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

راهنمای جداسازی و تشخیص باکتری های بیماری زا در مواد غذایی بویژه شیر وفرآورده های لبنی

۱۳۹۴

فهرست

عنوان: **صفحه**

- جداسازی و تشخیص باکتریهای بیماری زایی در مواد غذایی ۲-۵
- محیط کشت های مورد استفاده در تشخیص وجداسازی باکتری های بیماری زا در مواد غذایی ۵-۲۲
- نام وشماره استانداردهای ملی ایران در خصوص شیر وفرآورده های لبنی ۲۳ -۳۱

جداسازی و تشخیص باکتریهای بیماری زایی در مواد غذایی

الف) روشهای سنتی : در روشهای سنتی عموماً براساس کشت باکتری در محیطهای مختلف و تولید کلنی های قابل رویت در یک محیط جامد انتخابی و انجام آزمایشات بیوشیمیایی در محیطهای مایع است . با توجه به اینکه موادغذایی ، میکروبهای بیماری زا غالباً به مقدارنسبتاً کمی وجود داشته و توسط میکروبهای عامل فساد ، در موضع مغلوب قرار می گیرند و ازسوی دیگرطی عملیات های فرآوری مواد غذایی دچار صدمه می گرداند ، درنتیجه جداسازی باکتری موردنظر پیچیده تر بوده و زمان بیشتری راطلب می کند وبه همین دلیل جداسازی آنهامعمولاً در سه مرحله پیش غنی سازی (Pre Enrichment) ، غنی سازی (Enrichment) و کشت در محیط جامد انتخابی (Selective Plating) صورت می گیرد .

۱– مرحله غنی سازی : این مرحله که به آن مرحله احیاء (Resuscitation) نیز گفته می شود ، برای حفظ تعداد کم باکتریها و التیام باکتریهای صدمه دیده در فرآیندهای مختلف ضروری به نظر می رسد و در مورد بعضی از میکروبهای بیماریزا نظیر سالمونلا استفاده از یک پیش غنی کننده (مثل محیط لاکتوز براث Lactose Broth) الزامی است . برای انجام این مرحله از یک محیط غیر انتخابی استفاده می گردد

۲– مرحله غنی سازی : در مواقعی که تعداد باکتریهای بیماریزا در نمونه غذایی بسیار کم است ، غنی سازی انجام می گیرد . هدف از این مرحله رشد ارگانیسم مورد نظر بوده و لذابا استفاده از محیط غنی کننده مایع ، باکتریهایی که بالاترین ضریب رشد GrowthRate رادر بین جمعیت میکروبی آن نمونه غذایی ، داراباشند دراین محیط رشد خواهند نمود . مثلاً در مورد سالمونلااز محیطهای سلنیت سیستین Selenit Cistine یا تتراتیونات Tetrationate استفاده می گردد. اکثر محیطهای غنی سازی از نظر مواد مغذی پیچیده بوده و شرایطی را فراهم می سازند که طی آن رشد میکروارگانیسمهای رقیب کاهش یابد ویا از رشد آنها جلوگیری شود و تنها باکتری مورد نظر رشد نماید .لازم به ذکر است درموردبعضی ازباکتریها نظیر یرسیناآنتروکولیتیک(Yersinia Entrocolitica)و لیسریامنوسیتوژنز (Moncytogenes Listeria) به علت سرما دوست بودن ، غنی سازی در سرما صورت می گیرد .

۱– مرحله استفاده از محیط های جامد انتخابی

محیطهای جامد انتخابی ، محیطهایی هستند که یک میکروب یا گروه خاصی از میکروبها را انتخاب می کنند . اصول ساخت این محیط ها مشابه محیطهای غنی کننده مایع است و در تهیه آنها از عوامل مورد نیاز برای رشد باکتری استفاده می گردد . بدین معنی که در تهیه آنها از موادی استفاده می شود که باعث می گردد میکروب مورد نظر در آن رشد کرده و از سایر میکروبها تفکیک داده می شود .

البته پیشنهاد میگرددحتی درمواردی که پرگنه های واضح وتیپیکی دراین محیط ها رشدکرده باشد ،بهتر است قبل ازنتیجه گیری نهایی ،

ازآزمایشات تاییدی استفاده گردد . به عنوان مثال آزمایشات بیو شیمیایی ساده ای نظیر کاتالاز (Catalase) ، اکسیداز (Oxidase) ، کوآگولاز (Coagulase) و همچنین رنگ آمیزی گرم می توانند بسیار مفید واقع شوند .

ب) روشهای جدید

در طی سالهای اخیر ، روشهای جدیدی به منظور جداسازی و تشخیص میکروبهای بیماریزا مواد غذایی مطرح گردیده اند که در مقایسه با روشهای سنتی ، دارای سرعت بسیار بالاتری در تشخیص عامل بیماری زا هستند . در ذیل تعدادی از این تکنیک ها معرفی گردیده اند .

۱– روشهای فیزیکی :

از روشهای فیزیکی رایج می توان به دو روش زیر اشاره نمود :

الف) اندازه گیری مقاومت الکتریکی (Measurment Impedance **)**

این روش،تکنیک نسبتاً سریعی است که توسط آن جداسازی باکتری براساس فعالیت متابولیکی ومقاومت الکتریکی که ازخودنشان می دهد ، صورت می پذیرد . بدین صورت که باکتریهای موجود در نمونه ، با گذشت زمان از خود مقاومت الکتریکی نشان میدهند که میزان آن بر روی منحنی خاص نمایش داده می شود و اندازه گیری می گردد و از روی منحنی حاصله نوع باکتری و تعداد آن را تخمین می زنند . با استفاده از این روش جداسازی تعدادی از باکتری های بیماریزایی موادغذایی مانندسالمونلا،اشرشیاکولی،استفیلوکوکوس آرئوس (Staphylococcous Aureus) و لیستریامنوسیتوژنز ، به طور موفق انجام گردیده است .

ب) فلوسیتومتری

منظور از این روش ، اندازه گیری تعدادی از سلولهای باکتری در یک محیط سوپانسیون (مایع) است که در آن سلولها بطور جداگانه توسط یک کانال جریانی (Flow Cytometry Canal) به طرف دتکتور (Detector) هدایت می شوند و دستگاه قادر است که هر سلول را از نظر ترکیبی و هویتی مشخص نماید (براساس بازهای آلی آدنین (Adenine) ، تمیمین (Thymine)،گوانین(Guanine) و سیتوزین (Cytosine) با استفاده از این روش باکتری لیستریا منوسیتوژنز در شیر مورد شناسایی قرار گرفته است.

۲– روشهای شیمیایی

الف) روشهای سنجش تولید ATP توسط باکتری (ATP Assessment): تعیین میزان ATP تولید شده توسط باکتری یکی از روشهایی است که در تعیین وضعیت بهداشتی مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد و اساس آن واکنشی است که بین آنزیم لوسیفراز (Luciferase) صورت می گیرد . بدین صورت که آنزیم در حضور ATP تولید شده توسط باکتریها ، بر روی لوسیفرین اثر کرده و نور تولید می کند که میزان این نور تولید شده توسط دستگاه اندازه گیری می گردد . بدیهی است هر چه تعداد باکتری در نمونه مورد بررسی بیشتر باشد ، ATP بیشتری تولید گردید و نور بیشتری ایجاد می گردد .

ب) روش هیبریداسیون DNA (Hybridization DNA) : این روش که به آن DNA Probe نیز اطلاق می گردد با استفاده از قطعات آماده و شناخته شده DNA (پروب های آماده DNA) انجام می گیرد و در واقع بین قطعه DNA معلوم و شناخته شده با قطعه DNA باکتری مجهول و ناشناخته یک نوع هیبریداسیون تکنیک عبارتند از :

۱- نمونه مورد نظر را که حاوی باکتری است ، ازیک فیلتر غشایی عبور می دهند تاباکتری روی این غشاء عبور می دهند تا باکتری روی این غشاء را پر کند .

۲- DNA باکتری مورد نظر را جدا کرده و قسمتی از آن را روی فیلتر فیکس می نمایند . (DNA Probe باکتری).

۳- قطعه ای از DNA کارک داده شده را که می دانیم مربوط به چه نوع باکتری است (Probe آماده) به فیلتر اضافه می کنند تا توسط آن DNA باکتری مورد نظر را شناسایی کنند.بدین صورت که چنانچه قطعهDNA مارک داده شده با قطعهDNAباکتری مجهول جفت شوند و هیبرید تشکیل دهند، با شستشوی فیلتر از هم جدا نمی شوند و بر روی فیلتر باقی می مانند و بدین شکل باکتری مورد نظرشناسایی می گردد . مثلاً اگر پروب آماده ای از باکتری سالمونلا را به فیلتر اضافه کنیم ، چنانچه باکتری مورد بررسی نیز سالمونلا باشد،قطعاتDNA آنها با یکدیگر هیبرید تشکیل داده و جفت می شوند در حال حاضر این تکنیک به صورت کیت های تجاری خاصی جهت تشخیص باکتریهای سا لمونلا، کمپیلوباکترCampilobacter ژژونی ، و لیستریا مورد استفاده قرار می گیرد

۳–روشهای ایمونولوژیکی

روشهای سرولوژیکی از سالها قبل به صورت اختصاصی در مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته اند لیکن به دلیل وجودواکنشهای کثبت کاذب که در این واکنشها رخ می دهد چندان مورد استقبال واقع نگردیدند . در سالهای اخیر با استفاده از تکنیک هایی نظیر پادتن های مونوکلونال Mono Coaglutination وکوآگلوتیناسیون لاتکسLatex Coaglutinationوالیزااین مشکل مرتفع گردیده وامروزه کاربرد بسیارزیادی در تشخیص باکتریهای بیماریزا دارند

الف) روش کوآگلوتیناسیون لاتکس:

روش ساده ای است که بر اساس آن مبتنی بر انجام واکنش بین پادتن و پادگن (یا آنتی بادی و آنتی ژن) است که توسط یک آنتی بادی

مشخص شده ، آنتی ژن مورد نظر (باکتری یا توکسین ان) تشخیص داده می شود . امروزه در بازار ، پادتن های آماده که به لاتکس حساس شده اند Sensitised Latex Antibody به صورت تجارتی وجود دارد که نمونه آن کیست تجاری سالمونلا(پادتن ها آماده سالمونلا) است که برای جداسازی سالمونلادر نمونه های مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد . یعنی در اثر واکنش بین پادتن حاوی لاتکس و آنتی ژن (باکتری یا توکسین باکتری) آگلوتیناسیون ایجاد شده و باکتری تشخیص داده می شود

ب) روش ELISA :

یکی از تکنیک هایی که به طور وسیع و گسترده ای برای جستجوی میکروبها در مواد غذایی مورد استفاده قرار می گیرد ، الیزا میباشد که اساس آن اتصال یک آنزیم به آنتی ژن یا بادی مورد نظر است .

مراحل کار عبارتند از:

۱- باکتری یا توکسین مورد نظر(آنتی ژن) روی یک فاز جامد قرار داده می شود (که این فاز جامدمعمولاً پلی استیرن Poly Styrene است.

۲- آنتی سرم اضافه می شود.

۳-پادتن اختصاصی که حاوی آنزیم است اضافه می شود .(آنتی ایمونوگلوبولین)

۴-شستشوی ملایم می دهند و میزان آنزیم باقیمانده در لوله یا حفره میکروتیتر Microtiter را اندازه گیری می کند تا مقدار مصرف آنزیم ، میزان پادتن های اختصاصی سرم اولیه مورد آزمایش قرار می گیرد .

قابل ذکر است آنزیمی که به طور معمول در این تکنیک مورد استفاده قرار می گیرد ، آنزیم هورس رادیش پراکسیداز (Horseradish Peroxidase) است که مقدار آن را با اضافه کردن سوبسترای خاص پراکسیداز و به روش کالیمتری (Colorimeter) اندازه گیری می کنند .

نوعی از این تکنیک به نام ساندویچ الیزا موسوم است که درآن پادتن جذب فازجامد می شود و پس از شستشو محلول مورد آزمایش که حاوی آنتی ژن است اضافه می شود و مورد نظر حداقل باید دو موضع اتصال داشته باشد) امروزه از این روش برای تشخیص استافیلوکوکوس آرئوس ، سالمونلا ، اشرشیاکولی و توکسین های آنها استفاده می گردد .

ج) روش غنی سازی انتخابی حرکت (Selective Motility Enrichment)

این روش که از آن برای تشخیص سریع سالمونلا استفاده می گردد و به آزمایش سریع سالمونلا (Samonella Rapid Test) نیز معروف است ، در واقع یک روش سرولوژیکی است که با غنی سازی باکتری توام است . یعنی ابتدا بایستی مراحل پیش غنی سازی باکتری،غنی سازی انتخابی در محیط مایع و کشت در محیط جامد انتخابی صورت گرفته و سپس آزمایشات سرولوژیکی انجام گیرد . از آنجاییکه در این تکنینک ، حرکت سالمونلا مدنظر است،تنها سالمونلاهای متحرک قابل جداسازی و تشخیص هستند و باتوجه به اینکه اکثر سالمونلاها و به ویژه سالمونلا های بیماریزای مواد غذایی متحرک هستند ، این روش سریع کاربرد بسیار زیادی دارد .

