www.abpsoil.com

ابنیه پایدار سبز

ISIRI

4208

1st.Revision

جمهوری اسلامی ایران

Islamic Republic of Iran

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

Institute of Standards and Industrial Research of Iran

استاندارد ملی ایران

۴۲۰۸

تجدیدنظر اول

کیفیت آب- نمونه برداری از آب برای آزمون های میکروبیولوژی-آیین کار

Water quality - Sampling for microbiological examination of water – Code of practice

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
تهران - خیابان ولیعصر، ضلع جنوبی میدان ونک، پلاک ۱۲۹۴، صندوق پستی: ۶۱۳۹-۱۴۱۵۵
تلفن: ۵-۸۸۸۷۹۴۶۱
دورنگار: ۸۸۸۸۷۰۸۰ و۸۸۸۸۷۱۰۳
کرج - شهر صنعتی، صندوق پستی ۱۶۳-۳۱۵۸۵
تلفن: ۸- ۲۸۰۶۰۳۱(۰۲۶۱)
دورنگار: ۲۸۰۸۱۱۴ (۰۲۶۱)
پیام نگار: standard@isiri.org.ir
وب‌گاه : www.isiri.org
بخش فروش، تلفن: ۲۸۱۸۹۸۹ (۰۲۶۱) ، دورنگار: ۲۸۱۸۷۸۷ (۰۲۶۱)
بها: ۳۸۷۵ ریال

Institute of Standards and Industrial Research of IRAN
Central Office: No.1294 Valiaser Ave. Vanak corner, Tehran, Iran
P. O. Box: 14155-6139, Tehran, Iran
Tel: +98 (21) 88879461-5
Fax: +98 (21) 88887080, 88887103
Headquarters: Standard Square, Karaj, Iran
P.O. Box: 31585-163
Tel: +98 (261) 2806031-8
Fax: +98 (261) 2808114
Email: standard @ isiri.org.ir
Website: www.isiri.org
Sales Dep.: Tel: +98(261) 2818989, Fax.: +98(261) 2818787
Price: 3875 Rls.

به‌نام خدا

آشنایی با مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک مادهٔ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ 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 حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه* صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود وکوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود .پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی(رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند درکمیتهٔ ملی طرح و بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود .بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که مؤسسه استاندارد تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)[1] کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی (CAC)[5] در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفتهای علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بینالمللی بهره‌گیری می‌شود.

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشو ر و / یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سا زمانها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش ، مؤسسهٔ استاندارد این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آنها نظارت می کند .ترویج دستگاه بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این مؤسسه است.

---

* موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

1- International organization for Standardization
2 - International Electro technical Commission
3- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)
4 - Contact point
5 - Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین

« استاندارد کیفیت آب- نمونه برداری از آب برای آزمون های میکروبیولوژی-آیین کار »

(تجدید نظر اول)

رئیس :	**نمایندگی**
اصلانی ، محمد مهدی (دکترای میکروب شناسی)	انستیتو پاستور ایران
دبیر:	
زندوکیلی ، فاطمه (فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)	موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
اعضاء : (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
بینای مطلق ، پروین (فوق لیسانس مهندسی بهسازی)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی- ادارهٔ سلامت محیط و کار
رحیمی فرد ، ناهید (دکترای میکروب شناسی)	وزارت بهداشت ،درمان و آموزش پزشکی- ادارهٔ کل آزمایشگاه های کنترل غذا و دارو
زمانی ، مینا (لیسانس مهندسی شیمی)	وزارت نیرو – شرکت مدیریت منابع آب ایران
سرگزی ، مریم (لیسانس میکروبیولوژی)	شرکت آبفای شهر ها و شهرک های غرب تهران

شاکری فرد ، پروین (دکترای میکروبشناسی)	دانشگاه صنعت آب و برق شهید عباسپور- گروه آب و فاضلاب
شقاقی ، غلامرضا (فوق لیسانس محیط زیست)	وزارت بهداشت ، درمان و آموزش پزشکی- ادارهٔ سلامت محیط و کار
ضرغامپور ، زهره (فوق لیسانس میکروبشناسی)	شرکت آب و فاضلاب تهران
فیضی ، علی (فوق لیسانس بهداشت محیط)	وزارت نیرو- مرکز تحقیقات نیرو
کوهی کمالی ، پالیز (فوق لیسانس میکروب شناسی)	انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذائی کشور
نیک بین ، حمیده (فوق لیسانس تغذیه)	ادارهٔ کل استاندارد و تحقیقات صنعتی استان تهران

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
آشنائی با موسسهٔ استاندارد	ج
کمیسیون فنی تدوین استاندارد	د
پیش گفتار	ز
مقدمه	ح
۱ هدف	۱
۲ دامنهٔ کاربرد	۱
۳ مراجع الزامی	۱
۴ اصطلاحات و تعاریف	۲
۵ نقطهٔ نمونه برداری	۳
۶ نمونه برداری	۴
۷ حمل و نقل و نگهداری نمونه	۱۹
۸ تعداد نمونه	۲۱
پیوست الف (اطلاعاتی) تعداد نمونهٔ لازم برای تعیین تعداد میکروارگانیسم ها در آب با سطح اطمینان٪ ۹۵	۲۳
پیوست ب (اطلاعاتی) شرایط (زمان و درجهٔ حرارت) نگهداری نمونه های آب	۲۹

پیش گفتار

استاندارد «کیفیت آب ـ نمونه برداری از آب برای آزمون های میکروبیولوژی-آیین کار » نخستین بار در سال ۱۳۷۶ تدوین شد. این استاندارد بر اساس پیشنهاد های رسیده و بررسی توسط موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و تأیید کمیسیون های مربوط برای اولین بار مورد تجدید نظر قرار گرفت و در یکصد و بیست و نهمین اجلاس کمیتهٔ ملی میکروبیولوژی و بیولوژی مورخ ۱۳۸۶/۸/۸ تصویب شد. اینک این استاندارد به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ ، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت های ملی و جهانی در زمینهٔ علوم و خدمات ، استاندارد های ملی ایران در صورت لزوم تجدید نظر خواهد شد و هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استاندارد ها ارائه شود،هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین باید همواره از آخرین تجدید نظر استاندارد های ملی ایران استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۴۲۰۸: سال ۱۳۷۶ می شود.

منابع و مآخذی که برای تدوین این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است :

۱-استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۴۲۰۸ : سال ۱۳۷۶، نمونه برداری از آب برای آزمون های باکتریولوژی

۲- استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۲-۵۷۱۱ ، آب ـ واژه نامه ـ قسمت دوم : آب در طبیعت ، نمونه برداری

۳- استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۴-۵۷۱۱ ، آب ـ واژه نامه ـ قسمت چهارم : بیولوژی و میکروبیولوژی

4 - ISO 19458 : 2006 , Water quality - Sampling for microbiological analysis

مقدمه

نمونه برداری درست از آب برای تهیهٔ نمونه ای که نمایانگر کل باشد ، ضروری است. نمونه برداری بـه هـدف آزمون و ماهیت نمونه بستگی دارد و اهداف نمونه برداری با توجه به نوع آزمون متفاوت است .

آزمون های میکروبیولوژی برای تعیین مطابقت آب با ویژگی های استاندارد ، پایش کارائی فرایند تـصفیهٔ آب ، تعیین نوع ، میزان و منبع آلودگی انجام می شود. میکروارگانیسم هـا، موجـودات زنـده ای هـستند کـه در صورت ورود به آب برخلاف بسیاری از آلاینده های شیمیائی ،یک محلول کامل را تشکیل نمـی دهنـد بلکـه ایجاد سوسپانسیونی با درجـات مختلـف چـسبندگی مـی کننـد. نمونـه بـرداری از آب بـرای آزمـون هـای میکروبیولوژی به توجه خاص نیاز دارد.

با توجه به تاثیر عوامـل مختلـف ماننـد درجـهٔ حـرارت ،زمـان نگهـداری و انتقـال نمونـه بـر رشـد و تکثیـر میکروارگانیسم ها ، کاربرد اصول صحیح نمونه برداری برای انجام آزمـون هـای میکروبیولـوژی و قـضاوت در مورد تعیین قابلیت شرب و کیفیت بهداشتی آب دارای اهمیت بسیار است.

در آزمون های شمارش میکروارگانیسم ها ، هنگامی که میانگین غلظت یا تعداد با ویژگی های نمونـه تفـاوت زیادی دارد (غلظت خیلی کم یا خیلی زیاد) ، تعداد نمونه ها کم و هنگام نزدیک بودن میـانگین غلظـت یـا تعداد با ویژگی ها ، تعداد نمونه ها زیاد است (به پیوست اطلاعاتی **الف** مراجعه شود).

کیفیت آب –نمونه برداری از آب برای آزمون های میکروبیولوژی- آیین کار

هشدار- کاربران این استاندارد باید با روش های معمول آزمایشگاهی آشنا بوده و آموزش های لازم را دیده باشند .این استاندارد تمام مخاطرات ایمنی را که ممکن است با کاربرد آن همراه باشد، نشان نمی دهد. بنابراین مسئولیت کاربر است تا ضمن تعیین راهکارهای ایمنی و بهداشتی، از تطابق آن با مقررات و شرایط ملی نیز اطمینان حاصل کند.

۱ هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین راهنمای روش های نمونه برداری آب برای آزمون های میکروبیولوژی، حمل و نقل، جابجائی و نگهداری نمونه از زمان نمونه برداری تا زمان شروع آزمون است.

۲ دامنهٔ کاربرد

این استاندارد برای انواع مختلف آب مانند آب آشامیدنی ، آب سطحی[1] ، آب زیرزمینی[2] ، آب استخر و پساب (فاضلاب) کاربرد دارد.

