

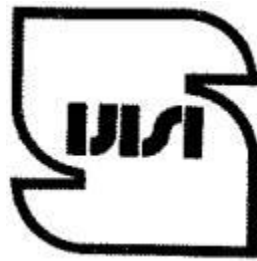


جمهوری اسلامی ایران

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

شماره استاندارد ایران

5271



آب - شمارش میکرو ارگانیزم‌های قابل کشت

آشنایی با موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب قانون، تنها
مرجع رسمی کشور است که عهده دار وظیفه تعیین، تدوین و نشر
استانداردهای ملی (رسمی) می‌باشد.
تدوین استاندارد در رشته‌های مختلف توسط کمیسیون‌های فنی مرکب
از کارشناسان موسسه، صاحب‌نظران مراکز و موسسات علمی،
پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط با موضوع صورت

می‌گیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت‌ها و مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل:

تولید کنندگان، مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمان‌های دولتی باشد. پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع و اعضای کمیسیون‌های فنی مربوط ارسال می‌شود. و پس از دریافت نظرات و پیشنهادهای در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می‌شود.

پیش‌نویس استانداردهایی که توسط موسسات و سازمان‌های علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌شود نیز پس از طرح و بررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ و منتشر می‌گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می‌شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره «5» تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط موسسه تشکیل می‌گردد به تصویب رسیده باشد.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین‌المللی استاندارد می‌باشد که در تدوین استانداردهای ملی ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی استفاده می‌نماید.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش‌بینی شده در قانون به منظور 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 استانداردها را با تصویب شورای عالی استاندارد اجباری نماید. موسسه می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین‌المللی برای محصولات کشور، اجرای استانداردهای کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید.

همچنین به منظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان‌ها و موسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندگان سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه‌ها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، موسسه استاندارد اینگونه سازمان‌ها و موسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط



لازم، گواهی نامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می‌نماید. ترویج سیستم بین‌المللی یکاها، کالیبراسیون وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظائف این موسسه می‌باشد.

کمیسیون استاندارد آب – شمارش میکرو ارگانیزم‌های قابل کشت

<p>رئیس ایمان‌دل - کرامت ا ...</p>	<p>دکتر داروساز - متخصص بهداشت محیط و پاتولوژی بالینی</p>	<p>شرکت آب و فاضلاب استان تهران</p>
--	---	-------------------------------------

اعضاء		
<p>پورمنصور - مهدخت روش طبری - مژده زرسازی - گیتا صدیقی - هما قائمی - نسرین محبعلی - قاسمعلی</p>	<p>پزشک - متخصص علوم آزمایشگاهی فوق لیسانس قارچ شناسی پزشکی لیسانس صنایع لیسانس بیولوژی فوق لیسانس علوم بهداشتی فوق لیسانس میکروشناسی</p>	<p>انستیتو پاستور ایران مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شرکت آب و فاضلاب استان تهران سازمان حفاظت محیط زیست پژوهشکده صنعت نفت</p>

<p>دبیر زندوکلی - فاطمه</p>	<p>فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه</p>	<p>مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران</p>
-------------------------------------	---	--

فهرست مطالب



آب - شمارش میکروارگانیزم‌های قابل کشت

مقدمه

هدف و دامنه کاربرد

مراجع الزامی

اصطلاح و تعریف

اساس کار

محیط‌های کشت و محلول‌های رقیق‌کننده

نمونه‌برداری

روش کار

بیان نتایج

بسمه تعالی

پیشگفتار

استاندارد آب - شمارش میکروارگانیزم‌های قابل کشت به وسیله کمیسیون فنی مربوطه تهیه و تدوین شده و در هفدهمین کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژیکی مورخ 1378/9/28 مورد تأیید قرار گرفته، اینک به استناد بند 1 ماده 3 قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه 1371 به عنوان استاندارد رسمی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدیدنظر خواهد شد و هرگونه پیشنهادی که برای اصلاح یا تکمیل این استانداردها ارائه شود، در هنگام تجدیدنظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین برای مراجع به استانداردهای ملی ایران باید همواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد.