۴– روشهای ژنتیکی

در طی سالهای اخیر روشهای ژنتیکی پیشرفت چشمگیری داشته ان دو به وفور در علوم بیولوژی و میکرو بیولوژی مورد استفاده قرار می گیرند . بعضی از این روشها عبارتند از تکنیک نمایش DNA پلاسمیدی ، تکنیک آنالیز DNA پلاسمیدی،تکنیک آنالیزDNA باکتری توسط آنزیمهای اندونوکلئاز و تکنیک PCR .

تکنیک PCR (Polymerase Chaina Reaction) : یکی از روشهای دقیق تشخیص باکتریهاست می باشد که منظور از آن پلیمریزاسیون و تکثیر و بزرگ سازی قسمتی از DNA باکتری است که با کمک پرایمرها (Primers)صورت می گیرد .

مراحل کار عبارتند از :

۱-قطعه ای از DNA باکتری مورد نظر را که باید بزرگ و تکثیر شود ، مشخص می کنند .

۲-با کمک حرارت ۹۵ درجه دو رشته DNA را از یگدیگر باز کرده و در واقع DNA باکتری را دناتوره می کنند .

۳-با استفاده از دو پرایمر که به دو طرف این قطعه DNA متصل می شود و یک آنزیم مقاوم به حرارت به نام DNA پلیمراز

(Thermostable DNA Polymerase) باکتری را پلی مریزه و تکثیر می نمایند . (این آنزیم از باکتری گرمادوستی به نام ترموفیلوس آکواتیکوس بدست می آید) این تکنیک ، روشی سریع ، قدرتمند و بسیار مناسب جهت

تشخیص وجود باکتری می باشد و حتی قادر است تعداد ۱۰ سلول از یک باکتری را در یک نمونه ۱۰ گرمی غذا ، مشخص نماید و از این رو یک روش بسیار ارزشمند محسوب می گردد .

نتیجه گیری :

برای تشخیص و جداسازی باکتریها بویژه باکتریهای بیماریزا مواد غذایی به طور کلی دو نوع روش وجود دارد . روشهای سنتی که از سالیان دور مورد استفاده قرار گرفته اند و روشهای جدید که غالباً طی دهه اخیر مطرح گردیده اند . روشهای سنتی که غالباً درسه مرحله پیش غنی سازی ، غنی سازی و کشت در محیط جامد انتخابی انجام می گیرند ، حتی در مواردیکه در محیطانتخابی پرگنه واضح و تیپیکی تولید شده باشد بهتر است که بوسیله بعضی از آزمایشات بیوشیمیایی مورد تایید قرار گیرند (آزمایشات ساده ای مثل کاتالاز،اکسیداز ، کوآگولاز و رنگ آمیزی گرم اگر به درستی انجام گیرند کمک بسیار زیادی به فرد نموه و از اتلاف وقت جلوگیری می نمایند)درمجموع روشهای سنتی اگرچه ارزش زیادی داشته و هزینه کمی را به همراه دارند لیکن جداسازی باکتریها با این روشها بسیار وقت گیر وزمان بربوده وهمواره برای محققین ، مشکلاتی را ایجاد می نمایند . این موضوع خصوصاً در مواقعی که با محدودیت زمانی مواجه هستیم و بایستی نتیجه را سریعاًاعلام نماییم اهمیت بیشتری پیدا می کند . روشهای جدید جداسازی و تشخیص باکتریهای بیماریزا ، برخلاف روشهای سنتی ، سرعت بسیاربیشتری دارند که علی رغم این برتری نیازمندآزمایشگاههای مجهزوافرادبسیارمجرب هستند وهزینه های بسیارزیادی رابه همراه دارند. باتوجه به پیشرفتهای اساسی و قابل توجهی که دراین روشهاصورت پذیرفته است بتدریج مشکلات مربوط به جداسازی وتشخیص باکتریهای مختلف مرتفع خواهند گردید . در بین روشهای جدید ، تکنیک های ELISA , PCR و هیبریداسیون DNA دارای کاربرد بیشتری می باشند .

محیط کشت های مورد استفاده در تشخیص وجداسازی باکتری های بیماری زا در مواد غذایی

برد پارکرآگار Bired-parker Agar

از این محیط برای تشخیص و جداسازی Staphylococcus aureus در صنایع غذایی استفاده می گردد.وجود

ماده سدیم پیروات در محیط ازآسیب های سلول ها و ارگانیسمها جلوگیری و به بهبود آنها کمک می کند.لیتیم کلراید و پتاسیم تلوریت از رشد سایر ارگانیسم ها جلوگیری می کند و گلایسین و پیروات هم به رشد استافیلوکوک ها کمک می نماید .این محیط در مقایسه با سایر محیط های مناسب رشد Staphylococcus aureus از خاصیت ممانعت کنندگی کمتری برخوردار است هر چند که استافیلوکوک رشد کرده و در محیط باید توسط تست های بیوشیمیایی تایید گردد. برای انکوبه نمودن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمایید

بایل اسکولین آگار Bile Esculine Agar:

یکی از محیطهای افتراقی است که برای جداسازی استرپتوکوک های گروه D از مواد غذایی و نمونه های دارویی مورد استفاده قرار میگیرد.به علت وجود مقدار زیاد نمک صفراوی دراین محیط (۴٪) رشد باکتری های گرم مثبت بجز استرپتوکوک ها ی گروه D و انتروکوک ها مختل می شود . استرپتوکوک های گروه Dوانترکوک ها قادر به هیدرولیزاسکولین به اسکلوتین ودکستروز می باشند که از ترکیب آنها با ماده فریک سیترات رسوب قهوه ای رنگی ایجاد می گردد. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

بیسموت سولفید آگار Bismth Sulphite Agar :

از این محیط برای جداسازی سالمونلاها بخصوص Salmonella typhi از نمونه های کلینیکی وغذایی استفاده میشود. حساسیت محیط به انتشار یکنواخت ماده بیسموت سولفید وابسته است بنابراین بهتراست قبل از ریختن محیط پلیت ها آن را بخوبی تکان دهید .وجود دو ماده برلیانت گرین و بیسموت سولفید در این محیط از رشد باکتری های گرم منفی روده ای جلوگیری می نماید کلنی های – Sal.enteritidis Sal.typhimurim Sal.typhi بصورت سیاه با ناحیه براق متالیک دیده میشود. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت دردمای۳۷ درجه قراردهید. کلنی های سیاه رنگ بعد از ۱۸ ساعت دیده می شود در صورتی که جلای کلنی ها بعد از۴۸ ساعت ساعت ظاهر میشود.

بلاد آگار (پایه) Blood Agar (Base)

یکی از محیطهای کشت پایه میباشد که بدون غنی سازی برای کشت و جداسازی تعدادی ازارگانیسمها مورد استفاده قرار می گیرد. با اضافه کردن ۵٪ سرم خون اسب یا گوسفند و غنی کردن آن امکان رشد باکتری ها سخت رشد رافراهم کرده و فعالیت همولیتکی آنان را نیز بررسی می کنیم . در صورت اضافه کردن ۷٪ خون بدون فیبرین در دمای ۷۰ درجه و ثابت نگه داشتن دمای آن به مدت ۱۰ دقیقه محیط Chacolate Agar بدست می آید . برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷- ۳۵ قرار دهید.

برین هارت اینفیوژن آگار Brine Heart Infusion:

یک محیط مغذی است که برای جداسازی و رشد باکتریهای سخت رشد مورد استفاد قرارمیگیرد. برای غنی کردن محیط میتوان به آن خون اضافه نمود.این محیط برای جداسازی اولیه باکتریهای هوازی ازنمونه های کلینیکی مناسب میباشد در صورت اضافه نمودن ۵۰ میلی گرم کلرامفنیکل و یا ۴۰ میلی گرم استرپتومایسین و یا مخلوط ۵۰ میلی گرم جنتامایسین و ۵۰ میلی گرم کلرامفنیکل به همراه ۱۰- ۵٪ خون در شرایط استریل به هر لیتر از آن (در دمای ۳۰- ۲۵ به مدت ۲- ۱ هفته) یک محیط مناسب برای جداسازی قارچهای پاتوژن بدست می آید که باکتریها در آن قادر به رشد نخواهند بود. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای درجه نگه داری نمایید.

برین هارت اینفیوژن براث Brine Heart Infusiom Broth:

یک محیط بسیار مغذی است که برای جداسازی Streptococci , Pnemococci وMeninegcococci و همجنین سایر باکتریهای سخت رشد پیشنهاد میگردد.اضافه نمودن ۰/۱ ٪ آگار به یک لیتر از محیط باعث ایجاد فشارهای متفاوت اکسیژن میگردد و محیط را برای

رشد باکتری های هوازی و بیهوازی مناسب میگرداند. ازاین محیط برای آزمایش قدرت بیماری زایی استرپتوکوکها استفاده میگردد و با اضافه نمودن مایع آسیت به محیط شرایط مناسبی برای رشد مننگوکوک ها فراهم میگردد. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت دردمای ۳۷ درجه نگهداری نمایید.

برلیانت گرین آگار Brilliant Green Agar :

یک محیط انتخابی برای جداسازی سالمونلاها می باشد ولی برای جداسازی Sal.typhi یاShigella توصیه نمیگردد. استفاده از یک محیط براث مناسب (تتراتیونات براث) قبل از گشت امکان جداسازی سالمونلا را افزایش می دهد همچنین با اضافه نمودن یک گرم سولفاپیریدین به یک لیتراز این محیط نیز احتمال جداسازی سالمونلا بیشترمیگردد. در آزمایشگاه های صنایع غذایی از محیط پیتون پاتر به عنوان کشت اولیه استفاده می شود . جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه قرار دهید.

برلیانت گرین بایل براث ۲٪ Broth Green Bile۲٪ Brilliant:

از این محیط برای جداسازی و تایید وجود کلی فرمها استفاده میگردد. وجود برلیانت گرین و نمک صفراوی ازرشد باکتریهای گرم مثبت جلوگیری میکند.ازاین محیط برای کنترل آب, لبنیات ومواد غذایی مورد استفاده قرارمی گیرد. برای تشخیص *E.coli* محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت د ر دمای ۴۴ درجه انکوبه می نماییم . وجود کدورت وگازدرلوله دروهام ازعلائم تشخیص میباشد. برای تشخیص *Coli – aerogenes* محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۲ درجه انکوبه می نماییم. اگر محیط را با غلظت ۲ برابر تهیه میکنید از اتوکلاو کردن آن خودداری نمایید.

بروسلا آگار(پایه) Brucella Agar (Base) :

یک محیط کشت پایه می باشد که با اضافه کردن ۵٪ سرم خون اسب یا گوسفند به سرم دکستروز آگار تبدیل می گردد . با اضافه نمودن ترکیب آنتی بیوتیکی ۱۰۰ میلی گرم Cyclohexamide + 25000 واحد Bacitracin + 6000z واحد B Polymixin به یک لیترازاین محیط میتوان محیط انتخابی بروسلا آگاررا تهیه نمود . پلیت های کشت داده شده را باید در محیطی با ۲۰-۱۰٪ گاز CO_2 و در دمای ۳۵ درجه به مدت۱۰ روز انکوبه نمود . کلنی بروسلا ریز صاف و شفاف میباشد. قطر آن پس از mm1 به mm2-2 افزایش میابد برای تعیین حساسیت بروسلاها به رنگ میتوان از محیط سرم دکستروز آگار استفاده نمود.

بروسلا براث (پایه) Brucella Broth (Base):

یک محیط کشت مناسب برای رشد باکتریهای سخت رشد همچون گونه های بروسلا استرپتوکوکها وپنوکوک ها و ...می باشد . کازیتون تریپتون موجود درمحیط به عنوان منبع غنی نیتروژن میباشد و عصاره مخمر موجود درمحیط به عنوان منبع تامین کننده ویتامین های گروه B میباشد . قند موجود در محیط نیز به عنوان منبع انرژی میکروارگانیسم میباشد.این محیط با اضافه کردن ۵٪ سرم خون اسب یا گوسفند به یک محیط بسیار مغذی تبدیل میشود با اضافه نمودن آنتی بیوتیکهای مناسب میتوان به عنوان محیط انتخابی بروسلا از آن استفاده نمود.