یادآوری- برای آگاهی از روش های کلی نمونه برداری آب به استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۸۹۱۰ مراجعه شود.

۳ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی به آن ها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می شود.

در صورتی که به مدرکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد ، اصلاحیه ها و تجدید نظر های بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن ها ارجاع داده شده است ، همواره آخرین تجدید نظر و اصلاحیه های بعدی آن ها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است :

۳-۱ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۷۰۰۲ ، آب آشامیدنی مورد مصرف در فرآوری غذا و نوشیدنی ـ راهنمای نمونه برداری

---

[1] -Surface water
[2] -Ground water

۳-۲ استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۸۹۱۰ ، کیفیت آب – روش های نمونه برداری- آیین کار

۴ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد ، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می رود :

۴-۱

نمونه برداری

فرایند برداشت قسمتی از آب است که نمایانگر کل آن فرض می شود و برای آزمایش ویژگی های مختلف به کار می رود.

۴-۲

نقطهٔ نمونه برداری[1]

موقعیت دقیق محل نمونه برداری است که نمونه ها از آنجا برداشته می شود.

۴-۳

بیوفیلم[2]

لایهٔ نازک زیستی

اجتماع میکروارگانیسم ها می باشد که بوسیلهٔ مواد چسبناکی مانند ترکیبات پلیمری خارج سلولی (که سبب چسبندگی آن ها به سطح آب می شود) احاطه شده است .

۴-۴

باکتری های فشار دوست[3]

باکتری هائی هستند که معمولاً در قسمت های عمیق دریا یا اقیانوس زندگی می کنند وقادر به رشد تحت شرایط فشار هیدروستاتیک افزایش یافته هستند مانند *سودوموناس بتی ستس*[4]

۴-۵

آب یوتروفیک[5]

---

[1] -Sampling point
[2] -Biofilm
[3] -Barophilic bacteria
[4] -*Pseudomonas bathycetes*
[5] -Eutrophic

پیکرهٔ آب سرشار از مواد غذائی است که دارای گونه های اندکی از موجودات زندهٔ آبی با جمعیت نسبی زیـاد است .

۶-۴

آب سطحی

آب جاری و یا ساکن در سطح زمین است مانند آب دریا، دریاچه و رودخانه.

۷-۴

گندزدائی

کاربرد برخی از مواد شیمیائی یا روش های فیزیکی برای از بین بردن یـا غیـر فعـال کـردن میکروارگانیـسم هاست. در این روش لزوماً هاگ (اسپور) باکتری ها از بین نمی رود.

۸-۴

سترون سازی

از بین بردن و یا غیرفعال سازی برگشت ناپذیر میکروارگانیسم ها و هاگ (اسپور) آن هاست.

۹-۴

ضریب دمائی (Q_{10})[1]

میزان تغییر در سیستم های شیمیائی و بیولوژیکی پس از افزایش درجهٔ حرارت تا ۱۰°C است.

۱۰-۴

بهر[2]

تعداد ظروفی **است** که در یک زمان معین و با یک شناسهٔ مشخص تولید شده است.

۱۱-۴

آب زیرزمینی[3]

آبی که در یک سازند زیرزمینی محبوس است و معمولاً قابل بازیافت می باشد.

۵ نقطهٔ نمونه برداری

[1] -Temperature coefficient
[2] -Lot
[3] -Ground water

محل نمونه برداری باید به گونه ای انتخاب شود که نمونهٔ برداشته شده از آن محل ، نشان دهندهٔ خصوصیات کل نمونه باشد و هر گونه تغییرات زمانی و مکانی به حساب آورده شود.

از نمونه برداری در نقاطی که شرایط ناپایدار است خودداری کنید . ناهمگونی[1] سیستم آبی[2] نیز باید در نظر گرفته شود. در مورد بررسی هائی که برای کارائی مادهٔ گندزدا انجام می شود، انتخاب نقاط نمونه برداری باید به گونه ای باشد که از کامل شدن واکنش مادهٔ گندزدا با آب ، اطمینان حاصل شود.

مثال هائی از چگونگی تاثیر ناهمگونی سیستم بر نتایج آزمون در زیر آورده شده است :

مثال ۱: گرفتن نمونه های سطحی یا زیر سطحی[3] یا زیرسطحی آلوده شده هنگام بازیافت از طریق لایه های سطحی یکسان نیست.در برخی از موارد (مانند آب دریاچه و استخر های شنا) غلظت ، در لایه های سطحی ممکن است ۱۰۰۰ برابر بیشتر از قسمت های زیر سطحی باشد.

مثال ۲ : تمام نقاط یک شبکه (به ویژه در شبکه هائی که از دو منبع تغذیه می شود) با هم برابر نیستند و ممکن است نقاط بن بست[4] و یا قسمت هائی که جریان آب کاهش می یابد نیز وجود داشته باشد.

مثال ۳ : به طور کلی کیفیت آب در انتهای قسمت خروجی مخازنی که آب در آن به خوبی مخلوط شده است، ممکن است از قسمت ورودی آب کاملاً متفاوت باشد.

۶ نمونه برداری

۶-۱ کارکنان

آموزش های رسمی ، سوابق آموزشی و تعیین مهارت کارکنانی که نمونه برداری را انجام می دهند باید شرح داده شود و به روشی درست مستند شود.

۶-۲ ظروف نمونه برداری

۶-۲-۱ کلیات

برای نمونه های معمول (برای مثال نمونه برداری از شیر[5]، آب های تفریحی[6] و آب استخر های شنا) باید از ظروف تمیز و سترون استفاده کنید. گنجایش ظروف باید برای انجام تمام آزمون های مورد درخواست مناسب باشد.

---

[1] -Heterogeneity
[2] -Hydraulic system
[3] -Subsurface
[4] -Dead ends
[5] -Tap
[6] -Recreational water

برای نمونه برداری به روش غوطه وری[1] از بطری هائی استفاده کنید که هم قسمت داخلی و هم قسمت خارجی آن ها سترون باشد. برای حفظ و خشک نگهداشتن ظروف پس از سترون سازی از کاغذ ،کاغذ آلومینییوم و یا کیسه هائی با لایهٔ بیرونی پلاستیکی استفاده کنید.

برای ظروفی که قابل سترون سازی در اتوکلاو نیست ، می توانید با استفاده از اشعهٔ گاما[2] یا گاز اتیلن اکساید[3] آن ها را سترون کنید. در این صورت پوشش بسته بندی ظروف را درست پیش از نمونه برداری باز کنید. همچنین می توانید برای حفظ شرایط اسپتیک ، از این پوشش به عنوان دستکش و یا از دستکش سترون استفاده کنید.

روش دیگر این است که پیش از غوطه وری قسمت بیرونی بطری در آب، آن را با استفاده از مادهٔ گندزدای مناسب مانند ایزوپروپانول (طبق بند۶-۳-۱) گندزدائی کنید و صبر کنید تا خشک شود.

یادآوری - برای آزمون باکتری های هاگ دار (اسپوردار) ، کاربرد روش گندزدائی ظروف مناسب نمی باشد.

در بیشتر موارد ، با توجه به پنج گروه از میکروارگانیسم های مورد بررسی در آب و در نظر گرفتن ۱۰۰ ml برای هر گروه ، استفاده از بطری هائی با گنجایش ۵۰۰ml مناسب است.

برای انجام برخی از آزمون ها مانند آزمون میکروارگانیسم های زیر حجم های بیشتری از نمونهٔ آب لازم است :

الف- برای گونه های مختلف میکروارگانیسم ها در آب های معدنی بسته بندی شده برای هر میکروارگانیسم مورد بررسی در آب ، ۲۵۰ml

ب- برای گونه های *وبیریو کلرا*[4] ،سه لیتر تا پنج لیتر

پ- برای گونه های *لژیونلا*[5] یا گونه های *سالمونلا*[6] ، تا یک لیتر

ت- برای ویروس ها، کیست *ژیاردیا*[7] ، *اووکیست کریپتوسپوریدیوم*[8] و آمیب بسته به نوع آب ، ده لیتر تا چند صد لیتر یا بیشتر مورد آزمون قرار می گیرد. در این موارد معمولاً پس از تغلیظ نمونه در محل[9] بوسیلهٔ فیلتر کارتریج[10] آن را به آزمایشگاه منتقل می کنند.

جنس ظروف یا بطری های سترون مورد استفاده ممکن است از شیشه یا پلاستیک های مختلف (طبق بند ۶-۴-۱) باشد. معمولاً ظروف شیشه ای برای استفادهٔ مجدد و ظروف پلی اتیلنی ، برای موارد یکبار مصرف ترجیح داده می شود.

---

[1] -Immersion
[2] -Gamma rays
[3] -Ethylene oxide
[4] -*Vibrio chlorae*
[5] -*Legionella* spp.
[6] -*Salmonella* spp.
[7] -*Giardia* cyst
[8] -*Cryptosporidium oo*cyst
[9] -On site
[10] -Cartridge

کاربرد ظروف با مواد غیر استاندارد به دلیل چسبندگی سطحی باعث اختلال در شناسائی میکروارگانیسم ها می شود.

برای ظروف شیشه ای ، درپوش ظروف باید از نوع سنباده ای[1] و یا پلاستیکی و برای ظروف پلاستیکی ، درپوش های پلاستیکی فشاری و برای هر دو نوع ظروف درپوش های فلزی یا پلاستیکی درپیچ دار باشد. قسمت بیرونی در ظروفی که دارای درپوش سنباده ای یا پلاستیکی هستند، باید به طریقی از آلودگی حفظ شود (مانند استفاده از کاغذ آلومینیوم).

