجایی، انبارداری و حمل و نقل

- پیشگیری از تباهی و فساد مواد غذایی با استفاده از اقدامات مناسب تا حد امکان. این اقدامات می‌تواند شامل کنترل دما، رطوبت و یا سایر کنترل‌ها باشد

ت. تمیز کردن، حفظ و بهداشت کارکنان در تولید اولیه: باید در محل، روش‌های اجرایی و تسهیلات مقتضی وجود داشته باشد تا اطمینان حاصل گردد:

- هر روش تمیز کردن و حفظ و نگهداری ضروری به نحو موثری انجام می‌گیرد

- بهداشت فردی در حد مقتضی حفظ می‌گردد

بهداشت فردی: وضعیت سلامتی افراد بیمار، بیماری و جراحات، نظافت فردی، رفتار فردی و بازدیدکنندگان

اهداف بهداشت فردی:

حصول اطمینان از عدم آلوده شدن احتمالی مواد غذایی به وسیله افرادی که به طور مستقیم یا غیرمستقیم با آن در تماس هستند از راه رعایت موارد زیر:

- رعایت نظافت شخصی در حد مطلوب

- رفتار و کردار شایسته و مناسب (علاوه بر رعایت نظافت شخصی، فرد باید طوری رفتار کند که باعث ایجاد آلودگی نشود)

الف. وضعیت سلامتی افراد بیمار: افرادی که بیماری آن‌ها محرز شده است، یا مشکوک به ابتلا به بیماری و یا حامل یک عامل بیماری باشند که احتمال انتقال آن از طریق مواد غذایی وجود دارد و بتوانند غذا را آلوده کنند، به هیچ وجه نباید اجازه ورود به محیط کار با مواد غذایی را داشته باشند. هر فرد باید بیماری یا علائم بیماری خود را بلافاصله به اطلاع مدیریت برساند. در صورت مشاهده علائم بالینی یا اپیدمیولوژیکی، در یک فرد دست‌اندر کار مواد غذایی، آن فرد باید تحت آزمایش‌های کامل پزشکی قرار گیرد.

ب. بیماری و جراحات: بیماری‌ها و نشانه‌هایی که باید به مدیریت گزارش شود و در آن شرایط فرد باید تحت آزمایش‌های پزشکی قرار گیرد و یا از تماس او با مواد غذایی ممانعت به عمل آید عبارتند از:

- یرقان، اسهال، استفراغ ، تب، عفونت گلو همراه با تب

- زخم های عفونی قابل رویت بر روی پوست مانند جوش، بریدگی و ...

- ترشح مواد از گوش، چشم یا بینی

پ. نظافت فردی: دست‌اندر کاران مواد غذایی باید نظافت فردی را در حد بالایی رعایت نمایند و در صورت لزوم از لباس محافظ مناسب، کلاه و پای پوش مناسب استفاده کنند. در مواردی که شخص با وجود زخم و بریدگی ، مجاز به ادامه کار است باید بریدگی‌ها و

زخم‌ها به وسیله زخم‌بند ضد آب مناسب پوشیده شوند. در صورتی که نظافت فردی برایمنی غذا تاثیر بگذارد، کارکنان باید دست‌های خود را به طور مرتب بشوید، برای مثال:

- در آغاز کار با مواد غذایی

- بلافاصله پس از خروج از توالت

- پس از جابجایی مواد غذایی خام و یا هر ماده آلوده، در مواردی که این امر منجر به آلودگی سایر اقلام غذایی شود، آن‌ها باید در جایی که مقتضی است از جابجایی مواد غذایی آماده برای مصرف پرهیز نماید

ت. رفتار فردی: افرادی که در فعالیت‌های جابجایی مواد غذایی به کار گرفته می‌شوند باید از رفتارهایی که ممکن است منجر به آلودگی مواد غذایی گردد خودداری کنند، برای مثال:

- استعمال دخانیات

- انداختن آب دهان

- جویدن یا خوردن مواد غذایی

- عطسه یا سرفه روی مواد غذایی بدون پوشش

- به همراه داشتن زیورالات شخصی چون جواهرآلات، ساعت، سنجاق یا وسایل دیگر که تهدیدی برای ایمنی و مناسب بودن مواد غذایی می‌باشند

ث. بازدیدکنندگان: کسانی که از محل‌های تولید و فرآوری مواد غذایی یا جابجایی و یا سایر قسمت‌ها بازدید می‌کنند، در صورت لزوم باید لباس محافظ به تن کنند و دیگر مقررات بهداشت فردی را در این بخش رعایت نمایند

حمل و نقل: کلیات، الزامات، استفاده، تعمیر و نگهداری

اهداف حمل و نقل:

اقدامات لازم برای موارد زیر باید به عمل آید:

- محافظت مواد غذایی از منابع بالقوه آلودگی
- محافظت مواد غذایی از صدماتی که ممکن است غذا را برای مصرف نامناسب کند
- فرآهم آوردن محیطی که به گونه‌ای مؤثر، رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا یا مولد فساد و تولید مواد سمی در مواد غذایی را کنترل کند

الف. کلیات: مواد غذایی باید در طی حمل و نقل به حد کافی محافظت شوند. نوع وسیله انتقال‌دهنده یا ظروف مورد نیاز به ماهیت ماده غذایی و شرایطی که تحت آن حمل و نقل انجام می‌شود، بستگی دارد

ب. الزامات: در صورت لزوم وسایل حمل و نقل و ظروف فله می‌باید به گونه‌ای طراحی و ساخته شوند که:

- مواد غذایی یا بسته‌بندی را آلوده نکنند

- بتوان آن‌ها را به خوبی تمیز کرد و در صورت لزوم ضدعفونی نمود

- جداسازی موثر مواد غذایی مختلف را در صورت لزوم هنگام حمل و نقل عملی سازد

- بتوان درجه حرارت، رطوبت، هوا و سایر شرایط لازم را در حد مطلوب نگاه داشت تا مواد غذایی را در مقابل رشد میکروارگانیسم‌های مضر و یا نامطلوب که منجر به نامناسب شدن غذا برای مصرف می‌شود، محافظت نمود

پ. استفاده، تعمیر و نگهداری: ظروف و نقاله‌های حمل و نقل مواد غذایی باید در وضعیت مناسبی از تمیزی، تعمیر و نگهداری و شرایط کاری حفظ شوند. در صورتی که از یک ظرف یا نقاله برای حمل و نقل مواد غذایی مختلف یا مواد غیر غذایی استفاده می‌شود، تمیز کردن موثر و در صورت لزوم ضدعفونی آن باید بین دو بارگیری انجام شود.

