



جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran
سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization



استاندارد ملی ایران
۵۲۷۱
تجدیدنظر اول
۱۳۹۸

INSO

5271

1st Revision

2020

Modification of
ISO 6222:
1999

کیفیت آب - شمارش میکروارگانیسم‌های
قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از
تلقیح در محیط کشت آگار مغذی

**Water quality - Enumeration of culturable
micro-organisms - Colony count by
inoculation in a nutrient agar culture
medium**

ICS: 07.100.20

سازمان ملی استاندارد ایران

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

صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵ تهران - ایران

تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱

دورنگار: ۸۸۸۸۷۱۰۳ و ۸۸۸۸۷۰۸۰

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 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 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 منصفانه 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 پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب، به عنوان 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 در کمیته ملی طرح، بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مقررات استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته 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)^۱، کمیسیون بین‌المللی الکتروتکنیک (IEC)^۲ و سازمان بین‌المللی اندازه‌شناسی قانونی (OIML)^۳ است و به عنوان تنها رابط^۴ کمیسیون کدکس غذایی (CAC)^۵ در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه 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 استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینه 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، گواهینامه 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

«کیفیت آب - شمارش میکروارگانیسم‌های قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از تلقیح در محیط کشت آگار مغذی»

رئیس:

رحیمی فرد، ناهید
(دکتری تخصصی میکروبیولوژی)

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - اداره کل
آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو

دبیر:

داورزنی، ساره
(دکتری تخصصی میکروبیولوژی مواد غذایی)

پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی - پژوهشگاه
استاندارد

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

اسکندری، سهیل
(دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی)

انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور

اطهری‌نیا، معصومه
(دکتری تخصصی علوم و صنایع غذایی)

پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی - پژوهشگاه
استاندارد

باغبان، مهتاب
(دکتری تخصصی بیوشیمی)

دفتر کنترل کیفیت و بهداشت آب و فاضلاب و امور
آزمایشگاه‌های استان تهران

جعفری آذر، زهرا
(دکتری تخصصی فارماسیوتیکس)

دانشکده داروسازی - دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران

رسولیان، سونا
(کارشناسی ارشد علو و صنایع غذایی)

شرکت آروین حیات آتی ونوس

زیارتی، پریسا
(کارشناسی ارشد شیمی)

مرکز تحقیقات علوم تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی
آزاد اسلامی تهران

سلطانی، رضا
(کارشناسی ارشد انگل‌شناسی)

پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی - پژوهشگاه
استاندارد

شاملویی، شراره
(دکتری تخصصی بیوشیمی)

آزمایشگاه باکتریولوژی آب و فاضلاب استان تهران

اعضا: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)

صمیعی، بیتا

(کارشناسی ارشد بیوشیمی)

ضرغامپور، زهره

(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

غلامی، سپیده

(کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی)

کهن نیا، ناصر

(کارشناسی ارشد میکروبیولوژی)

مختاری، فهیم‌دخت

(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)

واقفی، کوشیار

(کارشناسی ارشد بیوشیمی)

سمت و/یا محل اشتغال:

اداره کل استاندارد استان تهران

شرکت آب و فاضلاب منطقه ۲ شهر تهران

آزمایشگاه همکار شرکت صنعتی پارس مینو (سهامی عام)

گروه تولیدی مهرام (سهامی خاص)

پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی - پژوهشگاه
استاندارد

دفتر نظارت بر کنترل کیفیت و بهداشت آبفای کشور

ویراستار:

مختاری، فهیم‌دخت

(کارشناسی ارشد ایمونولوژی)

پژوهشکده صنایع غذایی و فرآورده‌های کشاورزی - پژوهشگاه
استاندارد

فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ز	پیش‌گفتار
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ مراجع الزامی
۲	۳ اصطلاحات و تعاریف
۲	۴ اصول آزمون
۲	۵ تجهیزات و ظروف شیشه‌ای
۳	۶ نمونه‌برداری
۳	۷ محیط‌های کشت و رقیق‌کننده‌ها
۴	۸ روش اجرای آزمون
۶	۹ بیان نتایج
۶	۱۰ گزارش آزمون
۷	پیوست الف (الزامی) تغییرات اعمال شده در این استاندارد در مقایسه با استاندارد منبع

پیش‌گفتار

استاندارد «کیفیت آب - شمارش میکروارگانيسم‌های قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از تلقیح در محیط کشت آگار مغذی» که نخستین بار در سال ۱۳۷۸ تدوین و منتشر شد، بر اساس پیشنهادهاي دریافتی و بررسی و تأیید کمیسیون‌های مربوط بر مبنای پذیرش استانداردهای بین‌المللی به عنوان استاندارد ملی ایران به روش اشاره شده در مورد پ، بند ۷، استاندارد ملی ایران شماره ۵ برای اولین بار مورد تجدیدنظر قرار گرفت و در شصت و چهارمین اجلاس هیئت کمیته ملی استاندارد آب و آبفا مورخ ۹۸/۱۱/۲۹ تصویب شد. اینک این استاندارد 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.