برای پیشگیری از مشکلات مربوط به جابجائی ، یخچال گذاری و مخلوط کردن نمونه هائی با حجم زیاد، انجام مرحلهٔ تغلیظ[2] با استفاده از روش های لخته سازی[3]، سانتریفوژ یا صاف کردن در محل ،توصیه می شود. برای تغلیظ نمونه می توانید ازپمپ های پریستالتیک[4] با لوله های رابط سترون نیز استفاده کنید.

یادآوری ۱- درپوش های فلزی به ویژه آلومینیومی ممکن است هنگام سترون سازی ظروف دراتوکلاو باعث ایجاد مواد سمی شود.

یادآوری ۲- هنگام سترون سازی با حرارت خشک ،برخی از مواد ممکن است محصولات جانبی سمی ایجاد کنند و یا باعث تغییرات pH شوند.

یادآوری ۳- برخی از انواع تجاری پنبهٔ خام که برای درپوش ظروف شیشه ای به کار می رود نیز ممکن است در صورت استفاده از حرارت بالا مواد سمی ایجاد کند.

یادآوری ۴- بطری هائی که دارای درپوش های پلاستیکی فشاری متصل به بطری هستند ، مزایای زیادی دارند .این ظروف مانند بطری های در پیچ دار مقاوم به نشتی هستند و امکان باز نگهداشتن درپوش آن سبب تسهیل در پرکردن ظروف یا برداشت بوسیلهٔ پیپت می شود. همچنین هنگام باز کردن درپوش، در متصل به ظرف باقی می ماند که ضمن نگهداشتن بطری و در با هم ، در را نیز از آلودگی حفظ می کند.

۶-۲-۲ سترون سازی ظروف (بطری ها)

در صورتی که بطری ها مورد استفادهٔ مجدد قرار می گیرد، پس از تمیز کردن بطری های شیشه ای و درپوش آن با استفاده از مواد پاک کنندهٔ غیر سمی و عاری از ترکیبات فسفری ، آن را با آب یون زدائی شده و یا آب مقطر آبکشی کنید. سپس بطری ها را دراتوکلاو با دمای °C (۳ ±۱۲۱) به مدت حداقل ۱۵ دقیقه سترون کنید. در طی افزایش درجهٔ حرارت ، برای جایگزینی بخار با هوای موجود در ظروف، درپوش بطری ها را به صورت شل ببندید تا از جمع شدن ظروف پلاستیکی یا شکستن ظروف شیشه ای ، هنگام سرد شدن پیشگیری کنید. پس از سترون سازی درپوش ظروف را محکم کنید.

---

[1] -Ground glass
[2] -Concentration step
[3] -Flocculation
[4] -Peristaltic

برای پیشگیری از گیر کردن درپوش شیشه ای بطری ها هنگام سرد شدن و چسبیدن آن به ظرف، درپوش ها را جدا از بطری ها سترون کنید. برای سترون سازی جداگانهٔ ظرف و درپوش آن ، ازآلومینیوم یا کاغذ استفاده کنید.

در صورت لزوم بطری ها را در آون برای مدت حداقل ۱ ساعت در دمای ^{o}C (۱۰ ± ۱۷۰) سترون کنید. تاریخ سترون سازی ظروف باید قابل ردیابی باشد.

اثربخشی فرایند سترون سازی را با استفاده از نشانگر های بیولوژیکی یا شیمیائی کنترل کنید.

در صورتی که که سترون سازی ظروف با هیچ روش دیگری امکان پذیر نیست، می توانید ظروف و درپوش آن را با غوطه وری در آب در حال جوش برای مدت حداقل ۳۰ دقیقه گندزدائی کنید. بلافاصله پس از جوشیدن ، آب ظروف را خالی کنید و پس از بستن درپوش ، آن را در کاغذ تمیز بپیچید.

یادآوری۱- بطری های پلی اتیلنی را می توانید با قرار دادن در معرض گاز اتیلن اکساید سترون کنید.ولی به دلیل سمی بودن این گاز ، کلیهٔ عملیات سترون سازی باید با استفاده از تسهیلات خاص انجام شود و زمانی را نیز برای حذف گاز اتیلن اکساید در نظر بگیرید.

یادآوری۲- یکی از روش های سترون سازی بسیار موثر استفاده از پرتو گاما با منبع کبالت۶۰ (^{60}Co) یا سزیوم۱۳۷ (^{137}Cs) یا الکترون های شتابدار[1] با انرژی کافی($۱ \times ۱۰^{۴} Gy$ تا $۲ \times ۱۰^{۴} Gy$) است که بوسیلهٔ تجهیزات خاص قابل دستیابی می باشد.با کاربرد این روش بر خلاف سایر مواد گندزدا، هیچگونه اثری از مادهٔ گندزدا باقی نمی ماند. ولی برخی از مواد ممکن است پس از تکرار تابش به دلیل پلیمریزه شدن مواد ، تغییر یابد.

۶-۲-۳ غیرفعال سازی مادهٔ گندزدا

برای انجام آزمون های میکروبی آب گندزدائی شده با مادهٔ اکسید کننده (مانند کلر، کلرامین ، برم یا ازون) فعالیت مادهٔ گندزدا را بلافاصله پس از نمونه برداری خنثی کنید.برای این منظور مادهٔ احیا کننده مانند سدیم تیوسولفات[2] (طبق بند ۶-۳-۲) را به ظروف حاوی نمونه اضافه کنید.

از نظر تئوری مقدار سدیم تیوسولفات لازم برای غیرفعال سازی یک میلی گرم کلر ۷/۱ mg است. بنابراین مقدار ۰/۱ ml (دو قطره) از محلول سدیم تیوسولفات را به ظروف با گنجایش ۱۰۰ ml اضافه کنید. این مقدار باعث خنثی سازی حداقل ۲ mg/l تا ۵ mg/l کلر آزاد باقیمانده می شود که برای بیشتر نمونه های آب کافی است. در محیط های خاص مانند حوضچهٔ کلر[3] در قسمت ورودی استخر های شنا یا در موارد حذف گونه های *لژیونلا* از سیستم توزیع آب آشامیدنی ، غلظت کلر مورد استفاده بیشتر است و به همین نسبت مقدار بیشتری از سدیم تیوسولفات لازم خواهد بود.

---

[1] -Accelerated electrons
[2] -Sodium thiosulfate
[3] -Foot bath

سدیم تیوسولفات بوسیلهٔ حرارت خشک و مرطوب از بین نمـی رود. بـا توجـه بـه اینکـه pH اسـیدی باعـث تجزیهٔ سدیم تیوسولفات می شود ، از خنثی بودن pH محلول آن اطمینان حاصل کنید.

سدیم تیوسولفات اثر سوئی روی نمونه ندارد و می توان از آن برای آب های کلرزنی نشده نیز استفاده کرد.

یادآوری– نتایج برخی از تحقیقات نشان داده است که *لژیونلا* نسبت به سدیم تیوسولفات حساس اسـت. بنـابراین اسـتفاده از پتاسیم تیوسولفات برای آزمون *لژیونلا* ترجیح داده می شود. اگرچه برای غیرفعال سازی غلظت های کلر معمول ، هیچگونه اثـر سوئی از کاربرد سدیم تیوسولفات مشاهده نشده است.

برای سایر مواد گندزدا اقدامات غیرفعال سازی مشابه لازم است.در مواردی که غیر فعال سـازی امکـان پـذیر نیست ، باید در برگهٔ نمونه برداری گزارش شود.

برای حفظ باکتری ها از اثرات سمی فلزات سنگین مانند روی و مس ،از عوامل گیرندهٔ فلزات مانند اتیلن دی نیترو تترااستیک اسید(EDTA)[1] و یا سدیم نیتریلوتری استات (NTA) [2] به صورت محلول سترون شده بـا فیلتر با غلظت نهائی حدود mg/l ۵۰ استفاده کنید.

از محلول های فوق بهتر است فقط در صورت لزوم (مانند آب های تصفیه شده با نقره یـا مـس) اسـتفاده کنید.

نقره ، بوسیله سدیم سولفید[3] نیز غیرفعال می شود. برای این منظور مقـدار یـک میلـی لیتـر محلـول سـدیم سولفید (طبق بند ۶-۳-۳) را به یک لیتر نمونهٔ آب اضافه کنید.

۶-۲-۴ کنترل کیفیت ظروف نمونه برداری

۶-۲-۴-۱ آزمون سترونی

آزمون کننده باید از سترون بودن ظروف نمونه برداری (ظروف تجاری آماده و ظروفی که در آزمایشگاه آماده می شوند) اطمینان حاصل کند. ظروفی که به طور تجاری آماده می شوند باید همراه با گواهی سترونی و در شرایط قابل قبول به آزمایشگاه تحویل داده شوند. برای هر بهر از ظروفی که پس از افـزودن مـادهٔ غیرفعـال کننده نگهداری می شود ، انجام آزمون های سترونی توصیه می شود.

سترونی بطری ها با کنترل فرایند سترون سازی تضمین می شود در غیر این صورت آزمون سـترونی ظـروف باید انجام شود. مثال هائی از روش آزمون که معمولاً برای ٪ ۱ بطری ها انجام می شود به شرح زیر است :

مثال ۱: روش بطری چرخان[4]

---

[1] -Ethylene dinitro tetra acetic acid
[2] -Sodium nitrilotriacetate
[3] -Sodium sulfide
[4] -Roll bottle method

مقدار ۲۰ ml تا ۵۰ ml آگار مغذی ذوب شده (پلیت کانت آگار) را درون بطری بریزید و بوسیله چرخاندن بطری سترون در حالیکه آگار سرد می شود(و در صورت لزوم استفاده از جریان آهستهٔ آب) دیواره های ظرف را بـا لایـه ای از آگـار بپوشـانید. سپس ظروف را در دمای °C (۲± ۲۲) برای مدت پنج روز گرمخانه گذاری کنید. پس از پایان این مـدت نبایـد رشـد قابـل مشاهده ای در بطری ها دیده شود.