در موارد مقتضی به ویژه در مواردی که حمل و نقل مواد به صورت فله انجام می‌شود، ظروف و نقاله‌های مورد استفاده تنها باید به انتقال مواد غذایی اختصاص یابد، این موضوع باید روی آن‌ها نوشته شود و تنها به این منظور مورد استفاده قرار گیرد.

آموزش: آگاهی‌ها و مسئولیت‌ها، برنامه‌های آموزشی، آموزش و نظارت و بازآموزی

اهداف آموزش:

آن‌هایی که در عملیات مواد غذایی به طور مستقیم یا غیرمستقیم دخالت دارند، یا می‌باید قبلاً آموزش دیده باشند و یا با دستورالعمل‌های بهداشت مواد غذایی در حد قابل قبول برای کارهایی

که انجام می‌دهند آموزش ببینند.

الف. آگاهی‌ها و مسئولیت‌ها: آموزش بهداشت مواد غذایی اساساً دارای اهمیت زیادی است. کلیه کارکنان باید از نقش خود و مسئولیتی که در حفظ ماده غذایی از آلودگی و یا فساد دارند آگاه باشند. افراد دست اندرکار مواد غذایی باید دانش و مهارت لازم برای انجام کار به طریق بهداشتی را داشته باشند. کسانی که با پاک کننده‌های شیمیایی قوی یا مواد شیمیایی دیگری که بالقوه خطرناک هستند در ارتباط می‌باشند، باید در زمینه روش‌های جابجایی ایمن آموزش ببینند.

ب. برنامه‌های آموزشی: عواملی که در ارزیابی سطح آموزش‌های مورد نیاز در نظر گرفته می‌شوند عبارتند از:

- ماهیت ماده غذایی به خصوص میزان مستعد بودن آن برای رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا یا فاسدکننده

- طریقه‌ای که مواد غذایی جابجایی و بسته بندی می‌شوند شامل احتمال آلودگی

- ماهیت و وسعت فراوری یا آماده سازی بعدی قبل از مصرف نهایی

- شرایطی که تحت آن ماده غذایی نگهداری خواهد شد

- طول زمان مورد انتظار قبل از مصرف

پ. آموزش و نظارت: ارزیابی اثربخشی برنامه‌های آموزشی و دستورالعمل‌ها باید به صورت دوره‌ای انجام شود. همچنین لازم است نظارت و کنترل برای حصول اطمینان از این که روش‌های اجرایی به نحو مؤثری انجام می‌شود، به طور معمول انجام گیرد.

مدیران و سرپرستان فرآیندهای مواد غذایی باید دانش لازم را در مورد اصول و عملیات بهداشتی مواد غذایی را دارا باشند تا بتوانند در مورد احتمال خطرات قضاوت نمایند و در محل‌هایی که احتمال بروز خطر در آن‌ها وجود دارد اقدام لازم برای اصلاح نواقص بعمل آورند.

ت. بازآموزی: برنامه‌های آموزشی باید به طور مرتب بازنگری شده و در صورت لزوم، به روز شوند. سیستم‌هایی باید به کار گرفته شوند که این اطمینان را بوجود آورد که دست‌اندرکاران مواد غذایی از همه اقدامات و روش‌های اجرایی لازم برای حفظ ایمنی و مناسب بودن مواد غذایی، با آموزش‌های منظم آگاه باقی بمانند.

فصل دوم: روش نمونه برداری در خشکبار

هدف کلی

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین روش های نمونه برداری از خشکبار و میوه های خشک شده می باشد. این استاندارد، برای نمونه برداری از خشکبار و میوه های خشک بسته بندی شده، به منظور انجام آزمون های فیزیکی و شیمیایی کاربرد دارد.

اصطلاحات و تعاریف

۱. محموله (بار بازرگانی): مقداری از یک بار بازرگانی، که بر طبق قرارداد در یک نوبت، حمل

و تحویل می شود. محموله می تواند شامل یک یا چند بهر باشد.

۲. بهر: قسمتی از یک محموله است که دارای ویژگی های یکسان از لحاظ مبدا و یا مقصد،

بسته بندی کننده، نوع بسته بندی، مبدا تولید، رتبه بندی محصول، اندازه (در صورت

درجه بندی بر حسب اندازه)، گونه یا رقم باشد و در یک زمان مشخص حمل شود.

۳. بسته: عبارت است از قسمتی از بهر، که به منظور سهولت حمل و همچنین

جلوگیری از صدمات مکانیکی در هنگام حمل بسته بندی شده است.

۴. بسته بندی اولیه: به اولین بسته بندی گفته می شود که ماده غذایی را در بر می گیرد

۵. بسته بندی ثانویه: بسته بندی ثانویه، بسته بندی است که دو یا چند بسته بندی اولیه را

در بر می گیرد.

۶. نمونه برداری: نمونه برداری عبارت است از برداشتن مقداری از کالای موجود در بهر، متناسب با تعداد و نوع آزمون‌هایی که باید روی آن انجام گیرد، به روشی که مقدار کالای برداشته شده (نمونه)، بتواند تا حد مورد نیاز معرف بهر یا محموله بوده و برای انجام تمام آزمون‌های مورد نظر کافی باشد.

۷. نمونه اولیه: مقدار نمونه‌ای است که از هر یک از بسته‌های مشخص شده یک بهر، برداشته می‌شود.

۸. نمونه انباشته: نمونه‌ای است که از روی هم ریخته شدن نمونه‌های اولیه برداشته شده به دست می‌آید.

۹. نمونه ترکیبی: نمونه ترکیبی، نمونه‌ای است که از نمونه انباشته برداشته می‌شود. وزن این نمونه، کمینه ۳ کیلوگرم می‌باشد.

۱۰. نمونه معرف: مقدار معینی از نمونه ترکیبی است که برای آزمایشگاه فرستاده می‌شود.

۱۱. خشکبار: خشکبار به میوه‌هایی گفته می‌شود که برابر آن‌ها، هنگام رسیدن خشک می‌شود. این میوه‌ها معمولاً دارای پوست سخت بوده و دارای میان بر یا درون بر خوراکی هستند و به صورت با پوست و یا بدون پوست عرضه می‌شوند. مغزهای خوراکی، مانند پسته، گردو، بادام و فندق در این دسته قرار می‌گیرند.