در تهیه و تدوین این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه، در حد امکان بین این استاندارد و استاندارد ملی کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود. منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد به کار رفته به شرح زیر است:

ISO 6222

Water quality - Enumeration of culturable micro - organisms - colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium 1998

آب - شمارش میکروارگانیسم‌های قابل کشت (0 مقدمه)

تمام انواع آب به طور ثابتی حاوی میکروارگانیسم‌های مختلفی است که از طریق منابع گوناگون وارد آب شده است و تخمین تعداد کل آن می‌تواند اطلاعات مفیدی برای ارزیابی و نظارت بر کیفیت آب را بدست دهد. معمولاً میکروارگانیسم‌هایی که تحت شرایط کشت معین قادر به رشد و تشکیل پرگنه روی محیط آگار مغذی در دمای 22 و 36 درجه سلسیوس هستند، شمارش می‌شود. شمارش کلی برای ارزیابی سالم بودن منابع آب زیرزمینی و همچنین مؤثر بودن فرآیند تصفیه آب (مانند: انعقاد، زلال‌سازی و گندزدایی) ضروری است و نشان‌گر تمیز و سالم بودن سیستم توزیع است و همچنین می‌تواند برای ارزیابی کیفیت آب مورد مصرف در فرآیند مواد غذایی و نوشیدنی مورد استفاده قرار گیرد. در صورتی که آب به طور تناوبی و در درازمدت مورد بررسی قرار گیرد، شمارش کلی ارزش زیادی جهت شناسایی تغییرات کیفی آب دارد. هرگونه افزایش در شمارش، زنگ خطری برای آلودگی شدید آب است و باید سریعاً مورد بررسی و تحقیق قرار گیرد.

1 هدف و دامنه کاربرد

این استاندارد با هدف شمارش میکروارگانیسم‌های قابل کشت¹ در آب (از طریق شمارش پرگنه‌های تشکیل شده در محیط کشت آگار مغذی پس از گرم‌خانه‌گذاری در دمای 36 یا 22 درجه سلسیوس) تدوین گردیده و دارای کاربرد عمومی جهت آزمون‌های میکروبیولوژیکی انواع مختلف آب می‌باشد.

2 مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد به آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد محسوب می‌شود. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و / یا تجدیدنظر، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی این مدارک مورد نظر نیست، معه‌ذا بهتر است کاربران ذی‌نفع این استاندارد امکان کاربرد آخرین اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد



بررسی قرار دهند . در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و / یا تجدیدنظر , آخرین چاپ و / یا تجدیدنظر , آن مدارک الزامی ارجاع داده شده , مورد نظر است .
استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است .
استاندارد ملی ایران 4207: سال 1376 - آیین کار آزمون های باکتریولوژیکی آب .
استاندارد ملی ایران 4208: سال 1376 - آیین کار نمونه برداری از آب جهت آزمون های باکتریولوژیکی آب .

3 اصطلاح و تعریف

در این استاندارد واژه با تعریف زیر به کار می رود :
میکروارگانسیم های قابل کشت - منظور کلیه باکتری های هوازی , کپک ها و مخمرها می باشد که قادر به تشکیل پرگنه در سطح یا عمق محیط های کشت خاص تحت شرایط توصیف شده هستند .

4 اساس کار

روش کار بر اساس تلقیح نمونه آب (یا رقت هایی از آن) از طریق مخلوط کردن با محیط کشت آگار مغذی و سپس گرمخانه گذاری یک سری پلیت در دمای 36 درجه سلسیوس به مدت 44 ساعت و سری دیگر در دمای 22 درجه سلسیوس به مدت 68 ساعت می باشد . برای محاسبه تعداد واحدهای تشکیل دهنده پرگنه² در هر میلی لیتر نمونه , تعداد پرگنه های تشکیل شده در سطح یا عمق محیط کشت شمارش می شود .

5 محیط های کشت و محلول های رقیق کننده

- 5-1 - مواد اولیه - برای آماده کردن محیط های کشت , مواد اولیه با کیفیت و درجه خلوص یکسان به کار برده شود . در غیر این صورت از محیط های آماده تجارتي بر طبق دستورالعمل سازنده استفاده شود . برای تهیه محیط های کشت از آب یون زدائی شده³ و تقطیر شده (به وسیله دستگاه های شیشه ای) و همچنین عاری از ترکیبات ممانعت کننده از رشد باکتری ها استفاده شود .
- 5-2 - محلول های رقیق کننده - از محلول های رقیق کننده که در استاندارد ملی ایران به شماره 4207 ((آیین کار آزمون های باکتریولوژیکی آب)) آمده است , استفاده نمایید .
- 5-3 - محیط کشت آگار حاوی عصاره مخمر Yesast extract Agar