کری -بلر cary – Blair Medium:

نام دیگرآن *Transport medium Without Charcoal* می باشد که در سال ۱۹۵۴ توسط ((Stuart پیشنهاد گردید. سپس کری و بلر محیط خود را با حداقل میزان مواد غذایی و پتانسیل اکسیداسیون و احیا و با PH بالا پیشنهاد نمودند.ازاین محیط برای انتقال و جمع آوری نمونه های میکروبی استفاده می شود.وجود ماده تیوگلیکولات سدیم درمحیط باعث کاهش واکنشهای اکسیداسیون و احیا میشود و PH بالای محیط بخاطرجلوگیری ازاسیدی شدن محیط ونگهداری طولانی مدت باکتری میباشد. این محیط قادراست Salmonella و Shigella را بیش از ۴۹روز و Vibrioرا تا۲۲ روز نگهداری نمایید. (در دمای ۲۸ درجه) برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۵ درجه نگهداری نمایید.

ستریماید آگار Cetrimide Agar:

یک محیط انتخابی برای جداسازی *Pseudomonas aeruginose* از نمونه های کلینیکی است. وجود ماده ستریماید در محیط از رشد سایر باکتری ها جلوگیری می نماید . با استفاده از این محیط قدرت باکتریها را در تولید *Pyocyanin , Fluorescein* ارزیابی و آنها را شناسایی می کنیم. لازم به ذکر است که برای جداسازی*Pseu.aeruginosa* باید نمونه های موجود را از محیط *T.S.B* یا برین هارت اینفیوژن براث به محیط ستریماید آگار انتقال دهیم کلنی های رشد کرده به رنگ آبی آبی متمایل به سبز و یا بیرنگ میباشند. به منظورانکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه نگهداری نمایید.

کلمبیا بلاد آگار Columbia Blood Aga :

یک محیط بسیار مغذی است و از آن میتوان محیط بلاد آگار و Chacolate Agar تهیه نمود.از این محیط انواع محیط های افتراقی و انتخابی نیز می توان تهیه نمود . در صورت اضافه نمودن ۱ ویال از مکمل های(Supplement) بروسلا ,کمپیلوباکترو گاردانلا به ۵۰۰ سی سی از این محیط میتوان محیط های انتخابی آنان را تهیه نمود. بخاطر وجود ماده مغذی زیاد در این محیط باکتریها به مقدارزیادی در این محیط رشد میکنند . در این محیط کلنی ها بصورت تیپیک رشد میکنند و رنگ کلنی های رشد کرده بخوبی قابل بررسی است. نشاسته موجود در این محیط باعث خنثی سازی اثر سم های تولید شده می گردد و رشد سریع باکتری را نیز سبب میشود .بخاطر کربوهیدرات موجود در محیط ممکن است استافیلوکوک تولید همولیز آلفا نماید که در این صورت برای تایید گونه های باکتری باید از تست های بیوشیمیایی استفاده نمود.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قراردهید.

کوک میت براث Cook Meat Broth :

از این محیط برای کشت باکتری های هوازی و بیهوازی استفاده میگردد و محیط مناسبی برای جداسازی و شناسایی کلستریدیم میباشد.اولین بار این محیط برای جداسازی باکتری های بیهوازی برای زخمها مورد استفاده قرار گرفت ومشخص شد که عصاره بافت قلب ماده ای بسیار مغذی است و برای رشد اکثر باکتری ها مناسب میباشد.ازاین محیط برای تشخیص آلودگی به کلستریدیوم ها در صنایع غذایی نیز استفاده میشود. عصاره قلب موجود در محیط به علت دارا بودن ماده گلوتاتیون خاصیت احیا کنندگی دارد و محیط را برای رشد باکتری های بیهوازی مناسب میسارد. کدر شدن وتشکیل حباب از نشانه های رشد باکتری می باشد.سیاه شدن محیط یا متلاشی شدن گوشت مورد آزمایش نشانه بروز خاصیت پروتئولتیکی می باشد و به منظور کسب نتیجه مناسب از آزمایش بهتر است این محیط را بلافاصله پس ازتهیه مصرف نمود . در صورت نداشتن *Gaz Pac* برای ایجاد شرایط بیهوازی می توانید از یک لایهپارافین و یا یک لایه آگار در روی لوله ا استفاده کنید. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت در حرارت ۳۷ درجه نگهداری نمایید.

کورن میل آگارCorn Meal Agar:

یک محیط مناسب برای نگهداری قارچها و تولید کلامیدوسپور در *Candida albicans* میباشد. با اضافه نمودن۲گرم گلوکز به ۱ لیتر محیط کورن میل آگار محیط مناسب رشد فیتوپاتوژن ها بدست می آید . اضافه نمودن ۱٪*Tween80* به یک لیترمحیط باعث تولید زیاد و سریع کلامیدوسپودم در *Candida albicans* می گردد.وجودعصاره ذرت برای رشد و تغذیه قارچها مناسب میباشد.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴ روزدرحرارت۲۵ درجه نگهداری نمایید.

سیستین تریپتون آگار Agar Cystine Tryptone:

از این محیط برا ی نگهداری ارگانیسمهای مدفوع مانند بروسلا و کارین باکتریا– پارسارلا و پنموکوکوس و همچنین استرپتوکوکوس بدون نیازبه اضافه کردن ماده مکمل می توان استفاده نمود. باکتری های بیهوازی همچون اکتینومیسز باوایس و... میتوان حتی در حضور دی اکسید کربن تولید شده به راحتی در این محیط رشد نماید.عامل حرکت نیزدراین محیط بوسیله شیارهای ناشی از حرکت باکتری در محیط قابل مشاهده است از آنجایی که در فرمولاسیون محیط هیچگونه ماده کربو هیدراتی وجود ندارد از این محیط در صورت اضافه کردن کربوهیدراتها میتوان به عنوان محیط آموزشی جهت بررسی فرایند تخمیر نیز استفاده نمود.

دکستروز آگار Dextros Agar:

یک محیط کشت مغذی برای کشت گروه زیادی ازمیکروارگانیسمها میباشد.با اضافه کردن ۵٪ خون اسب یا گوسفندبه محیط استریل شده درشرایط استریل و در دمای ۵۰ درجه میتوان محیط دکستروز بلاد آگار تهیه نمود میزان زیاد دکستروز موجود در محیط به عنوان منبع تامین کننده انرژی مورد نیاز رشد میکروارگانیسمها میباشد.ازطرفی همین میزان دکستروزمانع بررسی اثرهمولیز در این محیط میشود.تریپتوزو بیف اکسترکت موجود در محیط به عنوان منبع تامین کننده نیتروژن و ویتامین های مورد نیازرشد میباشد.نمک موجود در محیط نیز تعادل اسمزی محیط را بوجود می آورد. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه نگهداری نمایید.

اشرشیا کولی براث EC Broth Broth Escherichia Coli:

یک محیط کشت انتخابی است که برای جداسازی و شمارش کلی فرم ها در آب و مواد غذایی مورد استفاده قرارمی گیرد.وجود لاکتوز در این محیط امکان رشد باکتری های لاکتوز مثبت بخصوص کلی فرمها را فراهم میسازد ووجود نمک صفراوی در محیط ازرشد باکتری های گرم مثبت جلوگیری مینمایید.بافر فسفات موجود درمحیط باعث کنترل Ph درهنگام تخمیر لاکتوزمیشود.در این محط باکتریهای لاکتوز مثبتی که لاکتوز را مصرف میکنند تولید گازمی نمایند. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵درجه و یا ۳۷ درجه قراردهید.وجود گازدرلوله های دروهام در دمای ۴۵ درجه نشانه وجود *Coli Escherichia* است در حالی که مشاهده گاز در حالت دوم یعنی در دمای ۳۷ درجه نشانه وجود سایر کلی فرم ها بجز *Escherichia Coli* میباشد.

ائوزین متیل بلو آگار E.M.B Agar (Eosin Methylene Blue Agar):

یک محیط انتخابی – افتراقی است که برای جداسازی باکتری های گرم منفی روده ای بکار میرود.دراین محیط کلنی*Salmonella* و*Shigella*شفاف و بی رنگ است در حالی که کلنی *E.coli* با قطر تقریبی ۲ تا ۳ میلی متر دارای جلای فلزی با مرکز تیره میباشد.بعضی از انواع کلی فرم ها روی این محیط تولید کلنی های موکوئید مینماید که دارای جلای فلزی با مرکز قهوه ای رنگ می باشد. کلنی آنتروباکتر

معمولا با قطر ۴ تا ۶ میلی متر مشاهده می گردد.این محیط مناسب رشد باکتری های گرم مثبت نمیباشد.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

لیور براث Liver Brot:

این محیط برای جداسازی کلستریدیوم و سایرباکتری های بیهوازی از گوشت و سایر مواد غذایی پیشنهاد گردید.برای استفاده از این محیط تکه های مورد آزمایش را در آبگوشت ۸۰ درجه انداخته و آن را با یک لایه وازلین یا پارافین می پوشانیم.سپس دردمای ۳۷ درجه به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت انکوبه میکنیم.تولید گاز نشان دهنده وجود کلستریدیوم است که برای تایید آزمایش از رنگ آمیزی گرم استفاداه مینماییم.

گلوکز براث Glucose Broth :

از این محیط برای بررسی اثر تخمیر گلوکز بدون حضور معرف استفاده میشود.همچنین از این محیط برای بررسی حساسیت میکرودارگانیسمها درمقابل رقتهای مختلف آنتی بیوتیک ها نیز استفاده میگردد.درمحیط گلوکزبراث به دلیل عدم حضور کربوهیدرات (بجز گلوکز) اثر تخمیر گلوکز به راحتی قابل مشاهده است زیرا موادی همچون عصاره

گوشت گاو که تا حدودی حاوی کربوهیدرات میباشد دراین محیط وجود ندارد.دراین محیط از تریپتون به عنوان منبع غذایی مناسب رشد ارگانیسمها استفاده شده است و سدیم کلراید موجود در محیط تعادل اسمزی محیط را سبب میشود .وجود ۵٪ گلوکز به عنوان تنها منبع کربوهیدرات باعث تامین انرژی لازم برای رشد و مشاهده پدیده تخمیر میباشد.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

هکتون انتریک آگار Hektoen Enteric Agar:

یک محیط مناسب برای جداسازی سالمونلا و شیگلا میباشد.دراین محیط ۳ قند لاکتوز سوکروز وسالیسین وجود دارد که حالت اپتیمم را برای جداسازی پاتوژنهای روده ای فراهم می آورد میزان قندها و پیتون موجود در محیط باعث جلوگیری از اثرممانعت کننده نمک صفراوی میشود و معرف های موجود در محیط رشد خوب سالمونلا و شیگلا را سبب میگردند.غلظت زیاد لاکتوز باعث مشاهده بهتر پاتوژنهای روده ای میشود و مشکل تاخیر تخمیر لاکتوز را به حداقل می رساند . به دلیل ترکیب تیوسولفات سدیم و فریک آمونیوم سیترات باکتری های تولید کننده گاز S_2H تولید کلنی هایی با مرکز تیره می نمایند.با اضافه کردن ۱۵ میلی گرم در لیتر *Novobiocin* از رشد باکتری های*Citrobacter* و *Proteus* جلوگیری می گردد و محیط اختصاصی تر می شود.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

کلیگلر آیرون آگار K.I.A (Iron Agar Kligler):

اولین بار از این محیط برای تشخیص باکتریهای گرم منفی روده ای استفاده شد.در ترکیب ای محیط ۲ قند لاکتوز و گلوکز وجود دارد که ازتخمیر این ۲ قند و احیای گوگرد میتوان گازS_2H و رسوب سیاه ناشی از ترکیب آن با نمک آهن را مشاهده نمود.در این محیط میتوان تولید گاز را توسط باکتری ها مشاهده نمود.برای کشت باکتری های مورد آزمایش باید از ۲ قسمت شیب دار لوله (بصورت زیگزاگ) و استوانه ای لوله (بصورت عمقی) استفاده نمود.در صورت تخمیر هر دو قند PH محیط اسیدی و معرف فنل رد به رنگ زرد تبدیل میگردد و اگر باکتری فقط قادر به تخمیر گلوکز باشد بعد از گذشت ۳ساعت قسمت شیب دار و استوانه ای زرد رنگ می گردد ولی به علت مقدارکم گلوکز

(۰/۱ لاکتوز) وعدم توانایی در تخمیرلاکتوز باکتری جهت ادامه حیات شروع به استفاده پیتون مینماید ومحیط را مجددا قلیایی کرده و رنگ آن قرمزمیگردد. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸تا ۴۸ ساعت در دما ۳۷ درجه قرار میدهید.

لاکتوز براث Lactose Broth :

محیطی است که به منظور تشخیص اولیه کلی فرم ها در شیرآب و مواد غذایی مورد استفاده قرار میگیرد .لوله های حاوی لاکتوز براث توسط نمونه های رقیق شده کشت داده میشود و دردمای ۳۷ درجه به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوبه میگردد.معمولا تشخیص تولید گاز توسط باکتری بعد از۴۸ ساعت امکان پذیراست و باید آن را درلوله های دروهام مشاهده نمود.این تشخیص به عنوان تشخیص اولیه کلی فرمها قلمداد میشود و پس ازآن باید توست تست های بیوشیمیایی تایید گردد. اگر از غلظت ۲ برابر محیط استفاده میکنید از حرارت دادن زیادی آن خودداری کنید.