اصول نمونه برداری

تعدادی بسته به روش تصادفی، متناسب با وزن بهر، مشخص شده و نمونه‌های اولیه از بسته‌های مشخص شده برداشته می‌شود. نمونه‌های برداشته شده با هم مخلوط می‌شود، به گونه‌ای که مجموع نمونه‌های اولیه مخلوط شده بتواند تا حد مورد نیاز، معرف ویژگی‌های آن محموله یا بهر بوده و مقدار آن برای انجام آزمون‌های مورد نظر و در صورت ضرورت کنترل‌های بعدی کافی باشد.

برای مشخص کردن بسته‌هایی که باید از آن نمونه برداری شود، باید از جدول اعداد تصادفی استفاده کرد و یا با استفاده از فرمول ۱ تواتر نمونه برداری را تعیین نمود.

$$f = \frac{m(b) \times m(i)}{m(a) \times m(p)} \quad (1)$$

تواتر نمونه برداری : f

وزن بهر : $m(b)$

وزن نمونه اولیه : $m(i)$

وزن نمونه آزمایشگاهی : $m(a)$

وزن هر بسته : $m(p)$

روش نمونه برداری

۱. شناسایی و تعیین تعداد بهرهای موجود: شناسایی بهر ها، باید بر اساس علائم نوشته

شده و یا برچسب گذاری شده بر روی بسته ها و یا تعریف بهر انجام شود. در شرایطی

که محموله از چند بهر تشکیل شده است، لازم است که نمونه بردار با کمک مدارک همراه محموله، برای شناسایی آن اقدام کند.

درباره محصولی که حمل خواهد شد، برای شناسایی محموله باید از آخرین شماره حمل استفاده شود. بهرهایی که تعداد بسته‌های موجود در آن بیش از پنج هزار عدد است، باید به بهره‌ای حداکثر پنج هزارتایی تقسیم شود.

۲. مشخص کردن تعداد بسته‌های موجود در هر بهر: نمونه بردار باید بسته‌هایی که

مورد نمونه برداری قرار می‌گیرد را، مشخص کند. این مشخصات، شامل اطلاعات لازم برای شناسایی محموله و یا بهر، نیز می‌باشد.

بسته‌های آسیب دیده نباید به عنوان قسمتی از نمونه انباشته استفاده شود. این بسته‌ها باید جدا شده و جداگانه مورد آزمون قرار گیرند و گزارش شوند.

۳. تعداد بسته‌هایی که باید در هر بهر، به روش تصادفی برای نمونه برداری مشخص شود، با استفاده از جدول ۱ تعیین می‌شود.

جدول ۱- تعیین تعداد بسته‌هایی که باید از آن‌ها نمونه برداری انجام شود

تعداد بسته‌های موجود در یک بهر	حداقل تعداد بسته‌هایی که باید از آن نمونه برداری انجام شود (نمونه اولیه)
تا ۱۰۰ بسته	۵
۱۰۱ تا ۳۰۰	۷
۳۰۱ تا ۵۰۰	۹
۵۰۱ تا ۱۰۰۰	۱۰
۱۰۰۰ تا ۲۰۰۰	۱۵
۲۰۰۰ تا ۳۰۰۰	۱۷
۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰	۲۰
۴۰۰۰ تا ۵۰۰۰	۲۳

۴. **کنترل محصول:** در مورد محصولات بسته بندی شده، باید از نمونه‌های اولیه برای بررسی ظاهری محصول، انطباق محصول با برچسب مندرج بر روی بسته بندی، پاکیزگی بسته‌ها و نشانه گذاری استفاده شود. به منظور ارزیابی انطباق، محصول باید کاملاً از بسته بندی خارج شود. بررسی غیر یکنواختی، حداقل الزامات، کیفیت و اندازه باید بر اساس نمونه انباشته یا نمونه ترکیبی باشد.
۵. کمینه مقدار نمونه آزمایشگاهی که باید به آزمایشگاه فرستاده شود، با مراجعه به استاندارد ملی آن فرآورده تعیین می‌شود.
۶. تعیین مقدار نمونه اولیه‌ای که باید از هر بسته مشخص شده بهر برداشته شود، از طریق تقسیم ۳ برابر مقدار نمونه لازم بر حسب گرم، بر اساس استاندارد فرآورده، بر تعداد بسته‌های مشخص شده برای برداشت نمونه اولیه (مطابق جدول ۱)، است.
۷. نمونه بردار باید نمونه اولیه را بر اساس مقدار محاسبه شده طبق بند ۶ با تقریب اضافی از هر بسته مشخص شده در بهر، برداشت نماید.
۸. نمونه‌های اولیه برداشته شده از بسته‌های مشخص شده در هر بهر، باید کاملاً با هم مخلوط شوند تا نمونه انباشته معرف به دست آید.
۹. نمونه معرف به دست آمده را به ۳ نمونه مساوی آزمایشگاهی تقسیم کنید.
۱۰. هر یک از ۳ نمونه را، در یک ظرف مناسب بریزید.
۱۱. یک نسخه از گزارش نمونه برداری، باید در هر یک از ظروف دارای نمونه قرار داده شود.
۱۲. هر یک از سه ظرف / بسته نمونه، باید پلمپ شود.

۱۳. یکی از ظروف / بسته پلمپ شده و همچنین مازاد نمونه معرف، به صاحب کالا عودت داده شود.

۱۴. یکی از ظروف / بسته پلمپ شده، باید فوری به آزمایشگاه ارسال شود. ظرف / بسته سوم در صورت نیاز، به عنوان نمونه شاهد توسط نمونه بردار نگهداری می‌شود. در غیر این صورت به صاحب کالا عودت داده شود.

گزارش نمونه برداری

گزارش نمونه برداری باید دارای اطلاعات زیر باشد:

- نام و نوع محصول
- تعداد بسته موجود در بهر یا محموله
- شماره پلمپ یا مهر کنترل بهر
- تاریخ نمونه برداری
- نام صاحب کالا یا علامت تجاری
- محل نمونه برداری
- نام و امضاء نمونه بردار
- امضاء صاحب کالا یا نماینده او
- شماره پلمپ شکن و یا علامت مهر و موم نمونه

- هرگونه اطلاعاتی درباره وضع کالا و محل نمونه برداری که مفید به نظر برسد. مانند مشاهده حشرات زنده یا مرده و سایر آفات انباری، رطوبت بالا و یا چیدمان نامناسب

فصل سوم: آماده سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی

هدف کلی:

هدف از تدوین این استاندارد تعیین اصول کلی آماده سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون‌های میکروبیولوژی فرآورده‌ها برای مصارف انسانی و حیوانی می‌باشد.

اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌روند:

۱. نمونه آزمایشگاهی: نمونه‌ای است که برای ارسال به آزمایشگاه به منظور بازرسی یا آزمون تهیه می‌شود.

۲. نمونه مرکب: نمونه ترکیب شده از تعدادی آیت‌های غذایی یکسان ، خوراک دام یا نمونه‌های محیطی که بخشی از آن به عنوان آزمون برای آزمون در نظر گرفته می‌شود.

۳. نمونه مخلوط: نمونه‌ای که از مخلوط تعدادی آیت‌های غذایی یکسان، خوراک دام یا نمونه‌های محیطی به دست آمده و کل مخلوط به عنوان آزمون است که برای آزمون در نظر گرفته می‌شود.

۴. آزمایش: نمونه تهیه شده از نمونه آزمایشگاهی طبق روشی که در روش آزمون مشخص شده است و آزمون از آن گرفته می‌شود.

۵. آزمون: نمونه با اندازه معین (حجمی یا وزنی) برداشته شده از نمونه آزمایشگاهی که برای تهیه سوسپانسیون اولیه به کار می‌رود.

۶. سوسپانسیون اولیه (رقت اولیه): سوسپانسیون، محلول یا امولسیون به دست آمده پس از توزین یا اندازه گیری حجم معینی از فرآورده مورد آزمون (یا یک آزمون تهیه شده از فرآورده) و مخلوط کردن با ۹ برابر حجم یا وزن آن از یک محلول رقیق کننده است و اجازه داده می شود که ذرات درشت در صورت وجود، ته نشین شوند.

۷. رقت اعشاری بعدی: به سوسپانسیون‌ها یا محلول‌هایی گفته می شود که پس از مخلوط کردن حجم معینی از سوسپانسیون اولیه با X برابر حجم محلول رقیق کننده به دست می‌آید. با تکرار این عمل رقت‌های اعشاری بعدی حاصل می‌شوند که برای تلقیح در محیط کشت مناسب می‌باشند.

۸. آزمون‌های مخلوط شده: مخلوطی از آزمون‌ها از تعدادی آیتم غذایی یکسان، خوراک دام یا نمونه‌های محیطی است که مخلوط کامل همان آزمون‌های است که آزمون می‌شود.

۹. آزمون‌های (پیش) غنی شده: آزمون‌های (پیش) غنی شده مجزای حاصل از تعدادی آیتم غذایی یکسان، خوراک دام یا نمونه‌های محیطی است که حجم معینی از آن‌ها برای آزمون‌های بعدی ترکیب می‌شود.

۱۰. استاندارد خاص: استاندارد یا مدرک راهنمای ملی که آزمون یک فرآورده (یا گروهی از فرآورده‌ها) خاص را به منظور جستجو و شناسایی یا شمارش یک میکروارگانیسم (یا گروهی از میکروارگانیسم‌ها) شرح می‌دهد.

اصول آزمون

آماده سازی سوسپانسیون اولیه راهی برای توزیع یکنواخت میکروارگانیزم‌های موجود در آزمون می‌باشد.

در صورت لزوم، برای کاهش تعداد میکروارگانیزم در واحد حجم، رقت‌های اعشاری بعدی تهیه می‌شود تا پس از تلقیح، امکان مشاهده رشد یا عدم رشد (در لوله یا بطری) یا تعداد کلنی (در مورد پلیت‌ها) به گونه‌ای که در استاندارد خاص بیان شده است، فراهم شود.

وسایل

- تجهیزاتی برای سترون‌سازی با حرارت خشک (آون) و سترون‌سازی با حرارت مرطوب (اتوکلاو)
- همگن کننده چرخشی (بلندر)
- همگن کننده ضربه‌ای (استومکر)
- همزن مکانیکی
- ارلن، لوله آزمایش یا بطری‌های در پیچ‌دار با گنجایش مناسب
- پی‌پت مدرج، با حداقل ظرفیت 10 ml , 1 ml و همچنین پی‌پتورهای مکانیکی با دقت مناسب
- ترازوها و رقیق‌کننده‌های وزنی
- قیچی، پنس و اسکالپل یا چاقو

- وسایل مخصوص باز کردن، مانند بطری و قوطی بازکن
- وسایل جمع‌آوری نمونه از نمونه‌های آزمایشگاهی منجمد
- مته برقی با سرعت متغیر
- سر مته چوبی سترون برای مته برقی
- اسکنه چوبی استریل با عمق ۲۰ میلیمتر و پتک یا چکش پلاستیکی
- وسایل سوزاندن سطح نمونه مانند مشعل گازی قابل حمل
- قالب نمونه برداری
- حمام آب قابل تنظیم در دمای ۴۴ تا ۴۷ درجه سانتی‌گراد
- مهره‌ها یا گلوله‌های شیشه‌ای برای پخش نمونه‌هایی مانند سواپ

آزمونه و سوسپانسیون اولیه (رقت اولیه)

آزمونه را با حد رواداری $\pm 5\%$ در یک ظرف یا کیسه پلاستیکی سترون به صورت وزنی یا حجمی بریزید. مقدار جرمی $m\text{ g}$ یا حجمی $V\text{ ml}$ (حداقل 10 g یا 10 ml)، مگر اینکه مقادیر دیگری تعیین شده باشد که به عنوان نماینده نمونه آزمایشگاهی، باید مورد استفاده قرار گیرد.

مقداری محلول رقیق کننده برابر با $(9 \times mg)$ یا $(9 \times V\text{ ml})$ بیفزایید تا رقت اعشاری اولیه تهیه شود. اندازه این مقدار برحسب جرم و یا در صورت لزوم برحسب حجم دقیقاً باید با حد رواداری ($\pm 2\%$) باشد. ممکن است برای اهداف خاص، مقادیر دیگر رقت اولیه نیز در

نسبت پایین تر یا بالاتر از رقیق کننده به آزمون لازم باشد ، این مقادیر نیز با همان حد رواداری تهیه می شود.

انواع خاصی از فرآورده ها با استفاده از نسبت ۱ به ۱۰ رقیق سازی منجر به سوسپانسیون اولیه ویسکوز یا غلیظ می شود و ممکن است رقیق کننده بیشتری برای تسهیل آزمون مورد نیاز باشد. در چنین مواردی، محلول رقیق کننده باید با نسبت های دیگری افزوده شود (برای مثال : نسبت های ۱ به ۲۰ ، ۱ به ۵۰ ، ۱ به ۱۰۰) تا سوسپانسیون اولیه مطلوب برای کار به دست آید. این نسبت های غیراستاندارد باید در محاسبه و بیان نتایج در نظر گرفته شود.

