

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

کتاب معلّم

(راهنمای تدریس)

عملیات میکروبیولوژی

رشته صنایع غذایی

وزارت آموزش و پرورش

سازمان پژوهش و برنامه‌ریزی آموزشی

برنامه‌ریزی محتوا و نظارت بر تألیف: دفتر برنامه‌ریزی و تألیف آموزش‌های فنی و حرفه‌ای و کاردانش

نام کتاب: کتاب معلّم عملیات میکروبیولوژی - ۵۵۲/۳

مؤلفان: رسول پایان، سحر هنرمندجهرمی با همکاری میرمحمد شاملوانباردان

ناظر: نبی‌الله مقیمی

آماده‌سازی و نظارت بر چاپ و توزیع: اداره کل چاپ و توزیع کتاب‌های درسی

تهران: خیابان ایرانشهر شمالی - ساختمان شماره ۴ آموزش و پرورش (شهید موسوی)

تلفن: ۹-۸۸۸۳۱۱۶۱، دورنگار: ۸۸۳۰۹۲۶۶، کدپستی: ۱۵۸۴۷۴۷۳۵۹

وب سایت: www.chap.sch.ir

مدیر مور فنی و چاپ: سید احمد حسینی

صفحه‌آر: زهره بهشتی شیرازی

حروفچین: فاطمه محسنی

مصصح: زهرا رشیدی مقدم، شاداب ارشادی

مورآماده‌سازی خیر: زینت بهشتی شیرازی

مور فنی ریانه ی: حمید نابت‌کلاچاهی، فاطمه رئیس‌سیان فیروزآباد

ناشر: شرکت چاپ و نشر کتاب‌های درسی ایران: تهران - کیلومتر ۱۷ جاده مخصوص کرج - خیابان ۶۱ (داروبخش)

تلفن: ۵-۴۴۹۸۵۱۶۱، دورنگار: ۴۴۹۸۵۱۶۰، صندوق پستی: ۱۳۴۴۵/۶۸۴

چاپخانه: شرکت چاپ و نشر کتاب‌های درسی ایران «سهامی خاص»

سال انتشار و نوبت چاپ: چاپ اول ۱۳۹۲

حق چاپ محفوظ است.

فهرست

۴۶	کشت آزمایشگاهی		پیش‌گفتار
			مقدمه
	فصل ششم : نمونه برداری و آماده‌سازی نمونه		سخنی با هنرآموزان
۴۹	برای آزمون		
۴۹	۶-۱- نمونه برداری	۱	فصل اول : مقررات کار در آزمایشگاه میکروب‌شناسی
۵۱	۶-۲- روش نمونه برداری از چند ماده غذایی	۱-۱	۱-۱- فضای مربوط به آماده‌سازی نمونه و آزمایش
۵۳	۶-۳- جابه‌جایی نمونه‌ها	۱-۲	۱-۲- مکان آزمایش
۵۴	۶-۴- دریافت و نگهداری نمونه‌ها در آزمایشگاه	۱-۳	۱-۳- تمیز کردن و ضدعفونی کردن سطوح کار
۵۴	۶-۵- آماده‌سازی نمونه برای آزمون‌های میکروبی	۱-۴	۱-۴- بهداشت کارکنان و دانش‌آموزان
		۱-۵	۱-۵- مقررات ایمنی
۵۹	فصل هفتم : روش‌های کشت میکروارگانیسم		
	۷-۱- روش‌های کشت میکروارگانیسم‌های هوازی		فصل دوم : دستگاه‌ها و وسایل آزمایشگاه
۵۹	در محیط جامد	۴	میکروبیولوژی
۶۶	۷-۲- کشت میکروارگانیسم‌های بی‌هوازی	۲-۱	۲-۱- دستگاه‌ها و وسایل آزمایشگاه میکروب‌شناسی
۶۷	۷-۳- کشت خطی	۲-۲	۲-۲- وسایل آزمایشگاهی
۷۱	۷-۴- شمارش مستقیم میکروسکوپی یا گسترش برید	۲-۳	۲-۳- میکروسکوپ
		۲-۴	۲-۴- انواع میکروسکوپ
۷۲	فصل هشتم : آزمون‌های میکروبی مواد غذایی		
۷۳	۸-۱- آزمون‌های میکروبی آب	۲۶	فصل سوم : رنگ‌آمیزی باکتری‌ها
۹۴	۸-۲- آزمون‌های میکروبی شیر	۲۶	۳-۱- رنگ‌ها
۱۰۱	۸-۳- آزمون‌های میکروبی پنیر	۲۶	۳-۲- انواع رنگ‌آمیزی
۱۰۲	۸-۴- آزمون‌های میکروبی شیرخشک	۲۷	۳-۳- تهیه گستره خشک از نمونه میکروبی
۱۰۵	۸-۵- آزمون‌های میکروبی فراورده‌های غلات	۲۷	۳-۴- تهیه گستره مرطوب از نمونه میکروبی
	۸-۶- آزمون اختصاصی جستجو و شمارش	۲۷	۳-۵- رنگ‌آمیزی ساده با متیلن‌بلو
۱۰۷	ویبریو پاراهمولیتیکوس در ماهی	۲۹	۳-۶- رنگ‌آمیزی گرم
	۸-۷- روش‌های شناسایی کپک‌ها و مخمرها در	۳۲	۳-۷- رنگ‌آمیزی اسپور
۱۱۱	مواد غذایی	۳۴	۳-۸- رنگ‌آمیزی کپسول
	فصل نهم : آزمون‌های میکروبی تعیین نوع و میزان	۳۷	فصل چهارم : آلودگی‌زدایی و سترون‌سازی
۱۱۹	آلودگی محیط کار	۳۷	۴-۱- روش‌های گرمایی
	۹-۱- آزمون‌های میکروبی تعیین نوع و میزان	۳۸	۴-۲- مواد شیمیایی ضد میکروب یا سترون‌کننده‌ها
۱۱۹	آلودگی محیط کار	۳۹	۴-۳- تابش اشعه یا پرتودهی
	۹-۲- روش‌های تشخیص آلودگی میکروبی	۴۰	۴-۴- نحوه کاربرد مواد و روش‌های سترون‌کننده
۱۲۲	محیط کار		
		۴۱	فصل پنجم : آماده‌سازی محیط‌های کشت میکروبی
۱۲۴		۴۱	۵-۱- انواع محیط‌های کشت آزمایشگاهی
		۵-۲	۵-۲- آماده‌سازی و سترون‌سازی محیط‌های