مثال ۲ : روش آبگوشت مایع

مقدار ۲۰ml تا ۵۰ ml تیوگلیکولات[1] یا سایر آبگوشت های مغذی را درون بطری بریزید. برای آغشته کردن دیواره ها ، بطری سترون شده را بچرخانید و سپس آن را در دمای °C (۲± ۲۲) به مدت زمان پنج روز گرمخانه گذاری کنید. پس از پایان ایـن مدت نباید کدورتی در بطری دیده شود.

۶-۲-۴-۲ آزمون وجود مواد غیرفعال کننده

وجود تیوسولفات را می توان به روش یدومتری[2] بررسی کرد. واکنش تیوسولفات با یُد به صورت زیر است:

$$I_2 + 2\,S_2O_3^{2-} \longrightarrow 2\,I^- + S_4O_6^{2-}$$

مقدار ۱۰ml آب مقطر را به بطری های حاوی نمونه بیافزایید. سپس آن را با محلول یُد (طبق بنـد ۶-۳-۴) تیتر کنید. از نشاسته یا تیوفن[3] به عنوان نقطهٔ پایانی تیتراسیون استفاده کنید.

۶-۳ مواد

۶-۳-۱ اتانول ٪ ۷۰ (C_2H_5OH) ، ایزوپروپانول ٪ ۷۰ [$(CH3)_2CHOH$] ، محلول هیپوکلریت حدود یک گرم بر لیتر (ClO^-)

۶-۳-۲ محلول ۱۸mg/ml سدیم تیوسولفات با پنج مولکول آب ($Na_2S_2O_3.5H_2O$)

۶-۳-۳ محلول ۰/۱ mg/ml سدیم سولفید (Na_2S)

۶-۳-۴ محلول ۰/۰۵ mol/l ید (I_2)

---

[1] -Thioglycollate
[2] -Iodometric
[3] -Thiophene

۶-۴ وسایل

۶-۴-۱ ظروف یا بطری های مخصوص نمونه برداری از جنس شیشه یا پلاستیک (پلی پرو پیلن[1]، پلی استیرن[2] ، پلی اتیلن[3] و پلی کربنات[4])

۶-۴-۲ شعلهٔ گاز

۶-۴-۳ بشر

۶-۴-۴ فندک ،کبریت

۶-۴-۵ مارکر، قلم ، برچسب

۶-۴-۶ آچار،آچار پیچ گوشتی ، انبر دست و چاقو

۶-۴-۷ ظرف یخ یا قالب یخ ،کیسهٔ یخ و بسته های یخ مصنوعی

۶-۴-۸ یخچال قابل حمل ونقل و یا وسیلهٔ نقلیهٔ یخچال دار

۶-۴-۹ دماسنج یا ثبت کنندهٔ دما

۶-۴-۱۰ حامل بطری دارای کیسهٔ شن با طناب یا زنجیر (حداقل در قسمت انتهائی از جنس فولاد زنگ نزن[5] باشد).

۶-۴-۱۱ انبرک یا گیرهٔ بلند یا وسیلهٔ نمونه برداری قابل تنظیم برای عمق های مختلف آب

۶-۴-۱۲ نقشهٔ محل نمونه برداری ، فهرست نقاط نمونه برداری ، برگهٔ نمونه برداری

۶-۴-۱۳ چکمهٔ ایمنی (ضد آب)

۶-۴-۱۴ دستکش سترون

۶-۵ روش پر کردن ظروف

۶-۵-۱ آب آشامیدنی از شیر آب

---

[1] -Polypropylene
[2] -Polystyrene
[3] -Polyethylene
[4] -Polycarbonate
[5] -Stainless steel

۶-۵-۱-۱ کلیات

نمونه برداری از شیر آب دارای اهداف مختلف به شرح زیر است:

الف- تعیین کیفیت آب در شبکه اصلی توزیع آب

ب- تعیین کیفیت آب در شبکه توزیع هنگام تحویل به شیر که ممکن است بوسیلهٔ شبکه داخلی ساختمان تغییر یابد.

پ- تعیین کیفیت آب همانطور که مصرف می شود. برای مثال به محض اینکه از شیر (احتمالاً آلوده)جریان می یابد.

نمونه هائی که برای ارزیابی کیفیت در شبکهٔ اصلی توزیع (مانند هدف الف و ب)گرفته می شود بهتر است از شیر های مخصوص که بدون اتصالات[1] و نزدیک به شبکه اصلی توزیع آب است و قابلیت گندزدائی با شعله را نیز دارد برداشت شود .

شیر های معمولی نیز در صورتی که قابل گندزدائی بوسیله شعله باشد، ممکن است برای ارزیابی کیفیت در شبکه اصلی توزیع استفاده شود ولی در موارد مبهم بودن نتیجه ، شبکهٔ آبرسانی را به عنوان منبع بالقوه آلودگی در نظر بگیرید.

برای ارزیابی کیفیت آب به ویژه در موارد تاثیر شبکهٔ آبرسانی درون ساختمان، شرایط شرح داده شده در بند ب جدول ۱را به کار برید. با توجه به اینکه تمام شیر ها قابل گندزدائی با شعله نیستند ، از سایر روش های گندزدائی مانند کاربرد محلول هیپوکلریت، اتانول و ایزوپروپانول (طبق بند ۶-۳-۱) نیز می توانید استفاده کنید.

برای ارزیابی کیفیت آب آشامیدنی در موقعیت های خاص مانند موارد شیوع بیماری ،شرایط شرح داده شده در بند پ جدول ۱را به کار برید.

بسته به هدف نمونه برداری، برداشتن اتصالات شیر، گندزدائی شیر و خروج آب از شیر هم ممکن است لازم باشد و هم ممکن است نادرست باشد (به جدول ۱ مراجعه شود).

[1] -Attachment

جدول ۱- نمونه برداری از شیر برای اهداف مختلف

هدف	نوع آب	برداشت اتصالات	گندزدائی	خروج آب از شیر
الف	در شبکه اصلی توزیع	بله	بله	بله
ب	در هنگام تحویل به شیر	بله	بله	خیر[a] (حداقل)
پ	در هنگام مصرف	خیر	خیر	خیر
a- خروج مختصر آب فقط برای برطرف کردن اثرات گندزدائی شیر است.				

معمولاً نمونه برداری از مخازن ذخیرهٔ آب آشامیدنی بوسیلهٔ شیر در قسمت خروجی انجام می شود. نمونه های زیر سطحی گاهی از خود مخزن گرفته می شود، که دراین صورت ، از بطری هائی که سطح بیرونی و درونی آن سترون است استفاده کنید.

نمونه برداری را در شرایط اسپتیک و بوسیلهٔ دست تمیز یا دستکش سترون به گونه ای انجام دهید که از تجمع هوا[1] یا ترشح آب به اطراف[2] پیشگیری کنید.

هنگام پر کردن بطری ، قسمت داخلی درپوش بطری نباید با انگشت ، زمین ،جیب و دندان تماس داشته باشد. مقداری فضای خالی در بطری بگذارید تا مخلوط کردن کافی نمونه پیش از آزمون، امکان پذیر باشد.

درپوش بطری را به سرعت ببندید و از این نمونهٔ آب برای اندازه گیری درجهٔ حرارت یا هر مشخصهٔ دیگری که در محل باید اندازه گرفته شود، استفاده نکنید.

۶-۵-۱-۲ آب در تصفیه خانه و مخازن ذخیره

در مخازن ذخیره و تصفیه خانه ها ، نمونه های خاص باید از شیر های تعبیه شده در قسمت خروجی اصلی و سایر نقاط نمونه برداری برداشته شود. برای نمونه برداری از شیر هائی که قابل سترون سازی با شعله باشد ، استفاده کنید. این شیر ها همچنین باید تمیز ، برچسب گذاری شده و مخصوص نمونه برداری باشد.

برای کسب آگاهی بیشتر از روش نمونه برداری در مخازن ذخیره به استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۷۰۰۲ مراجعه شود.

---

[1] -Air drifts
[2] -Splashing

شیر فلزی را بوسیلهٔ شعله گاز به گونه ای حرارت دهید تا دمای آن به ۸۰°C یا بیشتر برسد و از گندزدائی دهانهٔ آن اطمینان یابید. چنانچه احتمال باقی ماندن آب در قسمت حرارت دیده وجود دارد، از شعله دادن آن قسمت خودداری کنید.

یادآوری– حرارت دادن بوسیله فندک ، سطحی[1] است و کافی نمی باشد.

۶-۵-۱-۳ آب در شبکه اصلی توزیع

برای تعیین کیفیت آب در شبکه اصلی توزیع، نمونه را از قسمت اصلی و یا نزدیک به آن بردارید (معمولاً درست پس از کنتور آب[2]) . دقت کنید که از سطوح خارجی شیر هیچ آلودگی به نمونه منتقل نشود. در صورت امکان از نمونه برداری از شیرهائی که چکه می کند[3] و شیر های مخلوط خودداری کنید. .همچنین هرگونه افشانک[4] متصل به شیر را با استفاده از آچار و انبردست خارج کنید. هر گونه کثیفی ، پوسته ، لزجی و چربی یا سایر مواد خارجی را از روی شیر پاک کنید و شیر را چندین بار به طور کامل باز و بسته کنید تا هر گونه کثیفی از شیر کاملاً برطرف شود. ترجیحاً شیر را بوسیلهٔ شعله گندزدائی کنید (پس از شعله دادن و باز کردن شیر ، صدای ناشی از حرارت شنیده می شود). فقط هنگامی که حرارت دادن شیر امکان پذیر نیست، از روش های دیگری برای گندزدائی استفاده کنید.