برای جستجو و شمارش تعداد کم میکروارگانیسم در فرآورده هایی که دارای حدمجاز پایین هستند می توان از حجم کمتری از محلول رقیق کننده استفاده کرد (برای مثال : ۱ به ۲ یا ۱ به ۵). استفاده از چنین سوسپانسیون اولیه ای باعث ایجاد عدم تعادل در نسبت حجم تلقیح شده به محیط کشت (برای مثال : بازدارندگی رشد میکروبی بر اثر افزایش غلظت ترکیبات موجود در نمونه) می شود و این روش باید به دقت به کار رود و مورد به مورد تصدیق شود. به منظور جلوگیری از آسیب به میکروارگانیسم ها در اثر تغییرات ناگهانی درجه حرارت، دمای محلول های رقیق کننده باید تقریباً برابر با دمای محیط آزمایشگاه باشد.

در صورت لزوم ، مخلوط را حداکثر به مدت زمان ۱۵min روی سطح قرار دهید تا ذرات درشت آن ته نشین شوند . از فیلتراسیون با کارایی مشابه مانند کیسه های پلاستیکی فیلتردار نیز می توان استفاده کرد. برای شمارش اسپورها، بلافاصله پس از آماده سازی سوسپانسیون اولیه باید شوک حرارتی دهید (برای مثال : به مدت زمان ۱۰min در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد قرار

دهید) و سپس برای کاهش مرگ اسپورها به سرعت (برای مثال : عبور دادن از زیر آب سرد)
خنک کنید.

مدت زمان آزمون

زمان بین آماده سازی سوسپانسیون اولیه و لحظه تلقیح و تماس با محیط کشت نباید بیش از ۴۵ دقیقه باشد.

به علاوه، زمان بین آماده سازی سوسپانسیون اولیه و شروع آماده سازی رقت های بعدی، نباید بیش از ۳۰ دقیقه باشد.

چنانچه دمای محیط آزمایشگاه بالاتر و خارج از دامنه توصیه شده باشد (۲۷ درجه سانتی گراد) بهتر است این دو مدت زمان حداکثر ، کاهش یابد تا پتانسیل رشد میکروبی و در نتیجه نتایج بیشتر به حداقل برسد.

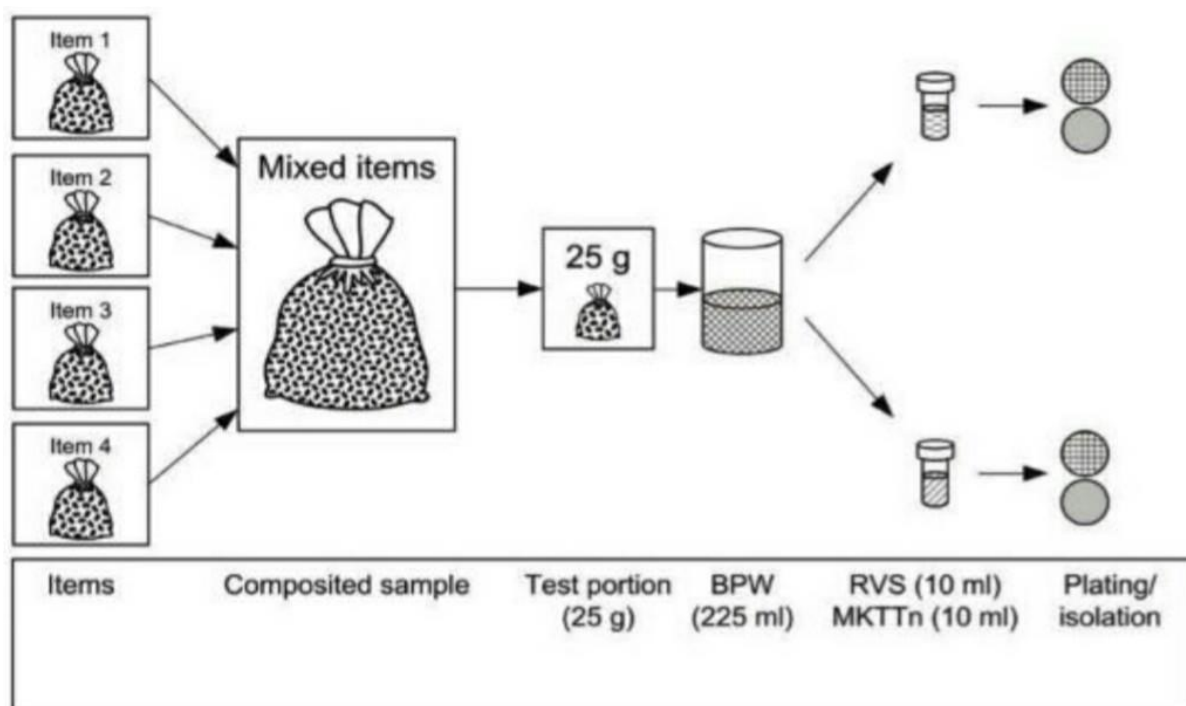
چنانچه در استاندارد ملی خاصی برای حداکثر بازیابی میکروارگانیسم های آسیب دیده دوره احیاء تعیین شده است، این دوره زمانی باید هنگامی شروع شود که سوسپانسیون اولیه تهیه شده و مراحل بعدی رقت سازی بلافاصله بعد از پایان این دوره، انجام شود.