استانداردهای ملی ایران بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۵ (استانداردهای ملی ایران - ساختار و شیوه 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 خواهند 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 شماره ۵۲۷۱ : سال ۱۳۷۸ می‌شود.

این استاندارد ملی بر مبنای پذیرش استاندارد بین‌المللی زیر به روش «ترجمه تغییر یافته» تهیه و تدوین شده و شامل ترجمه تخصصی کامل متن آن به زبان فارسی همراه با اعمال تغییرات با توجه به مقتضیات کشور است:

ISO 6222:1999, Water quality - Enumeration of culturable micro-organisms - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium

مقدمه

تمام انواع آب به طور ثابتی حاوی میکروارگانیسم‌های مختلفی هستند که از طریق منابع گوناگون از جمله خاک و گیاه وارد آب شده‌اند و تخمین تعداد کل آن‌ها می‌تواند اطلاعات مفیدی برای ارزیابی و مراقبت^۱ از کیفیت آب فراهم کند. معمولاً شمارش تک تک کلنی‌های میکروارگانیسم‌هایی که قادر به رشد و تشکیل کلنی روی محیط‌کشت آگار مغذی در دمای °C ۲۲ و °C ۳۶ هستند، انجام می‌شود.

شمارش کلنی برای ارزیابی بی نقص بودن^۲ منابع آب زیرزمینی و همچنین موثر بودن فرایند تصفیه آب (برای مثال: انعقاد، صاف سازی و گندزدایی) ضروری است و نشانگر تمیز و بی نقص بودن سیستم توزیع است و همچنین می‌تواند برای ارزیابی مناسب بودن آب در فرایند تهیه مواد غذایی و نوشیدنی مورد استفاده قرار گیرد که بهتر است به منظور جلوگیری از آلودگی محصول با ارگانیسم‌های عامل فساد، آب مورد استفاده حاوی تعداد کم میکروارگانیسم‌ها باشد.

در صورتی که آب به طور تناوبی و در درازمدت مورد بررسی قرار می‌گیرد، شمارش کلنی ارزش زیادی جهت شناسایی تغییرات کیفی آب دارد. هرگونه افزایش ناگهانی در شمارش می‌تواند هشدار اولیه برای آلودگی شدید آب باشد و باید سریعاً مورد بررسی قرار گیرد.

1- Surveillance
2- Integrity

کیفیت آب - شمارش میکروارگانیسم‌های قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از تلقیح در محیط کشت آگار مغذی

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، ارائه روشی برای شمارش میکروارگانیسم‌های قابل کشت در آب با استفاده از شمارش کلنی‌های تشکیل شده در محیط کشت آگار مغذی پس از گرمخانه‌گذاری در شرایط هوازی در دمای 22°C و 36°C می‌باشد.

این استاندارد برای تعیین اثربخشی فرایند تصفیه، گندزدایی مخازن آب آشامیدنی و شبکه توزیع و برای استفاده‌های کلی برای تمام انواع آب کاربرد دارد. این استاندارد به ویژه برای آزمون آب‌های مورد مصرف انسان از جمله آب‌های بسته‌بندی شده و آب معدنی طبیعی کاربرد دارد.

۲ مراجع الزامی

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

2-1 EN ISO 3696, Water for analytical laboratory use- Specification and test methods.

یادآوری - استاندارد ملی ایران ۱۷۲۸: سال ۱۳۸۱، آب- مورد مصرف در آزمایشگاه تجزیه- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، با استفاده از استاندارد ISO 3696:1987 تدوین شده است.

2-2 EN ISO 5667-3, Water quality - Sampling – part 3: Guidance on the preservation and handling of samples.

یادآوری - استاندارد ملی ایران ۹۸۸۶: سال ۱۳۸۶، آب- حفاظت و جابجایی نمونه‌های آب- آیین کار، با استفاده از استاندارد ISO 5667-3:2003 تدوین شده است.

2-3 EN 25667-2, Water quality - Sampling – part 2: Guidance on sampling techniques.

2-4 ISO 6887, Microbiology- General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examinations

یادآوری - مجموعه استانداردهای ملی ایران شماره ۸۹۲۳ (همه قسمت‌ها)، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - آماده‌سازی آزمایش، سوسپانسیون اولیه و رقت‌های اعشاری برای آزمون میکروبیولوژی با استفاده از مجموعه استانداردهای ISO 6887 تدوین شده است.