برای گندزدائی دهانهٔ شیر های پلاستیکی ، پس از تمیز کردن کامل ،آن را به مدت ۲ دقیقه تا ۳ دقیقه در بشر حاوی محلول هیپوکلریت، الکل یا ایزوپروپانول (طبق بند ۶-۳-۱) فرو برید. سپس شیر را با جریان کم باز کنید تا آب خارج شود و درجهٔ حرارت آب به حد ثابتی برسد. پس از برداشتن درپوش، بطری را زیر جریان آب قرار دهید و در شرایط اسپتیک آن را پر کنید.

به عنوان روش جایگزین برای گندزدائی قسمت های خارجی و تا حد امکان قسمت های داخلی شیر از یک سواب[5] یا یک بطری شور یا وسیلهٔ مشابه استفاده کنید.

برای کاهش اثر شبکهٔ داخل ساختمان ، پس از گندزدائی ، آب باید به حد کافی جریان یابد. پیش از نمونه برداری زمان خروج آب را با توجه به نقشه یا طرح شبکه (حجم مخازن یا مواد سختی گیر[6] و زمان نگهداشت) ، تعیین کنید. پایش پایداری درجهٔ حرارت آب برای دستیابی به اثرات و اهداف یکسان انجام می شود. در مواردی که جریان و فشار آب زیاد است، بسیاری از میکروارگانیسم های آب در نتیجهٔ به هم خوردن بیوفیلم (لایهٔ نازک زیستی) و معلق شدن دوبارهٔ رسوبات از قسمت های زانوئی و اتصالات پدیدار می شوند. برای کاهش این اثرات ، شیر را با حداکثر جریان برای مدت ۵ ثانیه تا ۱۰ ثانیه باز کنید، سپس جریان آب را تا نیمه کاهش دهید و بدون بستن و باز کردن دوبارهٔ شیر، بطری را زیر آن نگهدارید.

---

[1] -Superficial
[2] -Water meter
[3] -Leaking spindles
[4] -Nozzel
[5] -Swab
[6] -Softner

۶-۵-۱-۴ آب در شیر مصرف کننده

برای تعیین کیفیت آبی که به شیر مصرف کننده تحویل داده می شود، دقت کنید تا آلودگی از سطح خارجی ظرف به نمونه منتقل نشود . هر گونه کثیفی ، لزجی ،پوسته ، چربی و سایر مواد خارجی را که ممکن است وارد نمونه شود از شیر برطرف کنید.از شیر هائی که چکه می کنند ، نمونه برداری نکنید. هرگونه افشانک یا سایر اتصالات شیر را از آن جدا کنید. ترجیحاً شیر را بوسیله شعله گندزدائی کنید. در غیر این صورت با استفاده از سایر روش های مناسب آن را گندزدائی کنید. (به بند ۶-۵-۱-۳ رجوع شود).

پس از گندزدائی ،آب باید به اندازه ای جریان یابد تا هیچگونه اثری از مادهٔ گندزدا باقی نماند. سپس بطری ها را بدون بستن و باز کردن دوبارهٔ شیر آب ، زیر شیر قرار دهید.

۶-۵-۱-۵ آب هنگام مصرف

برای تعیین کیفیت آبی که مصرف می شود ،(برای مثال در موارد شیوع بیماری)، آلودگی آب توسط باکتری ها از طریق قسمت های خارجی شیر و سایر اتصالات به شیر نیز باید در نظر گرفته شود. بنابر این در این موارد اتصالات شیر باید در جای خود قرار گیرند و شیر نباید پیش از نمونه برداری گندزدائی شود.

۶-۵-۲ آب چشمه و چاه

آزمون آب چاه با اهداف مختلف انجام می شود :

۱- آگاهی از کیفیت سفرهٔ آب زیرزمینی

۲- آگاهی از کیفیت آب چاه[1](داخل چاه)

۳- آگاهی از کیفیت آب به همان صورت که مصرف می شود.

بسته به هدف آزمون ، به دلیل تفاوت های بین چاه های بدون پمپ و چاه های دارای پمپ دائمی ،انتخاب روش های مختلف نمونه برداری لازم است . در جدول های ۲ و ۳ روش های مختلف نمونه برداری که بسته به هدف مورد نظر باید انتخاب شوند ارائه شده است.

[1] -Well water

جدول ۲- نمونه برداری از آب چاه برای اهداف مختلف در چاه هائی با پمپ دائمی و شیریا خروجی فلزی

هدف	نوع آب	پمپ کردن	گندزدائی شیر
۱	سفرهٔ آب زیرزمینی	بله (زیاد)	بله
۲	آب چاه(داخل چاه)	خیر[a] (حداقل)	بله
۳	آب به همان صورت که مصرف می شود	خیر	خیر

a- خروج مختصر آب ، فقط برای برطرف کردن اثرات گندزدائی شیر است.

جدول ۳- نمونه برداری از آب چاه برای اهداف مختلف در چاه هائی بدون پمپ دائمی

هدف	نوع آب	دارای پمپ تمیز و قابل فرو بردن در زیر آب	با بطری سترون (قسمت درونی و بیرونی)	از یک سطل
۱	سفرهٔ آب زیرزمینی	+[a]	–	–
۲	آب چاه(داخل چاه)	+[b]	+	–
۳	آب به همان صورت که مصرف می شود	–	–	+

a – پس از پمپ کردن زیاد (مستمر)

b – فقط در موارد پمپ کردن کم

چاه هائی که در آن پمپ دائمی نصب شده است معمولاً دارای شیر یا خروجی فلزی هستند. بسته بـه هـدف نمونه برداری پمپ کردن زیاد و گندزدائی شیر ترجیحاً بوسیله شعله لازم است. به جدول ۲ مراجعه شود.

پمپ کردن زیاد (حداقل ۳ بار) برای آب های زیرزمینی بدین معناست که پمپ کردن تا زمان تثبیت درجهٔ حرارت آب و هدایت الکتریکی[1] انجام شود . برای نمونه برداری از آب داخل چاه فقط خروج کوتـاه آب بـرای غلبه بر اثر گندزدائی شیر کافی است.

برای نمونه برداری از آب به همان صورت که مصرف می شود (هدف ۳ در جدول های۲ و ۳) ، پمپ کـردن و گندزدائی شیر لازم نیست. چاه هائی که بدون پمپ دائمی هستند بوسیله پمپی که قابل فرو بـردن در زیـر آب باشد نمونه برداری می شود. این پمپ فقط برای آب های تمیز استفاده می شود و پمپ کردن زیـاد بایـد تضمین شود.

برای نمونه برداری از آب داخل چاه بهتر است از وسیلهٔ نمونه برداری سـترون شـامل حامـل و کیـسه شـنی استفاده کنید. به طور جایگزین یک پمپ تمیز قابل فرو بردن در زیر آب را نیز می توانید پس از پمپ کـردن کم استفاده کنید. درمواردی که آب چاه بدون دستگاه پمپ بوسیلهٔ مصرف کننده استفاده مـی شـود (بـرای مثال بوسیلهٔ سطل) ، آب را از سطل به بطری نمونه برداری سترون منتقل کنید.

۶-۵-۳ آب استخر های شنا

برای نمونه برداری پس از صافی یا لوله های تغذیه کننـدهٔ اسـتخر، شـیرهای نمونـه بـرداری خـاص بایـد در دسترس باشد. برای پیشگیری از راکد بودن آب، این شیر ها باید با اتصال کوتاهی روی لوله ها جوش خـورده باشد.

بطری ها را به همان روشی که برای نمونه برداری از شیر در شبکه اصلی توزیع، انجام می دهید ، پر کنید.

برای پر کردن از آب ورودی استخر (پس از شفاف سازی ، تصفیه و تزریق کلر) ،نمونه ها را از نقطـهٔ تزریـق کلرکه باقیماندهٔ مادهٔ گندزدا ناپایدار است، برداشت نکنیـد. بـرای بررسـی معمـول آب اسـتخر هـای شـنا بـا استفاده از گیرهٔ بلند نمونه برداری ، نمونه های زیر سطحی را از عمق ۱۰cm- تـا ۳۰ cm- از قـسمت مقابـل ورودی آب برداشت کنید.

چنانچه جریان عمودی[2] آب وجود ندارد ، باید نقطهٔ مناسب تری را برای نمونه برداری انتخـاب کنیـد. بـرای پیشگیری از بیرون ریختن تیوسولفات هنگام نمونه برداری، بطری را به صورت افقی وارد آب کنید. سپس آن را به صورت قائم بچرخانید تا نمونهٔ کافی جمع آوری شود.

---

[1]-Electric conductivity
[2]-Vertical water flow

یادآوری- در برخی از استخر های شنا ، ارزیابی آلودگی سطحی ممکن است بوسیلهٔ نمونه برداری ازسرریز آب پیرامونی انجام شود.در سطح آب استخر ، در شرایط راکد بودن آب، لایه های نازکی تشکیل می شود که از تجمع میکروارگانیسم هائی مانند گونه های *استافیلوکوکوس*[1](ناشی از ریزش پوست بدن در آب) تشکیل می شود.

۶-۵-۴ آب های سطحی

۶-۵-۴-۱ آب شناگاه[2]

آب شناگاه ها (**مانند** رودخانه،دریاچه و ساحل دریا) معمولاً پس از یک سری سنجش ها درهر فصل طبقه بندی می شود. نقاط نمونه برداری باید کاملاً تعیین شود.

نقاط نمونه برداری ، بسته به هدف نمونه برداری باید نشانگر کیفیت آب در محلی باشد که اکثریت شناگران از آن استفاده می کنند یا محلی که در آن وجود آلودگی انتظار می رود.