روش های مخلوط و ترکیبی برای آزمون های کیفی

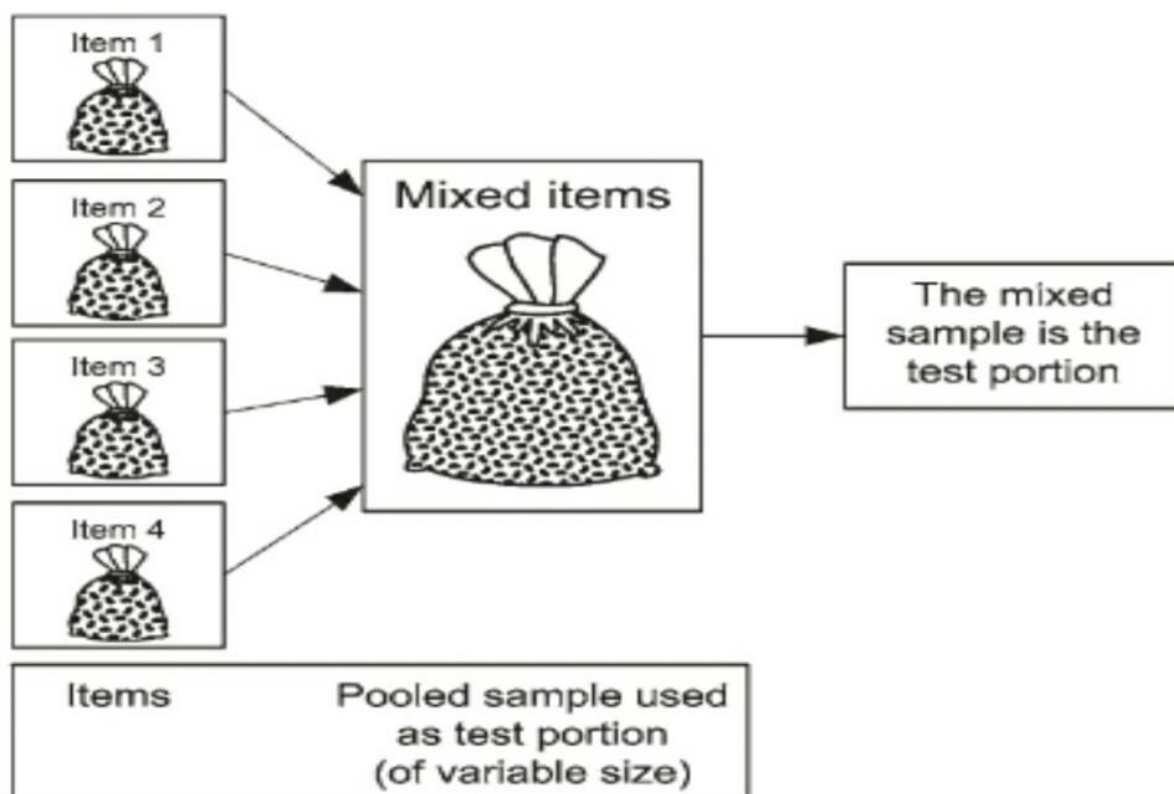
چهار حالت برای تلفیق مراحل آزمون در آزمون های کیفی فرآورده یا نمونه های محیطی از یک

نوع و از یک منبع یا منشاء وجود دارد تا هنگامی که تعداد نمونه مورد آزمون زیاد است، حجم کار کم شود. این کار می تواند برای انعکاس کیفیت میکروبیولوژی بچهای بزرگی از فرآورده یا نمونه های محیطی ضروری باشد یا گاهی در قانون منطقه ای یا ملی الزام شده باشد.

ممکن است تعدادی آیتم از یک نوع در مرحله نمونه برداری ترکیب یا مخلوط شده باشد و وقتی آزمایشگاه نمونه را دریافت می کند مشتری باید این موضوع را روشن کند تا اطمینان حاصل شود که فرایند آزمون بعدی به درستی انجام می شود. ترکیب نمونه های تکی نیز طبق درخواست مشتری می تواند در آزمایشگاه انجام شود. به شکل های ۱ و ۲ مراجعه کنید.