2-5 ISO 8199, Water quality- General guide to the enumeration of micro-organisms by culture

یادآوری - استاندارد ملی ایران ۴۲۰۷: سال ۱۳۹۸، کیفیت آب - شمارش میکروارگانیسم‌ها در آب با استفاده از روش کشت - راهنما، با استفاده از استاندارد ISO 8199:2005 تدوین شده است.

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاح و تعریف زیر به کار می‌رود:

۱-۳

میکروارگانیسم‌های قابل کشت

culturable micro-organisms.

همه باکتری‌های هوایی، مخمرها و کپک‌ها هستند که قادر به تشکیل کلنی روی محیط کشت مشخص تحت شرایط بیان شده در این استاندارد می‌باشند.

۴ اصول آزمون

تلقیح حجم‌های مشخص از نمونه یا رقت‌های آن با استفاده از مخلوط کردن با محیط کشت آگار مغزی و سپس گرمخانه‌گذاری یک سری پلیت‌ها در دمای $35^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ به مدت زمان ۴۸ h و سری دیگر در دمای 20°C تا 28°C به مدت زمان ۶۸ h می‌باشد.

محاسبه تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی (cfu) در هر میلی لیتر (ml) از نمونه، بر اساس تعداد کلنی‌های تشکیل شده روی محیط کشت انجام می‌شوند.

۵ دستگاه و ظروف شیشه‌ای

از دستگاه‌های معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی و به‌ویژه تجهیز زیر استفاده کنید:

۱-۵ دستگاه سترون‌سازی با استفاده از بخار (اتوکلاو)

۲-۵ دستگاه سترون‌سازی با استفاده از حرارت خشک (آون یا فور)

۳-۵ گرمخانه قابل تنظیم در دمای $36^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

۴-۵ گرمخانه قابل تنظیم در دمای $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

۵-۵ پتری‌دیش‌های پلاستیکی یا شیشه‌ای با قطر ۹۰ mm یا ۱۰۰ mm

۶-۵ حمام آب یا دستگاه مشابه با قابلیت نگهداری دما در $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

۷-۵ تجهیزات شمارش کلنی مجهز به تابش نور^۱ با پس زمینه تاریک

۶ نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از آب را مطابق با دستورالعمل نمونه‌برداری، حمل و نقل و نگهداری انجام دهید. (به استانداردهای EN ISO 5667-3 و EN 25667-2 مراجعه کنید).

آزمون آب‌های بسته‌بندی شده از جمله آب‌های معدنی طبیعی را تا ۱۲ h پس از بسته‌بندی می‌توان انجام داد، به شرط آن که در طول این مدت در دمای $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ نگهداری شوند.

۷ محیط‌های کشت و رقیق‌کننده‌ها

۱-۷ مواد پایه

برای آماده‌سازی محیط‌های کشت، از مواد تشکیل‌دهنده با کیفیت یکسان و درجه خلوص آزمایشگاهی شیمیایی استفاده شود. به طور جایگزین می‌توانید از محیط‌کشت کامل بدون آب معادل آن استفاده و طبق دستورالعمل سازنده عمل کنید. برای تهیه محیط‌کشت از آب دیونیزه یا آب مقطر دوبار تقطیر مطابق با استاندارد EN ISO 3696 درجه 3 عاری از مواد بازدارنده که ممکن است سبب مهار رشد در شرایط آزمون شود، استفاده کنید.

یادآوری - استفاده از مواد شیمیایی با درجه‌های دیگر در صورتی مجاز می‌باشد که نشان داده شده باشد که دارای عملکرد معادل در آزمون می‌باشند.

۲-۷ رقیق‌کننده

برای رقت‌سازی، از رقیق‌کننده پیتون مطابق با استاندارد ISO 8199 استفاده شود.

۳-۷ یست اکسترکت آگار^۱

مواد تشکیل‌دهنده:

نام مواد	مقدار
تریپتون (پیتون از کازئین، هضم پانکراتیک)	۶۱۰ g
یست اکسترکت دهیدراته	۳۱۰ g
آگار (پودری یا به صورت پلت)	۱۰ g تا ۲۰ g (بستگی به قدرت ژله‌ای شدن آگار دارد)
آب	۱۰۰۰ ml

روش تهیه:

مواد فوق را پس از مخلوط کردن با استفاده از حرارت در آب حل کنید. در صورت لزوم pH را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون‌سازی در دمای 25°C برابر با 7.2 ± 0.2 باشد. محیط‌کشت را در حجم‌های ۱۵ ml تا ۲۰ ml در لوله‌ها، بطری‌ها یا سایر ظروف تقسیم کنید. برای نگهداری محیط‌کشت در حجم‌های بیشتر، از ظروف با گنجایش حداکثر ۵۰۰ ml استفاده کنید. سپس در اتوکلاو (طبق زیربند ۵-۱) با دمای $121^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ به مدت زمان ۱۵ min سترون کنید. هنگام استفاده، محیط‌کشت را ذوب کنید و اجازه دهید خنک شود و در دمای $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ در حمام آب (طبق زیربند ۵-۵) نگهداری کنید. توصیه می‌شود از نگهداری محیط‌کشت بیشتر از ۴ h در دمای $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ خودداری شود. پس از این زمان محیط‌کشت باید دور ریخته شود.