نمونه های زیر سطحی(۲۰cm - تا ۳۰cm-) را از عمق ۱m تا ۱/۵ mt بردارید و بطری را به صورتی که سر آن به طرف پائین باشد، وارد آب در قسمت عمق نمونه برداری کنید. سپس برای پیشگیری از آلودگی با چرخاندن بطری به پهلو و بالا آن را پر کنید. در قسمت هائی که جریان وجود دارد بطری را به سمت بالا نگه دارید. در برخی از ساحل ها که عمق یک متری آب قابل دستیابی نیست، نمونه ها باید از عمق کمتر برداشته شوند.این وضعیت باید در گزارش نمونه برداری ثبت و به اثرات معلق شدن دوبارهٔ رسوبات توجه خاص شود.

یاداوری – یکی از منابع اصلی تغییر در کیفیت آب ساحل ،به حالت تعلیق در آمدن باکتری هائی است که به صورت سطحی، جذب خاک یا گل و لای آلی شده اند. شن های درشت که در مناطق هیدرودینامیک[3] وجود دارند،آلودگی های زیادی را جذب نمی کنند. علت های مختلف طبیعی و یا ساختهٔ دست انسان (مانند جذر و مد بهاری ، توفان و قایقرانی) که با تعلیق رسوبات باعث افزایش خطرات بهداشتی می شود ، باید در نظر گرفته شود. ولی نمونه برداری به روش نادرست نیز ممکن است همین اثرات را داشته باشد.(مانند نمونه برداری از نقاط نزدیک به کف ، هم زدن رسوبات و حرکت کشتی حامل نمونه بردار) .

۶-۵-۴-۲ دریا ، دریاچه رودخانه

نمونه برداری از آب دریا ، دریاچه و رودخانه باید با استفاده از قایق انجام شود. هنگام انتخاب محل های دقیق نمونه برداری ،الگو های فصلی و طبقه بندی عمودی آب دریاچه ، دریا و به هم خوردن آب رودخانه باید در نظر گرفته شود. برای گرفتن نمونه های زیر سطحی و عمقی دور از ساحل ، می توانید ازسیستم های خاصی (مانند سیستم J-Z)که از قسمت های عمیق نمونه برداری می کند ، استفاده کنید. ، ولی بطری

---

[1] -*Staphylococcus* spp.
[2] -Bathing water
[3] -Hydrodynamic

های اقیانوس شناسی[1] که برای آزمون های شیمیائی استفاده می شوند ، قابل سترون سازی نیستند و برای این کار مناسب نمی باشد.

سیستم J-Z شامل یک بطری شیشه ای سترون تحت خلاء است که در آن بوسیله درپوش پلاستیکی و لولهٔ شیشه ای بسته می شود و به گونه ای خم می شود که به طناب نزدیک باشد. وقتی که بطری در عمق مطلوب قرار دارد ، پیامی به طناب ارسال می شود و با شکستن لوله بطری پر می شود. برخی از سیستم های سرنگی و سایر روش های مشابه ، فشار آب نمونه برداری شده را به اندازهٔ فشار آب در محل نمونه برداری حفظ کند.

برای جستجوی باکتری های فشار دوست که معمولاً در اعماق دریا وجود دارند می توانید در صورت دسترسی از سیستم J-Z استفاده کنید. هنگامی که از چنین دستگاه هائی در آب های کم عمق استفاده می کنید ایجاد تلاطم در رسوبات بوسیله کشتی ، نمونه بردار و لنگر را به حداقل برسانید.

از یک قایق شناور از قسمت پشت به باد و نه به سمت باد ، نمونه ها را بردارید .از یک کشتی لنگر انداخته نمونه ها را ازقسمت دماغهٔ کشتی بردارید. هر گونه آلودگی احتمالی ناشی از طناب هائی که وسایل سترون را حمل می کند باید کاهش یابد. برای مثال می توانید از سیم هائی از جنس فولاد زنگ نزن و یا زنجیر استفاده کنید.

۶-۵-۵ پساب (فاضلاب)

برای نمونه برداری ازپساب ، از دستکش های یکبار مصرف و یا گیرهٔ سترون استفاده کنید تا احتمال خطر ایجاد عفونت در نمونه بردار را به حداقل برسانید. پس از نمونه برداری ، قسمت بیرونی بطری را تمیز کنید و یا پس از قرار دادن بطری ها در کیسه های تمیز آن را به طور جداگانه از نمونه های آب آشامیدنی منتقل کنید.

۶-۵-۶ بیوفیلم

نمونه های بیوفیلم را بوسیلهٔ قاشقک، تیغ یا سواب سترون بردارید. سپس آن را به ظروف نمونه برداری سترون منتقل کنید و پس از همگن سازی ، آزمون را انجام دهید. باکتری های عامل خوردگی در رسوباتی جستجو می شوند که پس از صاف کردن با استفاده از دکانتور و یا **سا**نتریفوژ کردن نمونه های مایع، بدست می آید . ذرات فلزات خورده شده[2] با ایجاد تغییرات ناگهانی فشار[3] در لوله آب جمع آوری می شود.

---

[1] -Oceanographic
[2] -Corroded
[3] -Water hammer

در صورتی که هدف جداسازی باکتری های احیا کنندهٔ سولفات در آب باشد ، نمونه برداری بوسیلهٔ سـواب از برآمدگی های[1] مرطوب ، بهتر از نمونه برداری از آب به تنهائی است .

۶- ۶ برگه های نمونه برداری

هر بطری را برچسب شناسائی بزنید و پیش از نمونه برداری و یا بلافاصله پس از آن برگه های نمونه بـرداری را تکمیل کنید. برگه ها حداقل باید نشانگر نام و آدرس مشتری (درخواست کننده) ،فهرست مشخصه هائی که قرار است آزمون شود ، تاریخ ، زمان ، موقعیت (محل) نمونه برداری و نام نمونه بردار باشد.

ماهیت (منشاء) نمونه ها و هدف آزمون نیز به دلیل اینکه ممکن است به انتخاب روش آزمون کمک کند باید مشخص شود. سایر جزئیات نیز ممکن است برای تفسیر درست نتایج لازم باشد. برای مثال درجـهٔ حـرارت ، عوامل بیوساید[2](زیست کش)، نقطهٔ دقیق نمونه برداری و هر نوع مشاهدهٔ قابل توجه که ممکـن اسـت روی کیفیت میکروارگانیسم های آب اثر داشته باشد.

۷- حمل و نقل و نگهداری

۷-۱ حمل و نقل

فاصلهٔ زمانی بین نمونه برداری و آزمون باید تا حد امکان کوتاه باشد، بـرای آب هـای آشـامیدنی بهتـر اسـت آزمون در همان روز نمونه برداری انجام شود.

بهتر است هنگام حمل و نقل ، نمونه ها در دمای ^{o}C(۳ ± ۵) نگهداری شـود (بـرای مثـال مـی توانیـد از کیسه های یخ استفاده کنید).

برای آزمون های میکروبیولوژی (به جز آزمون ویروس ها) باید از یخ زدن نمونه ها پیشگیری کنیـد. نمونـه ها را از تابش نور خورشید محافظت کنید. برای نمونه هائی که حمل ونقل آن بیش از هشت ساعت به طـول می انجامد ، پایش و ثبت درجهٔ حرارت لازم است. شرایط حمل و نقل نیز باید مستند شود.

برای پیشگیری از یخ زدن نمونه باید دقت شود تا نمونه ها با کیسه های یخ تمـاس مـستقیم نداشـته باشـد. همچنین تعداد و حجم کیسه های یخ با تعداد ، حجم و درجهٔ حرارت نمونه تنظیم شود.

روش کار در مواردی که زمان حمل ونقل نمونه بیش از هشت ساعت است باید مستند شود. نمونـهٔ آب هـای سرد وگرم باید به طور جداگانه حمل ونقل شوند.

بین دمای^{o}C۰ تا ^{o}C ۴۵ واکنش باکتری ها، متناسب با درجهٔ حرارت است. در صورت تکثیر فلورمیکروبی[3] ، هرچه درجهٔ حرارت بالاتر باشد سرعت تکثیر هم بیشتر می شود .از طرف دیگر در صورت مـرگ بـاکتری هـا سرعت واکنش با گرم شدن افزایش می یابد.

---

[1] -Tubercules
[2] -Biocide
[3] -Microflora

در باکتری شناسی معمولاً با افزایش هر ۱۰ درجهٔ حرارت رشد باکتری ها تقریباً دو برابر می شـود (Q_{10}=۲). به عبارت دیگر با افزایش درجهٔ حرارت تا ۱۰ درجهٔ سلسیوس ، سرعت مرگ و میر و تکثیر هر دو به صـورت ضریبی از دو افزایش می یابد. بنابراین سرد کردن نمونه ها در طی حمل و نقل مهم است ولی نباید نمونه ها منجمد شود زیرا تشکیل یخ سبب مرگ بیشتر سلول ها (بیش از ٪ ۹۹) می شود. فقط در مورد نمونه هائی که برای آزمون ویروس هاست ، در صورت افزودن مقدار مناسب مادهٔ محافظ سرما[1] می توان آن را در دمـای ۷۰°C- نگهداری کرد.

یادآوری۱- در شرایط بهینه ، تقسیم یک سلول *اشریشیا کلی* مدت بیست دقیقه طول می کشد و پس از ۱۰ ساعت منجر بـه ایجاد ۱×۱۰^{۹} سلول می شود. اگرچه در صورتی که آب حاوی سایر میکروارگانیـسم هـا و مـواد مغـذی ناکـافی باشـد، چنـین تکثیری اتفاق نمی افتد. به عبارت دیگر ، فلور میکروبی در کمتر از مدت بیست دقیقه به نصف کاهش می یابد. غیرفعال سازی کلر نمونه ها نیز باید در نظر گرفته شود.