پیش گفتار

در دنیای اندیشه‌ها و مشاهده‌های آدمی، قلمرو میکروارگانیسم‌ها بسیار گسترده است. میکروارگانیسم‌ها در همه‌جا حضور دارند، در محیط زیست، در اندام‌های انسان‌ها و سایر موجودات زنده و سطوح در تماس با موجودات زنده و چنانچه شرایط مساعد باشد، رشد و نمو و تکثیر نموده موجب بیماری‌های عفونی و مسمومیت مصرف‌کننده از یک طرف و فساد مواد غذایی از طرف دیگر می‌شوند.

از طرفی از اوایل قرن بیستم و بیدایش و گسترش صنایع غذایی و تولید انبوه امکان به خطر افتادن سلامت مردم در ارتباط با میکروارگانیسم‌ها قوت گرفت و نیاز به ارزیابی وضعیت سلامت مواد غذایی چندین برابر گردید و با توجه به تأثیر متغیرهای گوناگون بر نتیجه آزمون‌های میکروبی و در نتیجه ارزیابی و قضاوت، مسئولان وزارت بهداشت و وزارت آموزش و پرورش را بر آن داشت تا نسبت به ارائه دوره‌های آموزشی و تألیف کتاب به نحو مؤثرتری اهتمام ورزند. از سویی آغاز هزاره سوم با ظهور فناوری‌های نوین در عرصه‌های گوناگون و از جمله علوم زیستی و صنایع غذایی و روش‌های مدرن ارزیابی، دگرگونی‌های زیادی در سیستم نظارت و کنترل بوجود آورده است که برای انطباق با آنها لازم است هر آزمون‌کننده به مسئولیت‌ها و وظایف خود در این ارتباط آگاه باشد و مسئولیت‌ها و وظایف هنجاریان و سیستم‌های کنترل و نظارت را بشناسند.

در این کتاب سعی شده است که مطالب پیرامون موضوع‌هایی باشد که روش‌های آزمون میکروبی، علل استفاده از آنها، مراحل انجام آنها، تجزیه و تحلیل یافته‌های آنها با دقتی درخور توجه و به زبان ساده بیان شود.

به رغم تمام محدودیت‌ها و کاستی‌ها، امید است مجموعه‌ای ارائه شده بتواند در جهت تعلیم روش‌های آزمون و فراگیر نمودن آن مؤثر واقع گردد.