لوریل سولفات براث Lauryl Sulphate Broth

از این محیط برای تشخیص وجود کلی فرم ها درآب, لبنیات (بخصوص بستنی) و سایر مواد غذایی استفاده میشود.روش کار بدین صورت است که با استفاده از رقتهای مختلف مقداری از ماده مورد آزمایش را دردمای ۳۵ درجه به مدت ۲۴تا۴۸ ساعت انکوبه میکنیم.لوله هایی که تخمیر نشان داده اند را انتخاب و با ۲ لوله دیگر امتحان مینماییم. با استفاده از بن ماری یکی را دردمای ۳۵ درجه و دیگری را دمای ۴۴ درجه نگهداری میکنیم.اگ درلوله ۴۴ درجه پس از ۷ ساعت اثر تخمیر مشاهده گردید با استفاده از معرف کواکس یا ارلیش آزمایش ایندول را انجام میدهیم.مثبت بودن آزمایش نشانه وجود *E.coli* است. اگر در لوله ۳۵ درجه اثری از تخمیر دیده نشد آن را به عنوان تخمیراولیه ارگانیسمهای دیگر غیر از کلی فرمها قلمداد مینماییم.

لایزین دکربوکسیلاز براث Decarboxylase Broth Lysine:

یک محیط افتراقی برای شناسایی باکتریهای روده ای بخصوص *Samonella* و*Arizona* براساس توانایی آنها در دکربوکسیلاسیون لایزین و تولید *S۲H* می باشد.از این محیط به عنوان یک محیط مناسب برای شناسایی گونه های

لاکتوزمثبت ولاکتوز منفی سالمونلا استفاده میگردد.خیلی از گونه های سالمونلا بخاطر سرعت بالای تخمیر لاکتوز مانع تولید گاز*S۲H* درمحیط های همچون *TSI* میشوند بنابراین با استفاده ازدکربوکسیلاسیون لایزین آنها راشناسایی می کنیم.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

لایزین آیرون آگار Lysine Iron Agar:

یک محیط افتراقی برای شناسایی باکتریهای روده ای بخصوص *Samonella* و*Arizona* براساس توانایی آنها در دکربوکسیلاسیون لایزین و تولید *S۲H* می باشد.از این محیط به عنوان یک محیط مناسب برای شناسایی گونه های لاکتوز مثبت و لاکتوز منفی سالمونلا استفاده میگردد.خیلی از گونه های سالمونلا بخاطر سرعت بالای تخمیرلاکتوزمانع تولید گاز *S۲H* در محیط های همچون *TSI* میشوند بنابراین با استفاده از دکربوکسیلاسیون لایزین آنها را شناسایی می کنیم.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت دردمای ۳۷ درجه قراردهید.

مکانکی آگار MecConkey Agar:

یکی از محیط های انتخابی – افتراقی است که برای جداسازی *Coliform* و*cholera Vibrio* و سایر پاتوژنهای روده ای مورد استفاده قرار می گیرد.وجود نمک صفراوی در این محیط از رشد باکتریهای گرم مثبت جلوگیری می نماید کلنی کلی فرمها روی این محیط به رنگ قرمز روشن تا ارغوانی و به همراه هاله ای از رسوب املاح صفراوی دیده می شوند.این هاله بر اثر تاثیر اسید حاصل از تخمیر لاکتوز روی املاح صفراوی ایجاد میشود.باسیل هایی که لاکتوز را تخمیر نمی کنند رنگ محیط کشت را تغییر نمی دهند و کلنی بی رنگ ایجاد میکنند.که نور را از خود عبور میدهد.به طورکلی کلنی لاکتوزمثبتها قرمز رنگ (با هاله)و کلنی لاکتوز منفی ها بی رنگ میباشند موارد استفاده این محیط عبارتند از:

- برای آزمایش آلودگی میکروبی در آب

- برای جداسازی باسیلهای روده ای از مدفوع و سایر مواد آلوده

- برای تایین حساسیت باسیلهای روده ای در برابر آنتی بیوتیکها

- برای تشخیص سوشهای مایکوباکتریوم (با افزودن کریستال ویولت)

برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

مانیتول سالت آگار Mannitol Salt Agar:

یک محیط انتخابی برای جداسازی و شمارش *Staphylococci* از شیروماده غذایی و... میباشد.وجود قند مانیتول و معرف فنل رد باعث میگردد که استافیلوکوک طلایی (*Staphylococcus* aureus) تولید کلنی زرد رنگ با هاله زرد رنگ نماید در صورتی که سایر استافیلوکوک ها معمولا کلنی های قرمز با هاله بنفش رنگ ایجاد میکنند. همچنین وجود مقدار زیاد کلرور سدیم در این محیط از رشد سایر باکتریهای پاتوژن جلوگیری مینماید.

ام . آر- وی. پی MR –VP :

از این محیط برای آزمایش متیل رد Voges – Proskauer به منظور شناسایی کلی فرمها استفاده میشود.گلوکز موجود در محیط بر اثر فعالیت کلی فرمها تخمیر میشود و در اثر پایین آمدن ph محیط رنگ قرمز ارغوانی ایجاد میشود.در مورد *E.coli* اگر زمان انکوباسیون زیاد شود ph محیط به شدت اسیدی و MR مثبت میشود.گونه های کلبسیلا با انجام دکربوکسیلاسیون پیرویک اسید وتولید استون تست MR رامنفی میکنند.(استون تولید شده رامیتوان با اضافه نمودن معرف VP و تغییر رنگ محیط به قرمز تشخیص داد.برای استفاده از این محیط پس از انجام عمل کشت محیط را به مدت ۲ روز در دمای ۳۷ درجه انکوبه می کنبم.سپس ۵ قطره از معرف ۰/۰۴ ٪ متیل رد را اضافه مینماییم.ایجاد رنگ قرمز ارغوانی نشانه مثبت بودن MR است.برای انجام آزمایش VP از ماده کراتنین یانفتل به عنوان ماده گوانین دار استفاده میشود و ایجاد رنگ قرمز مایل به صورتی نشانه مثبت بودن آزمایش است.

مولر – هینتون براث Mueller – Hinton Broth:

یک محیط کشت مناسب برای جداسازی Neisseria میباشد.و در آزمایش حساسیت میکروبی به آنتی بیوتیکها نیز مورد استفاده قرار میگیرد.این محیط به منظوربررسی حداقل غلظت آنتی بیوتیک (MIC) برای میکروبهای هوازی کاربرد دارد.با استفاده ازاین محیط جداسازی باکتریهای Gonococci وMeningococci بخوبی انجام میگیرد.

مولر – هینتون آگار Hinton – Mueller Agar:

از این محیط برای بررسی حساسیت میکروارگانیسمها به داروهای ضد میکروبی استفاده میشود.هر چند که در ابتدا از این محیط برای جداسازی گونه های Neissria استفاده میکردند.با استفاده از دیسکهای آنتی بیوگرام ۲۴ ساعت بعد از قرار گرفتن آنان بر روی محیط کشت داده شده پی به نوع عامل ممانعت کننده رشد می بریم.در این روش عوامل زیر در تشخیص درست نقش دارند:

- غلظت میکروارگانیسم

- غلظت دیسکهای آنتی بیوتیک

- زمان تهیه و ضخامت محیط

- روش انجام آزمایش

- مقیاسی که برای تفسیر نتایج بکار میبریم

درصورت اضافه نمودن ۵ ٪ سرم خون اسب یا گوسفند به محیط امکان رشد باکتری های سخت رشد را فراهم خواهیم کرد.باد توجه داشت که ضخامت محیط در قسمت های مختلف پلیت باید یکسان و در حدود ۴ میلی متر باشد معمولا در پلیت های ۹۰ میلی متری باید میزان ۲۵ میلی لیتر و در پلیت های ۱۴۰ میلی متری حدود ۶۰ میلی لیتر محیط ریخته شود.

پپتون واتر Peptone Water

یکی ازمحیط های کشت پایه است که برای انجام آزمایش تخمیر میتوانیم انواع قندها ومعرف ها را به آن اضافه کنیم. محیط پپتون واتر مناسب برای جداسازی Vibrio Cholerace ازمواد آلوده محیطی است که ph آن به ۸/۴ رسیده باشد (Cruickshank – 1968) این محیط برای بررسی آزمایش ایندول نیز مناسب می باشد.با این حال توصیه می گردد که برای این منظورازمحیط تریپتون واتراستفاده می شود. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه نگهداری نمائید.

نیترات آگار / براث (Base) (Base) / Broth) Nitrate Agar

شاخص تخمیر نیترات درشناسایی انواع باکتریها بخصوص گروه انتروباکتریاسه ها مورد استفاده قرارمیگیرد اخیرا کمیته ISO محیط نیترات براث برای شمارش کلنیهای باکتری باسیلوس سرئوس در دمای ۳۰ درجه توصیه شده است.باکتریهای که قادربه دنیتریفیکاسیون نیترات هستند تولید گاز نیتروژن می نماید (واکنش Griess).برای گروه باکتریهای گرم منفی که قادر به تخمیر گلوکز می باشند تست نیترات بسیارمهم میباشد. تخمیر نیترات یک پدیده غیر هوازی بسیار مهم میباشد که باعث ایجاد حلقه قرمز رنگ می شود (واکنش Griess).اگر

ارگانیسم به سرعت رشد نمود و به سرعت تخمیر کرد باید آزمایش را تکرار نمود.با این تفاوت که سرعت قرائت نتیجه آزمایش باید سریع تر انجام گیرد.زیرا احتمال تبدیل نیترات به گاز نیروژن وجود دارد.

نوترینت آگار Nutrient Agar /with NaCI :

یک محیط کشت عمومی است که برای نگهداری ارگانیسمها بصورت Stock میتوان از آن استفاده نمود.محیطMN-2401 برای کشت و رشد ارگانیسمهای سخت رشد مورد استفاده قرار نمی گیرد.اما محیط MN-2403 بااضافه کردن ۱۰٪ سرم خون اسب ,گوسفند برای رشد ارگانیسمهای سخت رشد مناسب میگردد.محیط MN-2401 فاقد نمک میباشد.لذا ازتشکیل حالت Swarming درProteus mirabillis جلوگیری مینماید.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگداری نمایید.

نوترینت براث BrohNutrient:

ازابن محیط برای مشخص کردن میزان آلودگی نمونه ها استفاده میگردد که احتمال آلوده بودن آنها به میکروارگانیسم ها کم میباشد . با اضافه نمودن ۰/۰۵٪ ماده تلوریت پتاسیم به یک لیترا زآن محیط مناسب رشدListeria monocytogenes فراهم میگردد.همچنین با اضافه نمودن سرم خون اسب یا گوسفند میتوان ازآن برای جداسازی میکروب های سخت رشد نیزاستفاده نمود.نوترینت براث محیط مناسبی برای رشد و شناسایی Estaphylococci میباشد .برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمائید.

سیستین تریپتون آگار Bafal Mediom OF:

ازاین محیط برای بررسی نحوه استفاده باکتری های گرم منفی روده ای ازکربوهیدرات استفاده می شود جهت انجام آزمایش از ۲لوله حاوی محیط به همراه قند اضافه شده مورد نظردرشرایط هوازی و بیهوازی استفاده می نماییم.نتایج نشان میدهد که باکتریهای احیا کننده اسید را درهرلوله هوازی و بیهوازی تولید میکنند و رنگ محیط را تغییر میدهد ولی باکتریهای اکسید کننده فقط درلوله هوازی تولید اسید میکند.درمحیط بیهوازی میزان رشد باکتری ها بسیار کم و درنتیجه اسید تولید شده بسیارکم می باشد.بطوری که رنگ محیط تغییرنمیکند.باکتری هایی که به عنوان احیا کننده و اکسید کننده طبقه بندی نمی شوند درمحیط بیهوازی هیچ واکنشی نداشته ولی درمحیط هوازی تولید قلیا میکند.

اورنج سرم آگار Orange Serum Agar :

ازاین محیط برای تشخیص کشت و شمارش ارگانیسمها مخرب مرکبات و فراورده های آن استفاده میگردد.تریپتون وعصاره مخمرموجود درمحیط تامین کننده مواد غذایی نیتروژنه مورد نیازبرای رشد ارگانیسمها می باشد و دکستروز درحین تخمیر شدن انرژی لازم رشد را فراهم می آورد.عصاره پرتقال شرایط محیطی لازم برای رشد ارگانیسم های اسید دوست و پارازیت گونه های مرکبات را محیا میسازد.روش کار بدین صورت است که پس از آماده کردن محیط ۱ میلی لیترازنمونه مورد آزمایش را در پلیتها استرین میریزیم و ۲۰ میلی لیترازمحیط آماده شده که دمای آن به ۵۰درجه رسیده به آن می افزائیم .سپس برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۷ روز در دمای ۳۰ درجه نگهداری و کلنی های رشد کرده را شمارش مینماییم.