یادآوری ۲- بیشتر بررسی های انجام شده اثرات مفید یخچال گذاری در دمای کمتر از ۱۰ °C را به منظـور نگهـداری نمونـه های آب برای آزمون باکتریولوژی نشان می دهد. محدودهٔ مناسب درجهٔ حرارت °C(۳± ۵) با قرار دادن نمونه ها در ظرف یخ قابل دستیابی است(ترجیحاً بسته های یخ مصنوعی) .ولی بدیهی است که درجهٔ حرارت آب به محض قرار گرفتن در ظرف یخ به دمای °C (۳±۵) نمی رسد. مدت زمان رسیدن به این دما بسته به شرایط زیر متفاوت است:

- اندازهٔ ظرف و وضعیت عایق بندی آن ؛
- درجهٔ حرارت بیرونی ظرف ؛
- جرم نمونهٔ آب و درجه حرارت اولیهٔ آن ؛
- جرم یخ .

یادآوری ۳- بسته های یخ مصنوعی نسبت به یخ طبیعی سرمای بیـشتری ایجـاد مـی کننـد و همچنـین ذوب نمـی شـوند، بنابراین باعث کاهش خطر کنده شدن برچسب و محو شدن جوهر یا آلودگی نمونه می شوند.

۷-۲ تأخیر زمانی

تأخیر زمانی بین نمونه برداری و آزمون شامل حمل و نقل ، ثبت و فرایند در آزمایشگاه اسـت. تـأخیر زمـانی بین نمونه برداری و آزمون ، موثق بودن نتایج آزمون را کاهش می دهد. بنابراین نمونه بردار و آزمـون کننـده

[1] -Cryoprotectant

باید به صورت هماهنگ با هم کار کنند تا آزمون نمونه ها در حداقل زمان ممکن انجام شود. تأخیر زمانی باید تا حد امکان کوتاه باشد و در گزارش آزمایشگاه ثبت شود.

یادآوری- برای آب های تصفیه نشده و یا برخی از آب های یوتروفیک مدت زمان تاخیر بیشتر نیز پیشنهاد شده است. اگرچه در تمام مراجع، انجام سریع آزمون تا حد امکان پیشنهاد شده است زیرا بیشتر بررسی های انجام شده تغییرات قابل توجهی را حتی با یخچال گذاری نشان داده است.

در جدول ب.۱ پیوست اطلاعاتی **ب** برای حداکثر زمان تأخیر ،توصیه هائی به صورت خلاصه ارائه شده است. مدت زمان های توصیه شده در جدول فوق بسته به نوع نمونهٔ آب ، وضعیت فیزیولوژیکی میکروارگانیسم ها (مانند کاربرد مادهٔ گندزدا) و حتی روش آزمون ، متفاوت است.

چنانچه زمان نگهداری نمونه ها بیش از زمان توصیه شده در جدول ب-۱ پیوست اطلاعاتی **ب** است ، نوشتن عبارت « نتایج آزمون n ساعت پس از نمونه برداری بدست آمده است » در برگهٔ گزارش آزمون، الزامی است .

۸- تعداد نمونه

تعداد نمونهٔ لازم برای آزمون های میکروبیولوژی آب بسته به تعداد افراد مصرف کننده ، نوع و منبع آب ، نوع تصفیه و نوع آزمون ، متفاوت است. تعداد نمونهٔ لازم بر حسب جمعیت مصرف کننده را مطابق با بند ۸-۱ تعیین کنید .

برای آزمون شمارش میکروارگانیسم ها ، تعداد نمونهٔ لازم را مطابق با بند ۸-۲ تعیین کنید.

یادآوری -هنگام شیوع بیماری های واگیردار ، تعمیرات شبکهٔ آبرسانی ، بروز حوادثی مانند سیل و زلزله و سایر موقعیت های اضطراری تعداد نمونه و تواتر نمونه برداری افزایش می یابد.

۸-۱ تعداد نمونه بر حسب جمعیت مصرف کننده

برای آزمون باکتری های نشانگر آلودگی مدفوعی در شبکهٔ توزیع، تعداد نمونهٔ لازم را با توجه به جمعیت مصرف کنندهٔ تحت پوشش مطابق با جدول ۱ تعیین کنید.

جدول ۱- حداقل تعداد نمونه برای آزمون باکتری های نشانگر آلودگی مدفوعی در شبکهٔ توزیع

ردیف	جمعیت (نفر)	تعداد نمونه در سال
۱	< ۵۰۰۰	۱۲
۲	۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰	۱۲ به ازای هر ۵۰۰۰ نفر
۳	۱۰۱۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰	۱۲ به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر به علاوه ۱۲۰ نمونه اضافی
۴	> ۵۰۰۰۰۰	۱۲ به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر به علاوه ۱۸۰ نمونه اضافی

۸-۲ تعداد نمونه برای تعیین میانگین تعداد میکروارگانیسم ها

برای آزمون تعیین میانگین تعداد میکروارگانیسم ها در آب ، تعداد نمونهٔ لازم را مطابق با پیوست اطلاعاتی **الف** تعیین کنید.

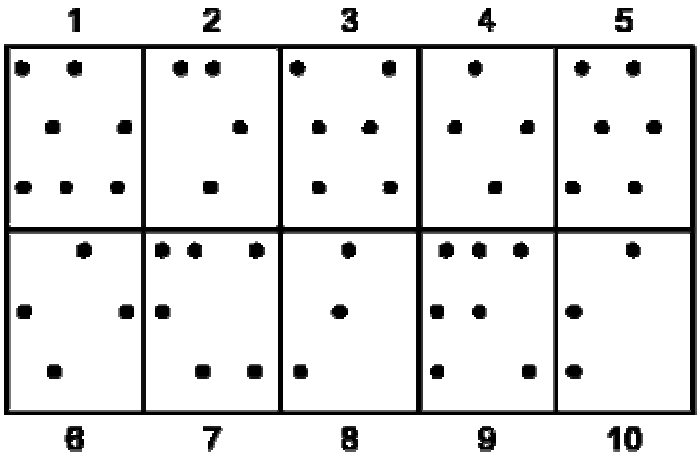
پیوست الف

(اطلاعاتی)

تعداد نمونه لازم برای تعیین میانگین تعداد میکروارگانیسم ها در آب با سطح اطمینان ٪۹۵

الف.۱ کلیات

شکل الف-۱ نمونه ای از توزیع ۵۰ میکروارگانیسم در یک لیتر از نمونهٔ آب را نشان می دهد.



شکل الف.۱ نمونه ای از توزیع ۵۰ میکروارگانیسم در یک لیتر نمونه آب کاملاً همگن

در شکل الف-۱ مشاهده می شود که هیچیک از ۱۰ نمونه ۱۰۰ میلی لیتری دارای میانگین ۵ میکروارگانیسم در ۱۰۰ میلی لیتر نیستند.

تحت شرایط ایده آل همگن سازی ، توزیع تعداد باکتری ها را می توان بوسیلهٔ تخمین با قانون پویسون[1] تعیین کرد. این قانون برای نمونه هائی با تعداد کم میکروارگانیسم ها که در آن واریانس (پراش) برابر

[1] -Poisson law

میانگین است ، به کار برده می شود. منظور از تعداد کم ،کمتر از ۱۲ ذرهٔ تشکیل دهنده کلنی[1] درحجم آزمون شده مانند گونه های *سالمونلا* یا *اشریشیا کلی* در آب های آشامیدنی است.

در صورتی که تعداد میکروارگانیسم ها بیشتر است (بیشتر یا برابر ۱۲ ذرهٔ تشکیل دهنده کلنی در حجم آزمون شده)، واریانس s^2 غالباً بیشتر از حد مورد انتظارمی باشد.

$s^2 = K.m$ **که در آن** K **بیشتر از یک است.**

توزیع میکروارگانیسم ها، دارای پراکندگی زیاد[2] یا توزیع احتمالات[3] است ، K ضریب پراکندگی زیاد و m میانگین حسابی[4] تعداد میکروارگانیسم هاست.

الف.۲ محاسبه

برای محاسبهٔ تعداد نمونه هائی که باید آزمون شوند به صورت زیر عمل کنید:

الف- انحراف قابل قبول D را برای نتایج انتخاب و درصد را به صورت دهدهی[5] بیان کنید.

مثال۱ : ±۲۰٪ ، ±۵۰٪

مثال۲: ۲۰٪ =۰/۲۰

ب- در صورت امکان بر اساس برآوردی از تعداد میکروارگانیسم ها در نمونهٔ آب ، میانگین تعداد قابل انتظار (m) را در آزمونه تخمین بزنید.

پ- در صورت امکان برای تعیین مقدار ضریب پراکندگی زیاد K با استفاده از جدول الف.۱ ، ضریب پراکندگی فرضی را انتخاب کنید.

ت- پس از تعیین مقدار K و میانگین تعداد میکروارگانیسم ها، با استفاده از فرمول ۱ تعداد نمونه های لازم برای آزمون آب را تخمین بزنید :

$$N = \frac{K \times \chi_1^{\,2}}{m \times D^2} \qquad (۱)$$

[1] -Colony forming particles
[2] -Overdispersed distribution
[3] -Contagious distribution
[4] -Arithmetic mean
[5] -Decimal

که درآن :

N تعداد نمونه ها ؛

χ_1^2 مقدار توزیع مربع کای[1] با درجهٔ آزادی[2] یک (برای سطح اطمینان ٪۹۵ ، مقدار معنی دار ۳٫۸۴ است)؛

K نسبت واریانس (پراش) به میانگین ، ضریب پراکندگی زیاد ؛

m میانگین حسابی تعداد میکروارگانیسم های شمارش شده ؛

D انحراف قابل قبول[3] است که به صورت کسر دهدهی میانگین بیان می شود.