۸ روش اجرای آزمون

۱-۸ آماده‌سازی و تلقیح

آماده‌سازی نمونه، تهیه رقت و تلقیح محیط‌کشت را مطابق با استانداردهای ISO 8199، EN ISO 5667-3 و ISO 6887 انجام دهید.

از روش پور پلیت^۲ (طبق استاندارد ISO 8199) استفاده کنید. حداکثر ۲ ml از آزمایشه (یا رقت آن) را به پتری‌دیش منتقل کنید و مقدار ۱۵ ml تا ۲۰ ml از محیط‌کشت ذوب شده (طبق زیر بند ۳-۷) به آن

1- Yeast extract agar

2- Pour-plate

بیفزایید و با استفاده از حرکات چرخشی به آرامی مخلوط کنید. اجازه دهید محیط کشت ببندد. زمان بین افزودن آزمایش (با رقت آن) و افزودن محیط کشت نباید بیش از ۱۵ min شود. حداقل یک پلیت برای گرمخانه‌گذاری در هر دما تلقیح کنید.

۲-۸ گرمخانه‌گذاری و آزمون

پلیت‌ها را به صورت وارونه در گرمخانه قرار دهید. یک سری را در دمای $2^{\circ}\text{C} \pm 36^{\circ}\text{C}$ به مدت زمان $4\text{ h} \pm 44\text{ h}$ و سری دیگر را در دمای $2^{\circ}\text{C} \pm 22^{\circ}\text{C}$ به مدت زمان $4\text{ h} \pm 68\text{ h}$ گرمخانه‌گذاری کنید. پلیت‌ها را بلافاصله پس از خارج کردن از گرمخانه شمارش کنید. در غیر این صورت، آن‌ها را در دمای $3^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ نگهداری و حداکثر تا ۴۸ h شمارش کنید. پلیت‌هایی که دارای کلنی‌های به هم چسبیده^۱ هستند را شمارش نکنید.

۳-۸ شمارش کلنی‌ها

برای هر یک از دماهای گرمخانه‌گذاری مطابق با روش‌های شرح داده شده در استاندارد ISO 8199، کلنی‌ها را در هر پلیت شمارش کنید و تعداد تخمینی واحدهای تشکیل دهنده کلنی موجود در یک میلی لیتر از نمونه را محاسبه کنید.

۹ بیان نتایج

نتایج بر اساس تعداد واحدهای تشکیل دهنده کلنی در هر میلی لیتر (cfu/ml) از نمونه برای هر یک از دماهای گرمخانه‌گذاری بیان می‌شود. چنانچه در حجم‌های رقیق نشده نمونه هیچ کلنی روی پلیت‌های گرمخانه‌گذاری شده مشاهده نشود، نتایج به صورت کمتر از یک در هر میلی لیتر بیان می‌شود. چنانچه در بالاترین رقت مورد استفاده بیش از ۳۰۰ کلنی روی پلیت‌های گرمخانه‌گذاری شده مشاهده شود نتایج (با در نظر گرفتن ضریب رقت) به صورت تقریبی ۳۰۰ یا بیشتر از ۳۰۰ بیان می‌شود.

۱۰ گزارش آزمون

آزمون باید با ارجاع به این استاندارد، حداقل شامل اطلاعات زیر باشد:

- ۱-۱۰ جزئیات لازم برای شناسایی کامل نمونه؛
- ۲-۱۰ روش آزمون (پورپلیت) و محیط‌کشت مورد استفاده؛
- ۳-۱۰ زمان و دمای گرمخانه‌گذاری؛
- ۴-۱۰ بیان نتایج مطابق با بند ۹ این استاندارد؛
- ۵-۱۰ هر اتفاق خاص مشاهده شده در طول آزمون و هر عملی که ممکن است بر نتایج تاثیر داشته باشند.

پیوست الف

(الزامی)

تغییرات اعمال شده در این استاندارد ملی در مقایسه با استاندارد منبع

الف-۱ بخش جایگزین شده

در زیربند ۳-۷ در روش تهیه محیط کشت یست اکسترکت آگار دمای $1^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ جایگزین دمای $3^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ شده است.

الف-۲ بخش حذف شده

در زیربند ۳-۷ در روش تهیه محیط کشت یست اکسترکت آگار مدت زمان $1 \text{ min} \pm 1$ حذف شده است.