پی.آ.براث PA Broth:

محیط "هست یا نیست" که نام کامل آنPresence Absence Broth میباشد برای جداسازی باکتریهای coliform ازآب مورد استفاده قرارمیگیرد.به منظورجداسازی نمونه آلوده اب ازنمونه غیر آلوده در ۱۰۰ میلی لیتر ازآب مورد آزمایش هیچگونه اثری ازکلی فرم نباید دیده شود .این محیط برای تشخیص اولیه آلودگی آب مورد استفاده قرار میگیرد و بعداز آن باید از محیط های تشخیصی دیگری همچون برلیانت گرین بایل براث (MB-1202) استفاده نمود.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷- ۳۵ درجه قرار دهید.

فنل رد آگار / براث (Base) Phenol Red Agar (Base) /Broth:

ازاین محیط کشت برای تشخیص انواع واکنشهای بیوشیمیایی(پس ازافزودن ماده بیوشیمیایی لازم)بوسیله پدیده تخمیر استفاده مینمائیم.در اثر تخمیر مواد افزوده شده و تقییرph محیط فنل رد موجود از رنگ قرمز به زرد تبدیل میگردد که این تغییررنگ یکی از راه های تشخیص محیط میباشد.برای کنترل Bacillus cereus توصیه می گردد.پس از اتوکلاو کردن محیط به هر ۹۰ میلی لیتر آن ۱۰ میلی لیتر امولوسیون زرده تخم مرغ (زرده تخم مرغ + سرم فیزیولوژی با حجم مساوی) اضافه نمایید برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه نگهداری نمایید.

پلیت کانت آگار Plate Count Agar|:

این محیط برای شمارش ارگانیسمهای زنده درشیر, لبنیات ,آب و فاضلاب توصیه میشود.وجود ماده تریپتون درمحیط تامین کننده آمینو اسید مورد نیازوجود ماده عصاره مخمرتامین کننده کمپلکس ویتامین B می باشد.مناسب ترین روش استفاده روش پورپلیت با رقتهای مختلف میکروبی می باشد جهت انکوبه کردن محیط توصیه میشود پلیت کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ تا ۳۲ درجه قرار دهید سایر روش های انکوبه کردن عبارتند از:

- مدت ۷ تا ۱۰ روز در دمای ۵-۷ درجه

- مدت ۳ تا ۵ روز در دمای ۲۰ درجه

- مدت ۲ تا ۳ روز در دمای۴۵ درجه

- مدت ۲ روز در دمای ۵۵ درجه

محیطی اسیدی است که برای کشت و شمارش کپک ها و مخمر ها مورد استفاده قرار میگیرد.عصاره سیب زمینی به همراه قند به رشد سریع قارچها کمک میکند و اسیدیته پائین محیط باعث عدم رشد گونه های میکروبی می گردد. اگر بخواهیم ازمحیط برای رشد کپک ها و مخمرها استفاده نمائیم باید ph محیط را با استفاده از اسید لاکتیک ۱۰٪ به۵/۳ برسانیم.برای این کار هنگامی که دمای محیط به ۵۰ درجه رسید ۱ میلی لیتر اسید لاکتیک ۱۰٪ به ۱۰۰ میلی لیتر محیط استریل شده اضافه مینماییم. پس از اسیدی کردن محیط از حرارت دادن دوباره آن خودداری نمایید. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۵ روزدر دمای ۲۱ درجه نگهداری و کلنیهای کپک قارچ ویا مخمر رشد کرده را شمارش مینماییم.

آر- تو. ای آگار R – 2A Agar |:

یک محیط پیشنهادی برای شمارش باکتریهای هتروتروف درآب میباشد.ازاین محیط به روش پورپلیت استفاده میشود. با استفاده ازاین محیط درصد کم آلودگی موجود د رنمونه های آب جداسازی وشمارش می گیرند.برای انکوبه کردن نیاز به تیمار حرارتی پائین و مدت زمان بالا می باشد تا ارگانیسم های زنده ای که تحت تاثیر کلرزنی مقاوم شده اند بصورت واقعی ارزیابی و شمارش میگردند.این محیط ازلحاظ مغذی بودن غنی نمیباشد و میزان کم مواد مغذی در این محیط مشابه محیط استاندارد آگارمیباشد .برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۷ روز در دمای ۳۵ درجه نگهداری نمایید.

سابرو دکستروز آگار ۴٪ Sabouraud Dexterose Agar:

محیطی اسیدی است که برای جدا نمودن انواع گونه های قارچ مورد استفاده قرار می گیرد.از این محیط بصورت ترکیب با آنتی بیوتیکهای مختلف می توان استفاده کرد و میتوان قارچهای پاتوژن را از مواد بسیار آلوده به قارچ و باکتری جدا نمود.جورج و همکارانش در سال ۱۹۵۴ با افزودن ۰/۵ گرم سیکلوهگزامید +۲هزارواحد پنی سیلین +۴۰هزار واحد استرپتومایسین به یک لیتر سابرو دکستروزآگار اتو کلاو و سرد شده به صورت آسپتیک دریافتند که قارچهای حساس به سیکلوهگزامید عبارند از:

***boydii Allescheria*-**

***Aspergilus fumigatus*-**

***Cyptococcus neoformans*-**

و قارچهای حساس به پنی سیلین و استرپتومایسین عبارتند از:

***Actinomyces*-**

***Nocardia asteroids*-**

سابرو دکستروز براث ۲٪ Sabouraud Dexterose٪۲

محیطی اسیدی است که برای کشت و تکثیر درماتوفیتها مورد استفاده قرار می گیرد.کپکها مخمرها و باکتریهای اسید دوست قادر به رشد در این محیط میباشند.از این محیط برای کنترل فراورده های دارویی و آرایشی و بررسی حساسیت قارچها به آنتی بیوتیکها نبز می توان استفاده نمود.با اضافه نمودن سیکلوهگزامید و پنیسیلسن و همچنین استرپتومایسین از رشد باکتری های همراه قارچ می توان جلوگیری کرد. استفاده از این محیط باعث افزایش قدرت جداسازی Candida albicans ازکشت خون نمونه های کلینیکی می گردد.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به ۱۰ روز در دمای ۲۵-۲۲ نگهداری نمائید.

سابرو کلرامفنیکل آگار Sabrouraud Chloramphenicol Agar :

یک محیط انتخابی و اسیدی است که برای رشد و جداسازی کپکها و مخمرها مورد استفاده قرارمی گیرد . پپتون و تریپتون موجود درمحیط تامین کننده نیتروژن مورد نیاز عامل کشت داده شده میباشد ودکستروزبه عنوان منبع انرژی محسوب میگردد.وجود کلرامفنیکل درمحیط

ازرشد باکتریهای گرم مثبت وگرم منی جلوگیری مینماید.به منظورانکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه نگهداری مینماییم.

سابرو مالتوز آگار / براث Agar / Broth Sabouraud Maltose :

یک محیط اسیدی مناسب برای رشد و تکثیرکپکها و مخمرها است از این محیط برا بررسی قارچهای انگلی پوست و مو نیز استفاده میگردد.ph پایین این محیط ازرشد و تکثیرگروه زیادی ازباکتریها جلوگیری میکند.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت در دمای ۳۰-۲۵ درجه نگهداری نمایید.به منظور اطمینان از رشدیاعدم رشد قارچ در محیط آنرا باید به مدت ۴ تا ۶ هفته انکوبه کرد.

سلنیت سیستئین براث (Base) Selenite Cystine Broth:

یک محیط مغذی برای جداسازی سالمونلا از نمونه های کلینیکی (مدفوع) و غذایی است Salmonella TyphiGuth را جداسازی نمایید.ماده سیستئین موجود در یک احیا کننده میباشد که باعث کاهش اثرسمی ماده بی سلینیت و کاهش اثرسمی ماده بی سلینیت وکاهش اثر سولفور تولید شده در محیط می شود و رشد سالمونلا را تسریع می نماید. سلینیت اضافه شده به محیط از رشد کلی فرمها و انتروکوکها در تا ۱۲ ساعت اول انکوباسیون جلوگیری مینماید وبعد ازاین مدت اثر ممانعت کنده آن کمترمی شود.(سالمونلا, سودومونا و پروتئوسها کمتر تحت تاثیر این ماده هستند) میزان نمونه مورد استفاده در۱تا۲ گرم در ۱۰ تا ۱۵ میلی لیتر ازمحیط باشد و در صورت استفاده ازنمونه های مایع۲ باید ازرقت برابرمحیط استفاده نمود.محیط را بیشتر از۲۴ ساعت انکوبه نکنیدزیرا اثر سلینیت دراین محیط ازبین میرود. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را مدت ۱۲ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

استارچ آگار Starch Agar:

از این محیط برای شناسایی باکتریهای تجزیه کننده نشاسته درصنایع غذایی و نمونه های کلینیکی نیزاستفاده میگردد.به منظوربررسی محیط کشت داده شده پس از گذشت ۴۸ ساعت سطح محیط را با محلول ید موجود در کیت گرم بپوشانید و به واکنش آن توجه نمایید.کلنی هایی که نشاسته را هیدرولیز کرده اند به صورت بیرنگ نمایان میشود.اما کلنی هایی که نشاسته را هیدرولیز نکرده اند به رنگ آبی یا بنفش در می آیند.به منظور انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه نگهداری نمایید.

اس . آی . ام S.I.M Mediom (Sulphide.Indol.Motility.Mediom) :

این محیط کشت به منظوربررسی حرکت تولید اندول و گازH_2S توسط گونه های مختلف باکتری مورد استفاده قرار میگیرد.آزمایش احیای سولفوربه منظور تشخیص باکتریهای که قادربه احیای گوگرد هستند بکار میرود ود رتشخیص باکتریهای گرم منفی روده ای بسیار مهم میباشد.H_2Sتولید شده توسط پدیده تخمیر با سولفات آهنی موجود در محیط ترکیب میشود و رسوب سیاه رنگ هیدروژن سولفوره ایجاد می نماید.آزمایش تولید اندول به منظو رتشخیص باکتری هایی بکار میرود که دارای آنزیم تریپتوفازهستند.این آزمایش جزءآزمایشهای گروه IMVIC می باشد و در تشخیص انتروباکتریاسه ها بسیار مهم است بدین صورت که آنزیم تریپتوفاز قادر است تریپتوفان موجود در محیط را به اندول آمونیاک و پیرویک اسید تبدیل نماید.با اضافه کردن معرف کواکس حلقه قرمز رنگی ایجاد میگردد که نشانه وجود اندول است شاخص حرکت باکتری ها به توانایی حرکتی باکتری و نوع کشت آن (کشت عمقی) بستگی دارد.به علت میزان کم آگار موجود در محیط

باکتریهایی که قابلیت حرکت دارند با بجا گذاشتن خط حرکتی (بصورت شعاعی)قابل رویت می باشند به منظور انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸تا۲۴ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه نگهداری نمایید.

سیمون سیترات آگار Agar Simmon,s Citrate:

محیطی افتراقی است که با درنظرگرفتن توانایی باکتریهای میله ای شکل گرم منفی در مصرف سیترات سدیم به عنوان تنها منبع کربن در نظر گرفته شده است.آنزیمی که واکنش شکسته شدن سیترات را به عهده دارد به نام های گوناگونCitrate Aldolas , Citritase, Citrate-lyas خوانده میشود.نخستین فراورده های حاصل از شکسته شدن سیترات اگزالواستات و استات می باشد که در نهایت به پیروات و انیدرید کربنیک تبدیل می گردند بنابراین به نظر می رسد که قلیایی شدن محیط به دلیل تولید بیش از حد انیدرید کربنیک و ترکیب آن با سدیم و آب می باشد .که ایجاد کربنات سدیم نموده و باعث تغییر رنگ معرف بروموتیمول بلو از سبز به آبی تیره می گردد.آزمایش سیمون سیترات را بیشتر برای تشخیص E.coli (سیترات منفی) از Enterrobacter(سیترات مثبت)انجام می دهند.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری مینماید.