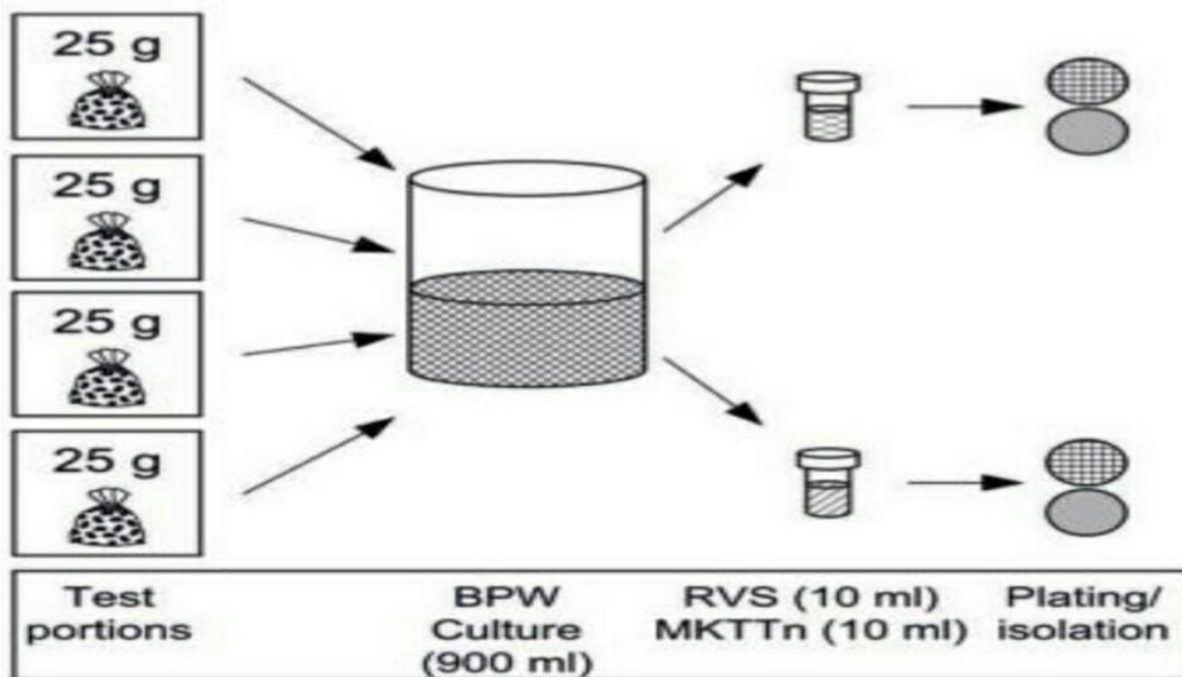


شکل ۱. نمونه های مرکب

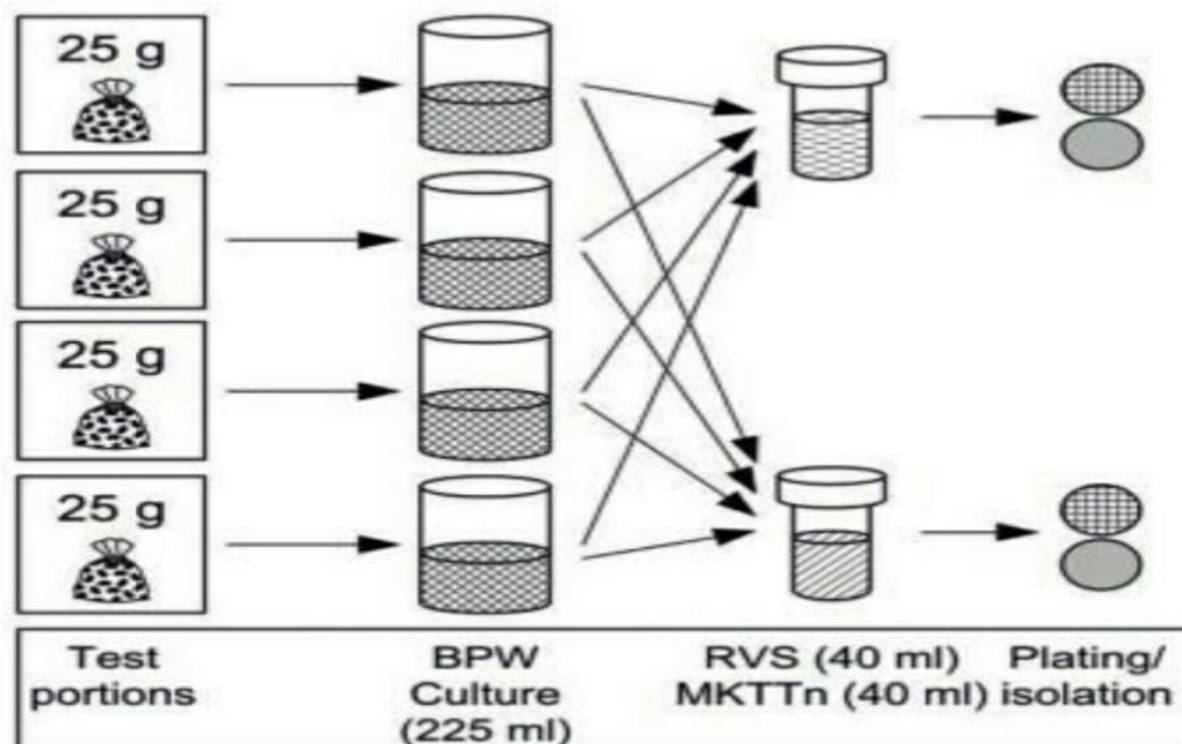


شکل ۲. نمونه‌های مخلوط

آزمونه‌های مخلوط را می‌توان در آزمایشگاه نیز انجام داد و آزمون را در مقادیر زیاد در محیط کشت از پیش گرم شده ادامه داد (شکل ۳). توصیه میشود پایش دما و حداکثر زمان گرمخانه‌گذاری بر اساس دامنه مجاز صورت گیرد تا از نتایج منفی کاذب ناشی از تاخیر دما در حجم‌های بیشتر جلوگیری شود. به طور جایگزین محیط کشت‌های (پیش) غنی شده از آزمونه‌های تکی را می‌توان مخلوط کرد (طبق شکل ۴) و یکبار، آزمون کرد.



شکل ۳. آزمونه‌های مخلوط



شکل ۴. آزمونه‌های (پیش) غنی شده مرکب

همه این روشها باید قبل از استفاده تصدیق شوند تا مشخص شود که ریسک نتایج منفی کاذب افزایش نیافته است.

رقت‌های اعشاری بعدی

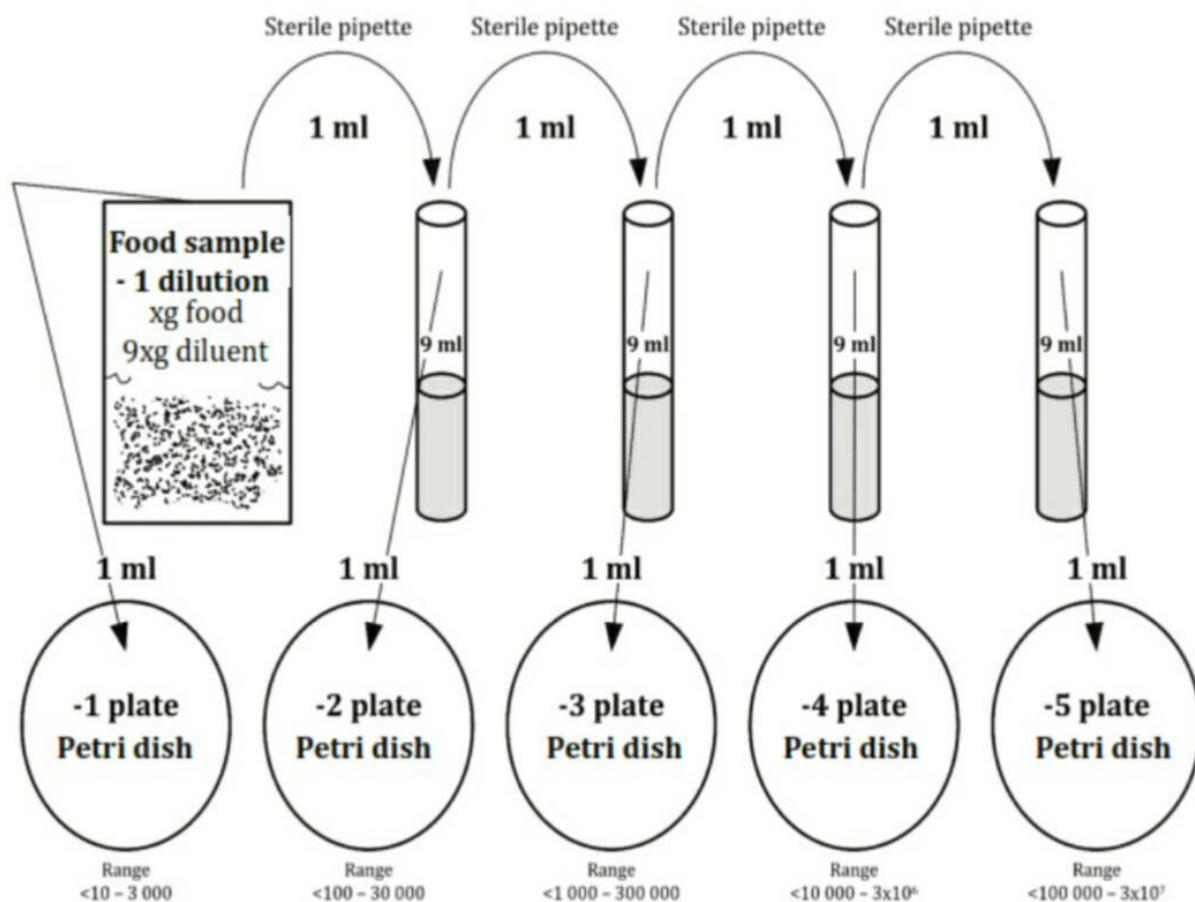
- سری رقت‌های اعشاری

برای آزمون‌های شمارش، با استفاده از پی‌پت، $1\text{ ml} \pm 0.02\text{ ml}$ از سوسپانسیون اولیه را به لوله حاوی $9\text{ ml} \pm 0.2\text{ ml}$ محلول رقیق‌کننده سترون در دمای محیط آزمایشگاه انتقال دهید. به منظور به حداقل رساندن آلودگی متقاطع، از هرگونه تماس بین پی‌پت حاوی ماده تلقیح و رقیق‌کننده سترون جلوگیری کنید.