مقدار

ترکیبات



6 گرم	تریپتون (پیتون کازئین)
3 گرم	پودر عصاره مخمر
10 - 20 گرم (بسته به قوام ژلی)	آگار
1000 میلی لیتر	آب مقطر

روش تهیه: ترکیبات فوق را پس از مخلوط کردن با استفاده از حرارت در آب حل کنید. در صورت لزوم PH را به گونه‌ای تنظیم کنید که پس از سترون کردن در 25 درجه سلسیوس، معادل $7/2 \pm 0/2$ باشد. محیط را پس از تقسیم در حجم‌های مناسب در دمای 121 ± 3 درجه سلسیوس به مدت 15 ± 1 دقیقه سترون کنید. هنگام استفاده، محیط را ذوب کرده و پس از سرد کردن تا دمای 45 ± 1 درجه سلسیوس تا زمان تقسیم در پلیت در حمام آب گرم نگه دارید.

یادآوری 1 - از نگه داری محیط کشت بیش از 4 ساعت در حمام آب گرم خودداری شود.

6 نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از آب باید بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 4208 ((آیین کار نمونه‌برداری از آب جهت آزمون‌های باکتریولوژیکی انجام شود.))

7 روش کار

7-1 - آماده سازی و تلقیح - آماده سازی نمونه، تهیه رقت و تلقیح محیط کشت باید بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 4207 ((آیین کار آزمون‌های باکتریولوژیکی آب)) انجام شود.

روش پور پلیت⁴ مورد استفاده قرار گیرد و پس از ریختن حجم مورد آزمون (حداکثر 2 میلی لیتر) در پلیت و افزودن 15 - 20 میلی لیتر محیط کشت ذوب شده (بند 4 - 3) به آرامی، در حالت دورانی مخلوط شود. برای هر دما حداقل یک پلیت در نظر گرفته شود.

یادآوری 2 - زمان بین ریختن نمونه در پلیت و افزودن محیط کشت به آن نباید از 15 دقیقه بیشتر شود.

7-2 - گرم‌خانه گذاری و بررسی پلیت‌ها را به صورت وارونه در گرم‌خانه قرار دهید. (یک سری را در دمای 36 ± 2 درجه سلسیوس به مدت 44 ± 4 ساعت و سری دیگر را در دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس به مدت 68 ± 4 ساعت قرار دهید.

(



شمارش پلیت‌ها را بلافاصله پس از خارج کردن از گرم‌خانه انجام دهید. در غیر این صورت پلیت‌ها را می‌توان در دمای 5 ± 3 درجه سلسیوس حداکثر به مدت 48 ساعت نگهداری و شمارش نمود.

7 - 3 - شمارش پرگنه‌ها

پرگنه‌های تشکیل شده در هر پلیت را شمارش کنید. در صورت لزوم از شمارش‌گر و یا ذره‌بین استفاده شود. میانگین تعداد پرگنه‌ها را در هر سری پلیت برای هر رقت بدست آورید. برای هر دو دما بهتر است پلیت‌هایی برای شمارش انتخاب شود که پرگنه‌های آن بین 25 تا 300 عدد در هر پلیت باشد.

8 بیان نتایج

نتایج را تحت تعداد پرگنه‌های تشکیل شده در هر میلی‌لیتر نمونه (در هر دو دما) گزارش کنید. در مورد حجم‌های رقیق نشده در صورتی که هیچ پرگنه‌ای روی پلیت نبود، نتیجه را تحت عنوان غیرقابل تشخیص در هر میلی‌لیتر بیان کنید و در صورتی که تعداد پرگنه‌ها در بالاترین رقت بیش از 300 پرگنه بود نتیجه را به صورت تقریبی و یا بیش از 300 بیان کنید.

Culturable Micro - organisms -1

Colony Forming Unit-2

Deionized-3

Pour Plate-4



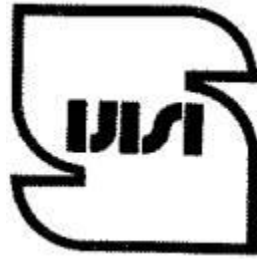
ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN

Institute of Standards and Industrial Research of Iran

ISIRI NUMBER



5271



Water – enumeration of culturable micro organisms