سالمونلا – شیگلا آگار S.S Agar (Salmonella – Shigella Agar):

یک محیط انتخابی – افتراقی است که برای جداسازی سالمونلا و بعضی نمونه های کلینیکی وغذایی مناسب می باشد.وجود معرف برلیانت گرین در محیط از رشد باکتریهای کلی فرم کلبسیلا و آنتروباکتر جلوگیری مینماید و وجود عالم سیترات رشد انواع گونه های سالمونلا و شیگلا را مساعد تر میکند.در اثر تخمیر لاکتوز موجود در محیط و احیای گوگرد گازH2Sایجاد میگردد که باعث تبدیل سولفید به سولفور میشود و از ترکیب آن با آهن رسوب سیاه سولفور آهن ایجاد می گردد.باکتری هایی که قادر به تخمیر لاکتوز هستند کلنی های قرمز رنگ ایجاد می کنند که به راحتی قالب تشخیص هستند.کلنی های سالمونلا و شیگلا به علت عدم توانایی در تخمیر لاکتوز بیرنگ مات و نور را از خود عبور میدهند در صورتی که انواع نادری از سالمونلا ها که قادربه تخمیر لاکتوز هستند تولید کلنی قرمز رنگ با مرکز سیاه مینماید.کلنی پروتئوسها به دلیل ایجاد سولفید آهن همیشه سیاه رنگ دیده میشود.برای انکوبه کردن محیط کشت ۱۸ تا داده شده را به مدت۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

تی . سی . بی . اس آگار T.C.B.S Agar (Sucrose Agar Thiosulphate Citrate Bile) :

یک محیط کشت انتخابی برای جداسازی Vibrio میباشد.محیط کشت داده شده باید به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه انکوبه گردد.و نتیجه آزمایش باید بعد از۲۴ساعت بررسی گردد زیرا بیشترانتروباکتریاسه های موجود در نمونه ها طی این مدت قادر به رشد نخواهند بود.احتمال رشد کلنی های Proteus و Strep. Faecalis نیز وجود دارد که براحتی ازکلنیهای ویبریو متمایز میشوند.(کلنی ویبریو به رنگ زرد و مسطح با قطر ۲ تا ۳ میلی متر میباشد در حالی که کلنیهای پروتئوس به رنگ آبی کم رنگ و با قطر ۱میلی متر مشاهده میگردد.کلنی استرپتوکوک نیز با قطر کوچک و رنگ زرد دیده میشود)

تایوگلیکولات براث Thioglycollate Broth:

از این محیط برای بررسی استریل بودن مواد نسبت به میکروبهای هوازی و بیهوازی استفاده می گردد.برای استفاده ازاین محیط به هیچگونه ماده(پارافین)ویا وسیله ای(جاربیهوازی)نیازنمیباشد زیراعوامل احیاء کننده با تایوگلیکولات و سیستئین موجود در محیط ایجاد حالت بی هوازی می کند.ph این محیط به گونه ای است که تغییرات اسیدی یا قلیایی شدن محیط در رشد باکتری ها اثری ندارد.از این محیط برای

کشت Closteridium و همچنین در محیط کشت خون مایع نیز می توان استفاده نمود.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷- ۳۵ درجه نگهداری نمایید.

تومیتو جوس آگار Tomato Juice Agar:

از این محیط برای رشد و شمارش Lactobacilli استفاده میگردد.لاکتوباسیلوسهای اسید دوست در محیط حاوی آب گوجه فرنگی بخوبی رشد میکند.ph پایین محیط از رشد سایر باکتریهایی که با لاکتوباسیلوس ها از لحاظ نوع تغذیه شباهت دارند جلوگیری می نماید.پپتون و تریپتون موجود در محیط به عنوان منبع انرژی و تامین کننده کربوهیدرات و نیتروژن لازم رشد ارگانیسمها میباشد.در صورتی که بخواهیم لاکتوباسیلها را شمارش نماییم بهتر است ph محیط را با استفاده از ۱ میلی لیتر اسید لاکتیک ۱۰٪ ph محیط را به ۵/۱ برسانیم.به منظور انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ درجه نگهداری نماییم.

تریپتون واتر Tryptone Water:

ازاین محیط برای آزمایش وجود E.coli درگوشت و فراورده های گوشتی استفاده میشود.درآزمایشهای آب نیزمیتوان ازاین محیط بجای محیط تریپتون براث استفاده نمود.این محیط برای بررسی آزمایش ایندول مناسب است زیرا تعدادی ازباکتریها توانایی تجزیه تریپتون وتولید ایندول را دارند واین توانایی ازخصوصیات تشخیصی مهم درآزمایشگاه های میکروبیولوژی است ایندول تولید شده درمحیط را باید توسط آزمایش کواکس یا ارلیش بررسی نمود.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه نگهداری نمایید.

تریپتون سویا آگار T.S.A (Soya Agar Trypyone) :

یک محیط کشت عمومی و پایه میباشد که برای کشت اکثر باکتریها میتوان از آن استفاده نمود با اضافه نمودن ۵٪ سرم خون اسب یا گوسفند فعالیت همولیتیکی باکتریها را میتوان بررسی نمود.بطور کلی موارد کاربرد آنرا به ترتیب زیر میتوان بیان نمود:

- برای بررسی مورفولوژیکی کلنیها

- برای بدست آوردن کشت خالص

- برای بدست آوردن مقدار کافی باکتری به منظور بررسی بیوشیمیایی آنها

- برای نگهداری سوشهای میکروبی

برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمایید.

تریپتون سویا براث I (Broth Trypyone Soya) B.T.S:

یک محیط کشت پایه و بسیار مغذی است که برای بدست آوردن مقدارزیادی باکتری ازنمونه آزمایشی مورد استفاده قرار میگیرد.از این محیط برای شمارش باکتریها نیز می توان استفاده نمود. در صورت اضافه نمودن خون اسب یا گوسفند محیط مناسبی برای رشد باکتریهای

سخت رشد میگردد.این محیط کشت برای تهیه محیط کشت خون مایع نیز مناسب میباشد.برای این منظور باید از یک ماده ضد انعقاد مناسب نیز استفاده نمود.این محیط برای کنترل استریل بودن مواد توصیه میگردد. برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری نمایید.

تریپل شوگر آیرون آگار T.S.I (Triple Suger Iron Agar) :

این محیط تقریبا مشابه محیط کلیگر آیرون آگاراست و یکی از محیط های افتراقی برای جداسازی آنتروباکتریاسه ها میباشد.ازاین محیط برای تشخیص باسیلهای گرم منفی روده ای استفاده میکنند بدین صورت که دراثرتخمیرکربوهید- راتهای موجود در محیط (۳قند موجود در محیط) و احیای گوگرد گازH_2S ایجاد می شود و رسوب سیاه هیدروژن سولفوره نمایان میگردد.معرف فنل رد موجود در محیط با ایجاد حالت اسیدی برنگ زرد تبدیل میگردد. روش کشت به ۲ صورت زیگزاگ(در قسمت شیب دار لوله)و عمودی(در قسمت استوانه ای لوله) میباشد.نتیجه کشت میکروبی حتما باید پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت بررسی گردد. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

اوره آگار(پایه) Urea Agar (Base) :

محیطی افتراقی است که معمولا برای شناسایی باکتریهای جنس Proteus و تشخیص سریع آنزیم اوره آز مورد استفاده قرارمی گیرد.همچنین از این محیط برای تشخیص هیدرولیز اوره توسط سایر آنتروباکتریاسه ها نیز استفاده می شود با این شرط که زمان انکوباسیون بیشتر از ۴۸ تا ۲۴ ساعت باشد.آنزیم اوره آز تولیدی بر اوره افزوده شده اثر می نماید و آنرا به آمونیاک ایندرید کربنیک و آب تبدیل میکند.آمونیاک تولید شده سبب قلیلیی شدن محیط و تغییر رنگ معرف فنل رد موجود به رنگ قرمز می شود.بنابراین اساس کار بر تغییر phمحیط به قلیایی شدن استوار است.اگر پپتون و یا ترکیبات پروتئینی دیگر محیط دارای مقادیر زیادی از اسیدهای آمینه بازیک باشند. در اثر هیدرولیز آنها محیط قلیایی می گردد.در محیط اوره آگار اثر آنزیم اوره آز کند است بنابراین لازم است مقدار باکتری مورد آزمایش نسبتا زیاد و میزان محیط کشت موجود در لوله کم باشد تا واکنش سریع تر حاصل گردد.معمولا زمان بررسی محیط کشت داده شده ۳ تا ۵ ساعت پس از کشت میباشد.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۵ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

اوره براث (پایه) BrothUrea (Base) :

یک محیط افتراقی برای جداسازی سالمونلا و شیگلا از سایر گروه های اوره آز مثبت آنتروباکتریاسه مثل پروتئوس مناسب می باشد و به منظور بررسی آزمایش مدفوع توسط سو آب از قسمت رکتال مورد استفاده قرار می گیرد.در محیط اوره براث اثر آنزیم اوره آز سریعتر از محیط اوره آگار میباشد.و با میزان کمی از باکتری نیز نتیجه حاصل میگردد. به منظور انکوبه کردن محیطکشت داده شده را به مدت بیش از ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

ویولت رد بایل آگار V.R.B Agar (Violet Red Bile Agar) :

یکی از محیط های انتخابی است که بخاطر داشتن لاکتوز برای بررسی وشمارش Coli aerogenes در آب صنایع غذایی و لبنیات مورد استفاده قرار می گیرد وجود نمک صفراوی و کریستال ویولت در این محیط از رشد باکتری های گرم مثبت جلوگیری میکند.در نتیجه استفاده ارگانیسمها ازلاکتوز موجود درمحیط و تخمیرآن ph محیط اسیدی میگردد که باعث رویت کلنیهای ارغوانی رنگ با هاله کمرنگ

میشود.باکتریهای لاکتوز منفی یا آن سری از باکتریها که لاکتوز را دیر تخمیر میکنند تولید کلنیهای بیرنگ میکند که ممکن است هاله سبز رنگ نیز داشته باشد .جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

ویولت رد بایل گلوکز آگار Agar V.R.B.G (**Violet Red Bile Glucose Agar**):

یک محیط انتخابی برای جداسازی Enterobacteriaceae در صنایع غذایی میباشد.در این محیط به دلیل وجود گلوکز شناسایی کلی فرم ها به راحتی امکان پذیر است.پپتون و عصاره مخمر یک محیط غذایی مناسب رشد باکتری را فراهم می آورند و عصاره مخمر موجود درمحیط یک منبع تامین کننده ویتامین ها ی گروهBمی باشد.از دو ماده دکستروز و نوترال رد برای شناسایی تخمیر گلوکز توسط باکتری استفاده میشود و نمک صفراوی و کریستال ویولت موجود از رشد باکتری های گرم مثبت جلوگیری مینماید.جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

ایکس . ال . دی . آگار X.L.D Agar (**Xylose Lysine Deoxycholate Agar**) :

این محیط تقریبا مشابه محیط کلیگر آیرون آگاراست و یکی از محیط های افتراقی برای جداسازی آنتروباکتریاسه ها میباشد.ازاین محیط برای تشخیص باسیلهای گرم منفی روده ای استفاده میکنند بدین صورت که دراثرتخمیرکربوهید- راتهای موجود در محیط (۳قند موجود در محیط) و احیای گوگرد گازH2S ایجاد می شود و رسوب سیاه هیدروژن سولفوره نمایان میگردد.معرف فنل رد موجود در محیط با ایجاد حالت اسیدی برنگ زرد تبدیل میگردد. روش کشت به ۲ صورت زیگزاگ(در قسمت شیب دار لوله)و عمودی(در قسمت استوانه ای لوله) میباشد.نتیجه کشت میکروبی حتما باید پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت بررسی گردد. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه قرار دهید.

ییست اکسترکت آگار Yeast Extract Agar:

یک محیط مغذی است که برای شمارش میکروارگانیسمها د رآب مورد استفاده قرار میگیرد.در این محیط با شمارش کلنی های رشد یافته میتوان درخصوص آب مورد آزمایش نظرکلی بیان نمود برای استفاده ازاین محیط ابتدا با محلول رینگراستریل شده رقتهای مختلف را آماده میکنیم (۱ دهم) سپس یک میلی لیتر از محلولی که بالاترین رقت را دارد در ۲ پتری دیش میریزیم.(همچنین۱میلی لیر از ماده رقیق نشده را نیز به روش بالا اضافه می کنیم)به ظرف پتری دیش آماده شده ۱۵ میلی لیتر محیط کشت ۵۰-۴۵درجه اضافه می نماییم. سپس با حرکت دادن ظروف محیط را بخوبی مخلوط میکنیم.پتری دیش ها را در ۲ دمای ۳۷ و ۲۲ درجه به ترتیب به مدت ۲۴ ساعت و ۳ روز انکوبه می کنیم.پلیتهایی که دارای ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی باشند را جهت شمارش انتخاب می نماییم.اگر پلیتی کمتر از ۳۰ کلنی داشت از آن صرف نظر میکنیم.پلیتی که مربوط به ماده رقیق نشده میباشد حتی با ۳۰ کلنی باید مورد ارزیابی قرار گیرد.