در صورت لزوم برای تعیین واریانس (پراش) از فرمول ۲ استفاده کنید.

$$s^2 = \frac{\sum\left(x_i - \bar{x}\right)^2}{n-1} \qquad (۲)$$

که در آن :

x_i نتیجهٔ شمارش میکروارگانیسم برای هر نمونه ؛

$\bar{x}$ میانگین شمارش میکروارگانیسم در کل نمونه ها ؛

n تعداد نمونه های آب است.

---

[1] -Chi-squared
[2] -Degree of freedom
[3] -Deviance tolerated

جدول الف.۱ تخمین ضریب پراکندگی زیاد K برای نوع آب و تعداد میکروارگانیسم های قابل انتظار

نوع آب از نظر کدورت	تعداد میکروارگانیسم ها m (ذرات تشکیل دهندهٔ کلنی در حجم مورد آزمون)			
	کمتر از ۱۲	۱۲ تا ۳۰	۳۰ تا ۵۰	بیشتر از ۵۰
آب شفاف	$K=۱$	$K=۱/۵$	$K=۳$	$K=۸$
آب کدر	$K=۱$	$K=۲$	$K=۴$	$K=۱۲$
آب بسیار کدر	$K=۱$	$K=۲$	$K=۵$	$K=۱۶$

الف-۳ مثال ها

مثال الف-۳ -۱

اگر برای میانگین تخمین زده شدهٔ ۵ ذرهٔ تشکیل دهندهٔ کلنی در حجم مورد آزمون دقت حدود ٪۲۰ باشد، ضریب پراکندگی زیاد K برابر یک است (به جدول الف.۱ مراجعه شود).

تعداد نمونهٔ لازم (N) برای سطح اطمینان ٪۹۵ با استفاده از فرمول ۱ بدست می آید:

$$N=\frac{۳/۸۴}{(۰/۲)^{۲}\times ۵}=۱۹/۲$$

بنابراین برای تعیین تعداد میکروارگانیسم ها در نمونه های آب دارای پنج ذرهٔ تشکیل دهنده کلنی در حجم مورد آزمون با انحراف قابل قبول ٪ ۲۰± ، تعداد ۱۹ نمونهٔ آب لازم است.

اگر فقط پنج نمونه گرفته شود دقت نسبی بهتر از ۴۰ درصد نخواهد بود.

اگر یک نمونه آزمون شود ، احتمال خطر منفی کاذب ۷۰ درصد خواهد بود.

مثال الف-۳-۲

مطابق جدول الف.۱ در مورد آب های دارای کدورت برای تعداد حدود ۳۰ ذرهٔ تشکیل دهندهٔ کلنی در حجم موردآزمون ضریب پراکندگی زیاد برابر ۴ (واریانس ۴ برابر بیشتر از میانگین) تعیین شده است.

در سطح اطمینان ٪۹۵ برای انحراف قابل قبول ٪۲۰ تعداد نمونه های مورد آزمون با استفاده از فرمول ۱ به صورت زیر محاسبه می شود :

$$N = \frac{۴ \times ۳/۸۴}{(۰/۲)^{۲} \times ۳۰} = ۱۲/۸$$

بنابراین برای تخمین تعداد میکروارگانیسم ها با انحراف قابل قبول ٪۲۰ و سطح اطمینان ٪۹۵ در نمونه های کدر که حاوی حدود ۳۰ ذرهٔ تشکیل دهندهٔ کلنی در حجم مورد آزمون هستند ، تعداد ۱۳ نمونه باید آزمون شود.

مثال الف۳-۳

آب سطحی کدر با تعداد میکروارگانیسم های مورد انتظار حدود ۱۵ ذرهٔ تشکیل دهندهٔ کلنی در حجم آزمون شده ضریب پراکندگی زیاد برابر دو می باشد (به جدول الف.۱ مراجعه شود).

با انحراف قابل قبول ٪۲۰± ، تعداد نمونه هائی که باید آزمون شود،با استفاده از فرمول ۱ برابر است با :

$$N = \frac{۲ \times ۳/۸۴}{(۰/۲)^{۲} \times ۱۵} = ۱۳$$

برای انحراف قابل قبول ٪۵۰± ، تعداد نمونه هائی که باید آزمون شود ، با استفاده از فرمول ۱ برابر است با :

$$N = \frac{۲ \times ۳/۸۴}{(۰/۵)^{۲} \times ۱۵} = ۲$$

مثال الف-۳-۴

انحراف قابل قبول : ٪۲۰±

نوع آب مورد آزمون از نظر کدورت : شفاف

تعداد میکروارگانیسم های مورد انتظار : ۲۰ ذرهٔ تشکیل دهنده کلنی در حجم مورد آزمون

ضریب پراکندگی زیاد : K = ۱/۵ (مطابق با جدول الف-۱)

با استفاده از فرمول ۱ تعداد نمونه هایی که باید آزمون شود برابر است با :

$$N = \frac{۱/۵ \times ۳/۸۴}{(۰/۲)^۲ \times ۲۰} = ۷$$

بنابراین تعداد نمونهٔ لازم برای آزمون ۷ نمونه می باشد.

نتایج زیر از آزمون شمارش میکروارگانیسم ها در ۷ نمونهٔ آب بدست آمده است:

۱۳، ۸، ۱۹، ۸، ۷، ۱۵ ، ۱۳

بنابراین میانگین تعداد میکروارگانیسم ها برابر است با :

$$m = \frac{۱۳+۱۵+۷+۸+۱۹+۸+۱۳}{۷} = ۱۱/۹$$

میانگین تعداد میکروارگانیسم ها به طور قابل توجهی از حد مورد انتظار کمتر است.

با استفاده از فرمول ۲ واریانس برابر است با :

$$S^۲ = \frac{(۱۳-۱۱/۹)^۲ + (۱۵-۱۱/۹)^۲ + (۷-۱۱/۹)^۲ + (۸-۱۱/۹)^۲ + (۱۹-۱۱/۹)^۲ + (۸-۱۱/۹)^۲ + (۱۳-۱۱/۹)^۲}{۷-۱} = ۱۹/۵$$

مقدار ضریب پراکندگی زیاد برابر است با :

$$K = \frac{۱۹/۵}{۱۱/۹} = ۱/۶$$

بنابراین تعداد نمونه مناسب بوده است و می تواند برای بررسی های بعدی مورد استفاده قرار گیرد.

پیوست ب

(اطلاعاتی)

شرایط (زمان و درجهٔ حرارت) نگهداری نمونه های آب

مقادیر زمان و درجهٔ حرارت پیشنهادی و قابل قبول برای نگهداری نمونه های آب طبق جدول ب-۱ می باشد.

جدول ب.۱ مقادیر `پیشنهادی و قابل قبول برای حداکثر زمان و درجهٔ حرارت نگهداری نمونهٔ آب

آزمون	حداکثر زمان نگهداری نمونه شامل انتقال (ساعت)		درجهٔ حرارت نگهداری نمونه ^{o}C		توضیحات
	پیشنهادی	قابل قبول	پیشنهادی	قابل قبول	
کلی میکروارگانیسم های قابل کشت ^{o}C (۲۲، ۳۰ و۳۶)	۸	۱۲	۳±۵		
نشانگر های مدفوعی،باکتری های رویشی *اشریشیا کلی*(و باکتری های کلیفرم)	۱۲	۱۸	۳±۵		
آنتروکوکوس	۱۲	۱۸	۳±۵		
کلاستریدیوم پرفرنژنز (سلول های رویشی)	۱۲	۱۸	۳±۵		
هاگ (اسپور) هاگ (اسپور)باکتری های احیاکننده سولفیت (گونه های کلستریدیوم)	۲۴	۷۲	۳±۵		مرگ پس از ۲۴ ساعت در آب خام
ویروس ها باکتریوفاژها	۴۸	۷۲	۳±۵		

ادامهٔ جدول ب-۱

آزمون	حداکثر زمان نگهداری نمونه شامل انتقال (ساعت)		درجهٔ حرارت نگهداری نمونه ^{o}C		توضیحات
	پیشنهادی	قابل قبول	پیشنهادی	قابل قبول	
باکتری های بیماریزای مدفوعی گونه های *سالمونلا* و سایر گونه های *انتروباکتریاسه*	۱۲	۱۸	۵±۳		
انتروویروس ها	۴۸ ۱ ماه	۷۲	۵±۳ -۷۰	-۲۰ دمای محیط	
اووکیست *کریپتوسپوریدیوم*	۲۴	۹۶	۵±۳		
کیست *ژیاردیا*	۲۴	۹۶	۵±۳		
سایر میکروارگانیسم ها سیانوباکتر	۴۸	۷۲	۵±۳		گاهی در مدت چند ساعت لیز شدن اتفاق می افتد
سودوموناس آئروژینوزا	۸	۱۲	محیط	۵±۳	
گونه های لژیونلا	۲۴	۹۶	۵±۳	دمای محیط	

ادامهٔ جدول ب-۱

آزمون	حداکثر زمان نگهداری نمونه شامل انتقال (ساعت)		درجهٔ حرارت نگهداری نمونه ^{o}C		توضیحات
	پیشنهادی	قابل قبول	پیشنهادی	قابل قبول	
آمیب	۴۸	۷۲	۵±۳		
کمپیلوباکترها (گونه های ترموفیل)	۲۴		۳±۲		حساس به اکسیژن است
کل باکتری ها برای اپی فلورسنس	۱ سال		دمای محیط		نمونه ها باید در ویال های عاری از گرد و غبار و پس از افزودن فرمالدئید ٪ ۳ در تاریکی پایدار شود
تخم انگل	۴۸	۷۲ ۱هفته	۵±۳ ۵±۳		نمونه باید در pH =۲ پایدار شود

ICS: 13.060.45 ; 07.100.20

صفحه : ۳۱