موارد زیر از جمله اصولی هستند که در تدوین کتاب راهنمای معلم مورد توجه مؤلفان بوده است:

- تأکید بر سادگی و کاربردی بودن روش‌های آزمایش
- تکیه بر دقت، صحت، تکرارپذیری، سرعت، حساسیت و اختصاصی بودن
- قائل شدن مرز بین روش‌های خاص علمی و روش‌های کاربردی
- مبتنی ساختن روش‌ها بر پایه سهولت انجام، اقتصادی بودن و مورد تأیید مجامع معتبر ملی و جهانی بودن

مقدمه

هدف اصلی کتاب میکروبیولوژی مواد غذایی عملی، راهنمای معلم، ارائه روش‌های پایه و در عین حال علمی و کاربردی و معرفی آن با جزئیات بیشتر به مربیان/هنرآموزان برای آموزش هنرجویان است. روش تعلیم و تعلم متن کتاب هم هنرآموزان و هم هنرجویان را قادر می‌سازد که بتوانند در مورد لزوم از منابع جامع تر و در سطح بالاتری استفاده نمایند.

هدف‌های جنبی کتاب عبارتند از:

- آگاهی و شناخت بیشتر هنرآموزان نسبت به مسائل مربوط به میکروبیولوژی مواد غذایی
 - تفهیم آسان تر و بهتر موضوعات به هنرآموزان
 - آگاه ساختن هنرآموزان نسبت به خطاهای معمول در انجام آزمون‌های میکروبی
 - بالا بردن توان علمی و مهارتی هنرآموزان
 - تأکید بر ارزش آزمون‌های میکروبی در ارزیابی وضعیت بهداشتی مواد غذایی و محیط کار
 - تأکید بر جنبه‌های علمی و مفهومی و ادراکی
 - و بالاخره تأکید بر ارزش مشاهده دقیق علمی به عنوان ابزار اساسی برای شناخت پدیده‌ها؛ که امروزه در تمام دنیا تقویت بنیه مشاهده در کسانی که در برنامه‌های علمی اشتغال دارند از اولویت بسیار بالایی برخوردار است زیرا بر پایه مشاهده دقیق افراد، انجام تفسیرهای منطقی و درست میسر می‌شود اما متأسفانه در بسیاری از موارد به دلیل کمبود و یا حتی نبود محتوای مناسب و دستور کار دقیق و علمی کار، انجام آزمون‌های عملی و مشاهده یافته‌های آنها به درستی انجام نمی‌گیرد و از طرفی موجب سردرگمی و خستگی کارکنان و ایجاد شدن یافته‌های نامنظم، پراکنده و غیر قابل اعتماد می‌شود. به عبارت ساده‌تر به ندرت کوشش‌های سازمان یافته و منظم برای آموزش فراگیران در مقاطع گوناگون صورت گرفته است.
- برنامه‌های کیفی برای شناسایی روش‌های آزمون عملی به‌ویژه در ارتباط با کار با موجودات زنده و مشاهده علمی یافته‌ها نیاز به پاسخ‌گویی به سؤال‌های زیر است:

- کدام آزمون برای ارزیابی‌ها برگزیده شود
- هنگام انجام آزمون به چه نکاتی توجه شود
- مشاهده یافته‌ها چگونه انجام گیرد
- یافته‌ها چگونه تجزیه و تحلیل شوند

این کتاب بر اساس تجربیات عملی مؤلفان و روش‌های استاندارد ملی تدوین شده و امید است جوابگوی نیازهای هنرآموزان باشند. در این راستا مؤلفان بر آنند که بر اساس هدف اصلی کتاب به هنرآموزان و فراگیران کمک کنند تا از راه مشاهده دقیق و علمی و تجزیه و تحلیل درست به نتایج دقیق و علمی دست یابند.

در بخش اول کتاب مطالب عمومی و پایه مانند تهیه محیط کشت برای رنگ‌سازی، سالم‌سازی محیط کار شامل سطوح، هوا، اندام‌های کارکنان، تنظیم دستگاه‌ها و تجهیزات آزمایشگاهی، شستشو و آماده‌سازی و سترون‌سازی وسایل مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

در بخش دوم روش ارزیابی آب، شیر، مواد غذایی و مورد بررسی است و بخش سوم شامل ضمائم است.