ییست گلوکز کلرامفنیکل آگار Y.G.C (**Agar Yeast Glucose Chloramphenicol**) :

یک محیط انتخابی برای جداسازی و شمارش قارچها و مخمرها ازشیرلبنیات ومواد غذایی میباشد.نام دیگراین محیط **Yeast e Agar Chloramphenicol Glucos** میباشد.این محیط به علت داشتن ماده عصاره مخمر حاوی مقدار زیاد نیتروژن و منبع ویتامین های گروه B میباشد. گلوکز موجود در محیط به عنوان تامین کننده انرژی لازم برای رشد میباشد.کلرامفنیکل به عنوان آنتی بیوتیک مقاوم به حرارت از رشد باکتریها درمحیط جلوگیری می نماید. جهت انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲ تا ۵ روز در دمای ۲۲-۲۵ نگهداری نماید.

مالاشیت گرین براث Malachit Green Brot :

یک محیط مغذی و انتخابی است که برای جداسازی *Pseudomon aeruginosa* از آب و مواد غذایی مورد استفاده قرار میگیرد.دو ماده پیتون و بیف اکسترکت تامین کننده انرژی و منع نیتروژن مناسب برای رشد باکتری میباشد و ماده مالاشیت گرین موجود در محیط باعث توقف رشد فلور نرمال میشود اما بر روی *aeruginosaP*. اثر باز دارنده رشد ندارد.برای انکوبه کردن محیط کشت داده شده را به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه نگهداری کنید.

رینگر Ringer Powder:

محلول رینگر از لحاظ خاصیت ایزوتونیکی از محلول ۹ در هزار نمک در آب مناسب تر میباشد این محلول پس از اتوکلاو رسوب نمیدهد.برای تهیه سوسپانسیونهای سلولی یا محلولهای رقیق کننده ازرینگر یک چهارم استفاده میشود.

تتراتیونات براث Tetrathionate Broth :

یک محیط انتخابی برای جداسازی سالمونلا به استثنای Salmonella typhi میباشد.ازاین محیط برای جداسازی سالمونلاازمدفوع فاضلاب وسایرمواد آلوده استفاده میشود.وجود نمک صفراوی وید باعث میگردد که کلیه باکتریهایی که قادربه احیای تتراتیونات هستند در این محیط رشد نمایند درصورتی که باکتریهای گرم مثبت و کلیه باکتریهایی که جزء فلور دائمی روده نیستند در این محیط رشد نمی نمایند.در فرمول ساخت این محیط ماده تتراتیونات وجود ندارد واین ماده پس از اکسیداسیون تیوسولفات در محیط وترکیب آن با ید اضافه شده ایجاد میگردد.به منظور انکوبه کردن محیط کشت داده شده را باید به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷-۳۵ نگهداری نمائید.

***لازم به ذکر است د رصورت داشتن هرگونه سوال به منظور رفع ابهام به کتاب میکروبیولوژی مدرن ، ترجمه دکتر سید علی مرتضوی ومهندس حمیدرضا ضیاء مراجعه نمایید.**

نام و شماره استانداردهای ملی ایران در خصوص شیروفرآورده های لبنی

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
1	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی تجهیزات و دستگاههای تهیه بستنی - آیین کار	3536
2	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی وسایل و تجهیزات مربوط به تهیه و حمل و نقل شیرهای تغلیظ	3537
3	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای تهیه ماست و بسته بندی آن	3538
4	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای تهیه و بسته بندی کره	3539
5	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای پنیر سازی و پنیر به عمل آمده و بسته بندی آن	3540
6	صنایع شیر و فرآورده های آن - آیین کار بهداشتی کارخانجات	4629
7	مواد غذایی - باقیمانده داروهای دامی در ماهی ، شیر ، تخم مرغ و فرآورده های آنها - نمونه برداری جهت کنترل	5658
8	کره پاستوریزه-راهنمای استقرار سیستم تجزیه و تحلیل عوامل خطرزا و نقاط کنترل بحرانی(HACCP)	7771
9	شیر پاستوریزه - ویژگیها	93
10	روغنها و چربیهای خوراکی - کره- ویژگیها و نمونه برداری و آزمون	162
11	شیر و فرآورده های آن - شیر خام - ویژگیها و روشهای آزمون	164
12	شیر و فرآورده های آن- خامه پاستوریزه - ویژگیها و روشهای آزمون	191
13	شیر و فرآورده های آن - روشهای نمونه برداری	326
14	شیر - اندازه گیری چربی (روش ژربر)	366
15	شیرو فرآورده های آن - اندازه گیری چربی شیر (روش ژربر)	384
16	شیر و فرآورده های آن - انتخاب و تعداد نمونه شیر	419
17	شیر و فرآورده های آن - روش نگهداری در سردخانه	506
18	شیر و فرآورده های آن- تعیین ماده خشک شیر	637
19	شیر و فرآورده های آن - تعیین وزن مخصوص (روش لاکتودانسی متر) شیر	638
20	شیر و فرآورده های آن - تعیین مقدار ازت تام (روش کیجدال) شیر	639
21	شیر و فرآورده های آن - آزمون فسفاتاز (کنترل آنزیمی پاستوریزاسیون شیر)	664
22	روغنها و چربیهای خوراکی- کره - تعیین مقدار آب	693
23	روغنها و چربیهای خوراکی- کره - تعیین مقدار نمک (کلرور سدیم) کره	694

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
24	شیر و فرآورده های آن- ماست پاستوریزه - ویژگیها و روشهای آزمون	695
25	شیر و فرآورده های آن- پنیر و پنیر ذوب شده - تعیین مقدار چربی (روش مرجع)	760
26	بسته بندی - بشکه شیر	842
27	شیر و فرآورده های آن- کشک - ویژگیها	1188
28	شیر و فرآورده های آن- خامه شیر - تعیین نسبت درصد وزنی چربی	1189
29	شیر و فرآورده های آن- بستنی - تعیین ماده خشک	1190
30	شیر و فرآورده های آن- - روش جستجوی پنی سیلین با استفاده از دیسکهای کاغذی	1193
31	روغنها و چربیهای خوراکی- کره - تعیین مقدار چربی روغن کره	1255
32	روغنها و چربیهای خوراکی- کره - تعیین مقدار آب روغن کره به روش کارل فیشر	1256
33	روغنها و چربیهای خوراکی- کره - تعیین اندلیس اسید چربی کره (روش مرجع)	1257
34	شیر و فرآورده های آن - تعیین فعالیت آنزیم فسفاتاز	1258
35	شیر - تعیین مقدار کلسیم	1259
36	شیر - تعیین مقدار فسفربه روش جذب ملکولی	1260
37	شیر و فرآورده های آن- پنیرهای پاستوریزه پایدار - تعیین فعالیت آنزیم فسفاتاز	1367
38	شیر خشک و پودر لاکتوسرم - میکروبیولوژی شمارش کلی میکروبها	1368
39	شیر و فرآورده های آن- شیر خشک - تعیین مقدار آب	1450
40	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک - تعیین مقدار اسید لاکتیک و لاکتاتها	1451
41	شیر و فرآورده های آن- شیر طعم دار- ویژگیها و روشهای آزمون	1527
42	شیر و فرآورده های آن- شیر فراد ما تجاری(UHT)ویژگیها و روشهای آزمون	1528
43	شیرو فرآورده های آن - شناسایی چربی نباتی در چربی شیر - روش آزمون	1529
44	شیر و فرآورده های آن- شیرهای کنسانتره بدون قند و شیرهای کنسانتره شیرین - روش تعیین مقدار ماده خشک	1530
45	شیر و فرآورده های آن- شیر خشک - روش تعیین مقدار چربی (روش مرجع)	1531
46	شیر و فرآورده های آن- شیرهای کنسانتره و شیرهای کنسانتره شیرین - روش تعیین مقدار چربی	1532
47	شیرهای کنسانتره شیرین به طریقه پولاریمتری - تعیین مقدار ساکارز	1629
48	صنایع شیر - آزمون لوله برای ارزشیابی پاک کننده ها و مواد ضدعفونی کننده مورد استفاده	1630

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
49	شیر و فرآورده های آن- کروماتوگرافی استرولهای چربی- روش آزمون مرجع	1631
50	شیر و فرآورده های آن - پاستوریزاسیون شیر- آیین کار	1678
51	شیر و فرآورده های آن- پنیر و پنیر فرآیند شده - تعیین ماده خشک کل- روش آزمون	1753
52	شیر و فرآورده های آن - پنیرهای ذوب شده - تعیین مقدار خاکستر	1755
53	شیر و فرآورده های آن - تعاریف و واژه ها	1756
54	خوراک دام و طیور - کشک مصرفی - ویژگیها	1759
55	شیر و فرآورده های آن- پنیر و پنیر فرآیند شده - تعیین مقدار فسفرکل بروش اسپکتروسکوپی	1808
56	شیر و فرآورده های آن- پنیر - تعیین مقدار کلرور (روش مرجع)	1809
57	شیر و فرآورده های آن- پنیرهای ذوب شده - تعیین مقدار پروتیین	1811
58	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک - ویژگیها	2012
59	شیر و فرآورده های آن- پنیرهای ذوب شده - محاسبه مقدار امولیسینهای سیتراته	2026
60	شیر و فرآورده های آن- پنیر و پنیر ذوب شده - تعیین اسید سیتریک محتوی	2078
61	شیر و فرآورده های آن- پنیر سرم (روش مرجع) - تعیین مقدار چربی	2079
62	شیر و فرآورده های آن- پنیر سرم "روش مرجع" - تعیین مقدار ماده خشک	2080
63	شیر و فرآورده های آن- پنیر ذوب شده (روش مرجع) - محاسبه مقدار امولسینیه کننده فسفاته	2081
64	شیر و فرآورده های آن- پنیر و پنیرهای ذوب شده - تعیین مقدار لاکتوز	2088
65	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک- تعیین مقدار اسیدیته(روش مرجع)	2089-1
66	شیر و فرآورده های آن- تعیین مقدار اسیدیته شیر خشک(روش معمولی)-روش آزمون	2089-2
67	شیر و فرآورده های آن - روش تعیین ضریب حلالیت	2090
68	شیر و فرآورده های آن - تعیین مقدار مس محتوی	2196
69	آنزیم - رنت های گاوی - اندازه گیری فعالیت کل لخته کنندگی شیر	2200-8
70	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک ویژه تغذیه شیرخوار از آغاز تولد تا ۶ ماهگی ویژگیها وروشهای آزمون	2202-1
71	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک ویژه تغذیه شیرخوار از ۶ ماهگی به بعد- ویژگیها و روشهای آزمون	2202-2
72	کاغذ پارشمینه- برای بسته بندی فرآورده های لبنی- ویژگیها و روشهای آزمون	2244

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
73	شیر و فرآورده های آن - تعیین مقدار آهن	2283
74	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک - روش تعیین ذرات سوخته	2284
75	غذای کمکی شیرخواران و نوزادان	2285
76	میکروبیولوژی - شناسایی و جستجوی کلستریدیوم بوتولینوم در مواد غذایی - روش آزمون	2323
77	شیر و فرآورده های آن- پنیر - ویژگیها عمومی	2344
78	شیر و فرآورده های آن- پنیر رسیده در آب نمک- ویژگیها و روشهای آزمون	2344-1
79	غذای کودک - روشهای آزمون	2345
80	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک مخصوص تغذیه اطفال - روشهای آزمون	2346
81	شیر و فرآورده های آن- میکروبیولوژی- ویژگیها	2406
82	شیر و فرآورده های آن- میکروبیولوژی- ویژگیها	2406
83	شیر و فرآورده های آن- بستنی- ویژگیها و روشهای آزمون	2450
84	شیر و فرآورده های آن - روش اندازه گیری کمی پنی سیلین G	2451
85	شیر و فرآورده های آن- کشک مایع - ویژگیها	2452
86	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک مخصوص تغذیه اطفال - روش اندازه گیری ویتامین ث	2850
87	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک صنعتی - روش تعیین میزان قلیاییت خاکستر	2851
88	شیر و فرآورده های آن - روش تعیین اسیدیته کل و PH با تراکم یونهای H	2852
89	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک اطفال - روش اندازه گیری ویتامین ب ۱	2853
90	شیر خشک اطفال - روش اندازه گیری ویتامین ب ۲	2854
91	یخ مصرف خوراکی - آیین کار شرایط بهداشتی تولید و جابجایی	3402
92	صنایع شیر - عملیات کلی ضد عفونی و شستشو فرآورده های لبنی در خط تهیه - آیین کار	3425
93	صنایع شیر - چگونگی روش استفاده از مواد پاک کننده و ضد عفونی کننده - آیین کار	3426
94	صنایع شیر - نحوه شستشو و ضد عفونی کارخانجات و تجهیزات مورد استفاده - تعاریف و اصطلاحات	3427
95	صنایع شیر - شویندگی و شوینده ها	3428
96	صنایع شیر - ضد عفونی کردن واحدهای صنعتی شیر - آیین کار	3429
97	شیر و فرآورده های آن - روش شمارش میکروارگانیسم های سرماگرا در ۵/۶ درجه سلسیوس	3451
98	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی تجهیزات و دستگاههای تهیه بستنی - آیین کار	3536