برای دقت مناسب، بیش از ۱ سانتیمتر از پی‌پت را داخل سوسپانسیون اولیه فرو نکنید و از کشیدن ذرات ماده غذایی جلوگیری کنید.

به مدت زمان ۵ تا ۱۰ ثانیه به طور کامل و با استفاده از همزن مکانیکی هم بزنید تا رقت 10^{-2} به دست آید.

در صورت لزوم، به همین ترتیب با استفاده از رقت‌های 10^{-2} و پی‌پت سترون، رقت‌های 10^{-3} و 10^{-4} و رقت‌های بعدی را تهیه کنید تا حدی که شمارش تعداد میکروارگانیسم‌ها در دامنه مطلوب باشد. توالی آماده‌سازی سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای سطوح مختلف آلودگی و استفاده از روش کشت آمیخته، در شکل ۵ نشان داده شده است.



- سری‌های دیگر رقت

استریل پسته با پلاسما (spark) و نتایج آن

کشت باکتریایی برای ۳ نمونه پسته بسته (کنترل)، پسته خندان (کنترل) و پسته خندان (استریل شده) در دو رقت 10^0 (۱) و 10^{-1} انجام شد. محاسبات و نتایج به دست آمده، نشان دهنده کاهش تقریباً ۴۰ درصدی مقدار باکتری در نمونه استریل شده نسبت به نمونه کنترل است.

پسته خندان (کنترل)

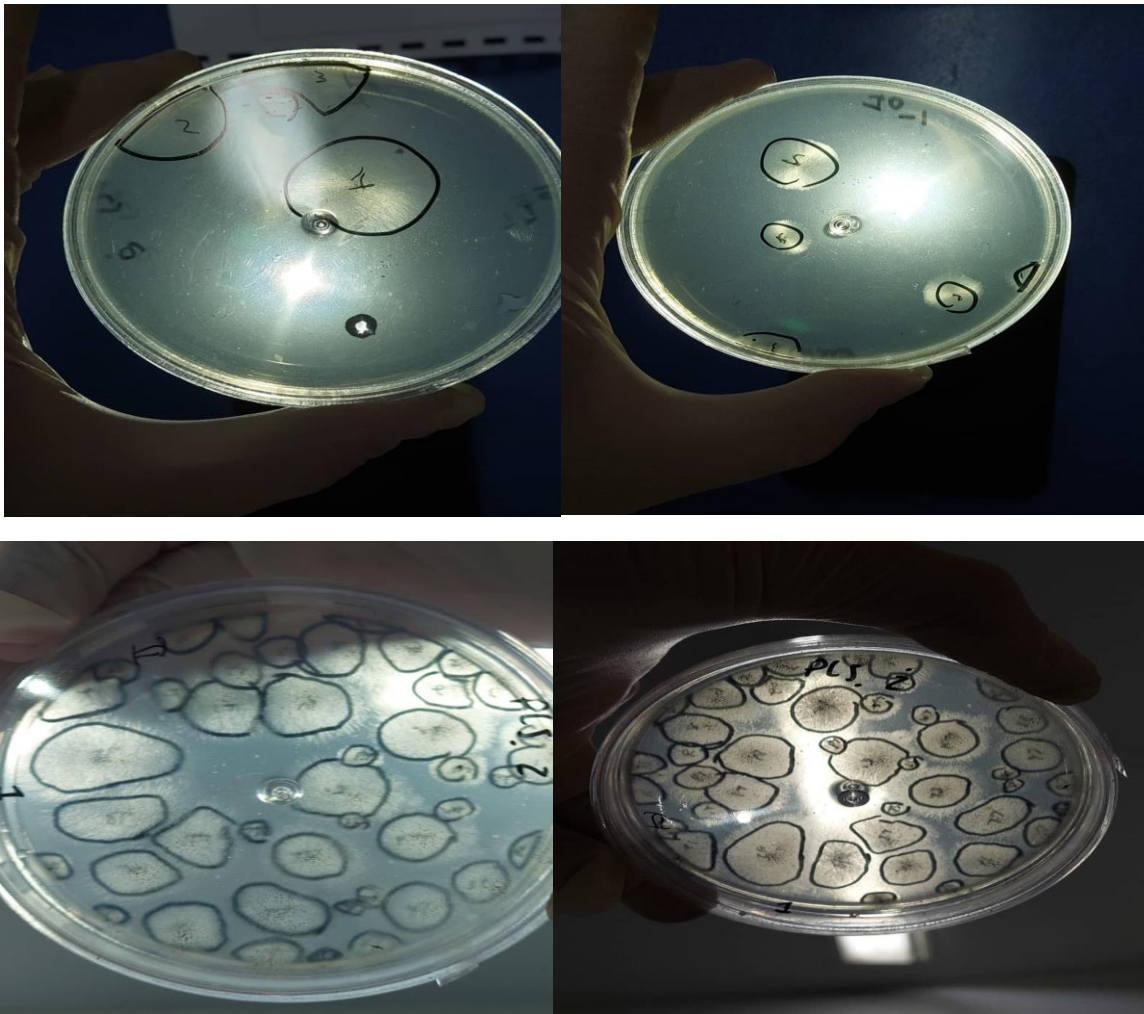


وزن پسته استفاده شده : ۱۰ g

حجم آزمون : ۵۰ ml

$$N = \frac{(9 + 16 + 69 + 70)CFU}{(1 + 1 + 0.1 + 0.1)ml} \times \frac{50 ml}{10 g} = 373 CFU/g$$

پسته خندان (استریل شده)



$$N = \frac{(4 + 5 + 41 + 43)CFU}{(1 + 1 + 0.1 + 0.1)ml} \times \frac{50 ml}{10 g} = 211 CFU/g$$

پسته بسته (کنترل)



تعداد کلنی‌های تشکیل شده برای پسته بسته در دو رقت ۱ و 10^{-1} ، قابل شمارش نبود.