سخنی با هنرآموزان

✓ پیش از تدریس هر یک از آزمون‌ها، هنرجویان را تشویق کنید که هدف از انجام آزمون‌ها، روش‌های انجامشان، مراحل اجرایی کار، محیط‌های کشت لازم، محلول‌ها، رنگ‌های بیولوژیک، دستگاه‌ها و لوازم مورد نیاز هر آزمون را به خوبی بشناسند

✓ روش انجام کار را ابتدا به صورت شفاهی و سپس به شکل نمایشی برای هنرجویان توجیه کنید و تا زمانی که موضوع و روش آزمون به خوبی درک نشده و یا حین اجرای آن قطعی نشده کار را آغاز نکنند

✓ حین انجام آزمون‌ها نحوه کار هنرجویان را زیر نظر داشته باشید و بخشی از نمره هنرجویان را بر مبنای یافته‌های این مشاهده تعیین نمایید

✓ به سؤال‌های هنرجویان به دقت گوش داده و به آنها پاسخ دهید و سعی کنید پاسخ‌های شما دقیق و مستدل و در عین حال مستند باشد و از اختصاص دادن وقت به این موضوع دریغ نورزید

✓ سعی کنید با طرح سؤال‌های مناسب و به‌جا و مربوط به هر آزمون قوه تخیل هنرجویان را تحریک و تقویت نمایید

✓ در مواردی که چند روش آزمون وجود دارد مزایا و معایب هر یک را مورد بحث و تبادل نظر قرار دهید؛ به‌ویژه از نظر کاربردی بودن روش

✓ به انتظارات آموزشی هر بخش به دقت توجه کنید

✓ هر یک از گزارش کارهای هنرجویان را به دقت مطالعه و در صورت نیاز اصلاح کرده و بیش از جلسه بعدی آزمون به آنان برگردانید تا از خطای خود آگاه شوند و مطمئن باشند که حاصل زحمت آنها مورد بررسی و نقد قرار می‌گیرد

✓ بدیهی است ارتباط حضوری و چهره به چهره با هنرجویان و ایجاد ارتباط عاطفی با آنان به مراتب اثربخش‌تر است و هنرجویان جوان، درس هنرآموزی را که با آنان عاطفی و مسئولانه برخورد کرده باشند بیشتر دوست دارند و عمیق‌تر می‌فهمند و بهتر عمل می‌کنند و در نتیجه بازدهی آن در محیط کار برایشان بیشتر است

محتوای ارائه شده در کتاب را می‌توانید در صورت امکان به ۲۱ جلسه ۵ ساعته آزمایشگاهی در طول سال تحصیلی به شرح زیر تقسیم نمایید:

جلسه اول — رعایت نکات ایمنی هنگام کار در آزمایشگاه میکروبی‌شناسی مواد غذایی و معرفی لوازم شیشه‌ای

جلسه دوم — معرفی تجهیزات شامل گرمخانه، اتوکلاو، میکروسکوپ

جلسه سوم — سترون‌سازی سطوح، وسایل و اندام‌ها

جلسه چهارم — معرفی انواع آماده‌سازی محیط‌های کشت جامد و مایع و رقیق‌کننده‌ها و سترون‌سازی

جلسه پنجم — معرفی روش‌های رنگ‌آمیزی‌های مورد نیاز، طرز کار با میکروسکوپ

جلسه ششم — تهیه سوسپانسیون‌ها، روش‌های گوناگون کشت (خطی، جامد به مایع، مایع به جامد)

جلسه هفتم — آماده‌سازی نمونه‌های آزمایشگاهی، تهیه و قسمت‌های متوالی، کشت سطحی، کشت استاندارد، کشت حلقه‌ای، مشاهده نتیجه کار هفته پیش

جلسه هشتم — شمارش کلنی و محاسبه تعداد میکروب در نمونه هفته پیش

آزمون میکروبی آب، شمارش میکروبی به روش MPN، TC، برای کلیفرم‌ها با محیط مک کانگی یا یولت ردبایل آگار

جلسه نهم — تهیه گزارش آزمون میکروبی آب، طرز استفاده از جداول MPN و شمارش مستقیم

جلسه دهم — آزمون میکروبی شیر، احیای رنگ، شمارش کلی، شمارش مستقیم

جلسه یازدهم — آزمون میکروبی شیر خشک و پنیر، آزمون شمارش اسپور باسیلوس‌ها
جلسه دوازدهم — گزارش یافته‌های هفته پیش، آزمون استافیلوکوک در خامه
دو گونه استاف از پیش آماده شده + رنگ‌آمیزی اسپور
جلسه سیزدهم — انجام تست کوآگولاز، کاتالاز، رنگ‌آمیزی استاف و یک باکتری گرم منفی
جلسه چهاردهم — آزمون میکروبی مرغ، شناسایی سالمونلا، مرحله اول انجام کشت خطی، شمارش مستقیم
جلسه پانزدهم — ادامه آزمون میکروبی مرغ مرحله دوم (غنی‌سازی اولیه)
جلسه شانزدهم — ادامه آزمون میکروبی مرغ مرحله سوم
جلسه هفدهم — ادامه آزمون میکروبی مرغ، مرحله چهارم، تست‌های بیوشیمیایی
جلسه هجدهم — بررسی یافته‌های آزمون میکروبی مرغ، آزمون میکروبی برنج پخته برای جستجو و شمارش با
سیلوس سرتوس