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
99	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی وسایل و تجهیزات مربوط به تهیه و حمل و نقل شیرهای تغلیظ	3537
100	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای تهیه ماست و بسته بندی آن	3538
101	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای تهیه و بسته بندی کره	3539
102	صنایع شیر - شستشو و ضد عفونی دستگاههای پنیر سازی و پنیر به عمل آمده و بسته بندی آن	3540
103	شیر - تعیین نقطه انجماد (روش ترمیتور کریوسکوپ)	3543
104	شیر - نگهداری و حفاظت شیر پس از دوشش و انتقال آن به مراکز جمع آوری و کارخانجات	3549
105	شیر دوشی - آیین کار	3550
106	شیر و فرآورده های آن - کشک - آیین کار تولید	3656
107	شیر و فرآورده های آن- پنیر و فرآورده های فرآیند شده - اندازه گیری مقدار کلرور به روش پتانسیومتری	3692
108	شیر - اندازه گیری مقدار پروتیین به روش پیوند با آمیدوپلاک	3768
109	فرآورده های یخی خوراکی - ویژگیها و روشهای آزمون شیمیایی	3964
110	شیر و فرآورده های آن- ماست طعم دار پاستوریزه - ویژگیها و روشهای آزمون	4046
111	شیر - روش اندازه گیری کفایت همگن کردن	4049
112	شیر و فرآورده های آن- بستنی - آیین کار بهداشتی ساخت، بسته بندی، نگهداری، توزیع و فروش	4076
113	شیر و فرآورده های آن - میکروبیولوژی- جستجو و شناسایی سالمونلا	4413
114	کازیین و کازیینات - اندازه گیری پروتیین محتوی - (روش مرجع)	4445
115	کازیین و کازیینات - اندازه گیری چربی بطریق وزن سنجی (روش مرجع)	4446
116	شیر و فرآورده های آن - روش اندازه گیری عدد پراکسید چربی بدون آب (روش مرجع)	4447
117	کازیین و کازیینات - ویژگیها	4448
118	کازیین و کازیینات - اندازه گیری لاکتوز به روش نورسنجی	4449
119	کازیین - اندازه گیری اسیدیته آزاد (روش مرجع)	4450
120	کازیین و کازیینات - اندازه گیری رطوبت (روش مرجع)	4451
121	کازیین - اندازه گیری خاکستر ثابت شده (روش مرجع)	4452
122	کازیین رنت و کازیینات - اندازه گیری خاکستر (روش مرجع)	4453
123	کازیین و کازیینات - اندازه گیری ذرات سوخته	4454

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
124	صنایع شیر و فرآورده های آن - مخازن حمل - ویژگیها	4483
125	بسته بندی - شیر و فرآورده های شیری آبگونه، گنجایه های مقوایی یکبار مصرف - ویژگیها و روشهای آزمون	4494
126	شیر و فرآورده های آن - میکروبیولوژی- شمارش باکتریهای مقاوم به حرارت	4518
127	شیر و فرآورده های آن - میکروبیولوژی- شمارش هاگ باکتریهای هوازی	4519
128	شیر و فرآورده های آن - میکروبیولوژی- روش جستجو و شناسایی لیستر یا منو سایتوجنز	4524
129	شیر خشک - اندازه گیری مقدار سدیم به روش بیناب سنجی نشری شعله ای	4540
130	صنایع شیر و سایر فرآورده های مایع آن - ویژگیهای تجهیزات پاستوریزه کننده	4628
131	صنایع شیر و فرآورده های آن - آیین کار بهداشتی کارخانجات	4629
132	شیر و فراورده های آن- پنیر موزارلا (پنیر پیتزا) - ویژگیها و روشهای آزمون	4658
133	شیر و فرآورده های آن-پنیر پروسس- ویژگیها	4659
134	شیر و فرآورده های آن - پنیر	4660
135	کازیین و کازیینات ها - اندازه گیری PH - روش مرجع	4689
136	شیر و فرآورده های آن - شیر خشک - روش اندازه گیری قابلیت پراکندگی و خیس شدن فوری در آب	4690
137	ارزیابی حسی شیر و فرآورده های آن با روش نمره دهی	4691
138	ارزیابی حسی کره با روش نمره دهی	4692
139	ارزیابی حسی شیر خشک با روش نمره دهی	4693
140	نان بستنی - ویژگیها و روشهای آزمون	4761
141	شیر و فرآورده های آن - شمارش میکروارگانیزمهای لیپولیتیک به روش ویکتوریا بلو	4779
142	شیر - آزمون اندازه گیری میزان مواد خارجی نامحلول (روش مرجع)	4815
143	شیر - آزمون اندازه گیری میزان مواد خارجی نامحلول (روش سریع)	4816
144	شیرو فراورده های آن- میکروبیولوژی - شمارش یاخته های پیکری به روش میکروسکوپی	4923
145	شیر، شیر خشک - روش جستجو و اندازه گیری افلاتوکسین M1	4925
146	شیرو فرآورده های آن- ارزیابی حسی شیر مایع - روش آزمون	4936
147	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی بستنی - روش آزمون	4937

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
148	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی پنیر - روش آزمون	4938
149	شیرو فرآورده های آن-خامه شیر - روش ارزیابی حسی	4939
150	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی فرآورده های تخمیر شده شیر - روش آزمون	4940
151	شیرو فرآورده های آن-شیرخشک و فرآورده های خشک-شیر - روش اندازه گیری وزن مخصوص انباشته (فله)	4941
152	شیر خشک صنعتی - روش ارزیابی عدد حرارتی - طبقه بندی حرارتی	5010
153	شیرخشک و فرآورده های خشک شیر - اندازه گیری اندیس نامحلولی	5011
154	شیر و فرآورده های آن - اندازه گیری نیترات و نیترین به روش احیاء با کادمیوم و طیف سنجی	5012
155	میکروبیولوژی - شمارش یاخته های پیکری در شیر به روش میکروسکوپی	5028
156	پاک کننده اسیدی مورد مصرف در صنایع لبنی	5213
157	پاک کننده اسیدی مورد مصرف در صنایع لبنی	5213
158	پاک کننده قلیایی مورد مصرف در صنایع لبنی	5214
159	شیرو فرآورده های آن-ماست، آزمون اندازه گیری اسیدیته کل قابل عیارسنجی سروش پتانسیومتری	5222
160	شیر و فرآورده های آن-میکروبیولوژی- شمارش مستقیم میکروسکوپی	5232
161	شیر و فرآورده های آن-میکروبیولوژی- شمارش اشریشیاکلی - روش بیشترین تعداد احتمالی (MPN)	5234
162	شیر و فرآورده های آن - میکروبیولوژی-شمارش اشریشیا کلی - روش شمارش پرگنه با استفاده از صافی غشایی در دمای ۴۴ درجه سلسیوس	5235
163	شیر و فرآورده های آن -میکروبیولوژی- شمارش میکروارگانیزمهای پروتئولتیک	5264
164	شیر و فرآورده های آن-میکروبیولوژی- روش شمارش کلی پرگنه های میکروارکانیسم ها در ۳۰درجه سلسیوس	5484
165	شیر و فرآورده های آن - راهنمای عمومی بازرسی و نمونه برداری جهت تعیین شرایط بهداشتی واحدهای تولیدی	5485
166	شیر و فرآورده های آن -میکروبیولوژی- شمارش کلی فرمها قسمت اول - روش شمارش پرگنه در ۳۰ درجه سلسیوس (بدون تقویت سازی)	5486-1
167	شیر و فرآورده های آن- پنیر موزا رلا - ویژگیهای میکروبیولوژی	5552
168	اماکن شیردوشی - آیین کار بهداشتی	5561
169	اماکن ماست زنی - آیین کار بهداشتی	5562

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
170	مارگارین (کره نباتی)ویژگیهای میکروبی	5637
171	شیر و فرآورده های آن- خامه و بستنی - روش احیاء آبی متیلن (آزمایش ردکتاز)	5660
172	شیر و فرآورده های آن - روش اندازه گیری نیتروژن کازیین (روش مرجع)	5721
173	شیر و فرآورده های آن- پنیر سفید ایرانی - آیین کار تولید	5772
174	شیرخشک - مخلوط یخی خشک (پودر خشک فرآورده های یخی) وپنیرهای فرآیند شده - تعیین مقدار لاکتوزقسمت دوم - تعیین گالاکتوز مشتق شده از لاکتوز بروش آنزیمی - روش آزمون	5807
175	شیر خشک بدون چربی اندازه گیری ویتامین A به روش رنگ سنجی - روش آزمون	5817
176	شیر و فرآورده های آن - اندازه گیری مانده آفت کشها(ترکیبات آلی کلره) بخش یکم: ملاحظات کلی و روشهای استخراج - روش آزمون	5818
177	شیر و شیر خشک - اندازه گیری ید به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا روش آزمون	5819
178	شیر و فرآورده های آن - مایه پنیر میکروبی (قارچی) ویژگیها و روشهای آزمون	5865
179	شیر و فرآورده های آن - پودر پنیر - ویژگیها	5877
180	شیر و فرآورده های آن - پنیر خامه ای - ویژگیها و روشهای آزمون	5881
181	شیر - میکروبیولوژی شمارش یاخته های پیکری - روش الکترونیکی	5968
182	شیر خام - میکروبیولوژی- روش جستجوی استرپتوکوکوس آگالاکتیه	6111
183	شیر پاستوریزه - آیین کار راهنما جهت استقرار سیستم تجدید و تحلیل خطر نقاط کنترل بحرانی(HACCP)	6114
184	شیر و فرآورده های آن- کشک مایع صنعتی - ویژگیها	6127
185	شیر و فرآورده های آن - اندازه گیری لاکتوز به روش معمولی	6157
186	شیر و فرآورده های آن - اندازه گیری لاکتوز به روش مرجع	6158
187	شیر و فرآورده های لبنی - آیین کار حمل ونقل و توزیع	6202
188	شیر و فرآورده های آن - پنیر تازه - ویژگیها و روشهای آزمون	6629
189	شیر و فرآورده های آن - استفاده از آغازگر در تولید پنیر - آیین کار	6759
190	شیر و فرآورده های آن- پساب کره و پودر پساب کره - آب پنیر و پودر آب پنیر ـ تعیین فعالیت فسفاتاز قلیایی ـ بروش معمولی- روش آزمون	6812
191	شیر و فرآورده های آن – اندازه گیری مقدار نیتروژن کازئین در شیر مایع(روش معمول)- روش آزمون	6850
192	شیر و فرآورده های آن – شیرتغلیظ شده شیرین - ویژگیها و روشهای آزمون	6944

ردیف	عنوان	شماره استاندارد ملی
193	شیر و فرآورده های آن – شیر تبخیر شده - ویژگیها و روشهای آزمون	6945
194	شیر و فرآورده های آن ـ پودر آب پنیر- ویژگیها و روشهای آزمون	6959
195	شیر و فرآورده های آن - نمونه گیری بازرسی به روش وصفی ها	7039
196	شیر و فرآورده های آن - نمونه گیری بازرسی به روش متغییرها	7040
197	شیر و فرآورده های آن - تعیین فعالیت آنزیم - فسفاتاز قلیایی با استفاده از روش فلورومتریک - قسمت اول: شیر و فرآورده های مایع شیر - روش آزمون	7041-1
198	موتورهای درونسوز رفت و برگشتی - محفظه کلاج - ابعاد اسمی و رواداریها	7322
199	شیر و فرآورده های آن-تعیین مقدار ناتامایسین در پنیر و لایه خارجی آن به روش بیناب سنجی(اسپکتروفتومتری)جذب مولکولی و کروماتوگرافی مایع با فشار-روش آزمون	7365
200	پودر خامه-ویژگیها و روشهای آزمون	7686
201	شیر و فرآورده های آن-ماست-شمارش میکروارگانیسم های پایه تولید کننده(لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس)	7713
202	شیر و فرآورده های آن-ماست-شمارش میکروارگانیسم های پایه تولید کننده ماست-روش شمارش کلنی در ۳۷ درجه سلسیوس	7714
203	شیر و فرآورده های آن-فرآورده های پروتئینی خشک شده شیر-اندازه گیری شاخص حلالیت ازت	7723
204	شیر بدون چربی-آب پنیر و دوغ کره اندازه گیری چربی به روش گراویمتری(روش مرجع)	7938
205	شیر غلیظ قوطی شده-تعیین میزان قلع به روش طیف سنجی جذب اتمی کوره گرافیتی	7949
206	شیرو فرآورده های آن- ارزیابی حسی شیر مایع - روش آزمون	4936
207	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی بستنی - روش آزمون	4937
208	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی پنیر - روش آزمون	4938
209	شیرو فرآورده های آن-خامه شیر - روش ارزیابی حسی	4939
210	شیرو فرآورده های آن-ارزیابی حسی فرآورده های تخمیر شده شیر - روش آزمون	4940
211	آزمون حسی - راهنمای کلی شناخت	4986