جلسه نوزدهم — CFU^۱ شمارش باکتری‌های غنی‌سازی اولیه، آزمون میکروبی برنج + کشت کپک‌ها از نمونه آرد و مخمرها
از آبمیوه

جلسه بیستم — مشاهده کشت کپک‌ها و مخمرها + انجام آزمون اسلاید کالچر چند گونه کپک
جلسه بیست و یکم — رنگ‌آمیزی و مشاهده اسلاید کالچرها و شناسایی کپک مربوطه با استفاده از شکل‌های استاندارد

نحوه ارزیابی هنرجویان

برای سهولت و دقت کار ارزیابی هنرجویان و امتیازدهی دقیق به کار آنان لازم است برای هر یک از آنان پوشه جداگانه‌ای در نظر گرفته شده، نسخه‌ای از گزارش آزمون‌های انجام شده با درج تاریخ، خطاهای احتمالی، نقاط قوت و ضعف و امتیاز متعلقه در آن نگهداری شود تا هر زمان و به ویژه آخر دوره از چگونگی پیشرفت و مهارت و خلاقیت و همزمان سستی و ضعف از آن استفاده شود و به تناسب خطاهای احتمالی، تکلیف لازم برای رفع مشکل کارکردی هنرجویان داده شود

تلاش مجدانه و صادقانه شما در انجام این کار موجب فراهم شدن الگوی مناسب و دقیقی برای هنرجویان خواهد شد
از هنرجویان هم بخواهید که از ابتدای کار فعالیت‌های عملی خود و نتیجه آزمون و داوری و امتیاز شما را در آن ثبت نمایند
در آخر دوره نوعی جمع‌بندی از مطالب دوره، میزان تلاش و علاقمندی هنرجویان، صحت، دقت و نظم و خلاقیت به عمل
آورد

به هنرجویان تذکر دهید که به مشاهده عینی و دقیق یافته‌ها توجه بیشتری مبذول دارند و از هرگونه قضاوت غیرمنطقی و غیر مستدل
بپرهیزند

ایمنی کار در آزمایشگاه میکروب شناسی و اقدامات پیش‌گیری از آلودگی هنگام کار

طراحی این کتاب برابر با پیش‌نیازهای ایمنی مربوط به کار با میکروارگانیسم‌ها می‌باشد برای این منظور میکروارگانیسم‌ها را به
۴ گروه خطر دسته‌بندی می‌کنند

گروه خطر ۱ (میکروارگانیسم‌های بدون خطر یا دارای خطر خیلی کم برای افراد یا جامعه)
این گروه میکروارگانیسم‌هایی هستند که بیماری‌زایی آنها برای انسان و حیوان به اثبات نرسیده است
گروه خطر ۲ (میکروارگانیسم‌های دارای خطر متوسط برای افراد و کم خطر برای جامعه)
میکروارگانیسم‌های این گروه برای انسان و حیوان بیماری‌زا بوده ولی احتمال ایجاد خطر آنها برای کارکنان آزمایشگاه، جامعه

یا محیط کم است

گروه خطر ۳ (میکروارگانسیم‌های پرخطر برای افراد و کم خطر برای جامعه)

میکروارگانسیم‌های این گروه بیماری‌زا بوده و برای انسان و حیوان خطر آفرین هستند ولی عامل عفونت از فردی به فرد دیگر

منتقل نمی‌شود

گروه خطر ۴ (میکروارگانسیم‌های پرخطر برای افراد و جامعه)

این گروه میکروارگانسیم‌هایی هستند که برای انسان و حیوان بیماری‌زا هستند و به آسانی از فردی به فرد دیگر به طور مستقیم

یا غیرمستقیم منتقل می‌گردند و برای بیماری‌های ناشی از آنها درمان مؤثر در دسترس نیست و پیش‌گیری از انتقال آنها هم مشکل

است

در این کتاب آزمون‌های جستجو و شناسایی میکروارگانسیم‌های مربوط به گروه‌های خطر ۱، ۲ و ۳ ارائه شده است