



جمهوری اسلامی ایران

فهرست استانداردها و مشخصات صنعتی ایران

شماره استاندارد ایران

5860



آب- جستجو و شناسایی ژیا ردیا لامبلیا- روش آزمون میکروبیولوژی

چاپ اول

آشنایی با مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مؤسسه 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 رشته های مختلف توسط کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان مؤسسه، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط با موضوع صورت میگیرد. سعی بر این است که استانداردهای ملی، در جهت مطلوبیت ها و مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فنی و فن آوری حاصل از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع شامل: تولیدکنندگان، مصرف کنندگان، بازرگانان، مراکز علمی و تخصصی و نهادها و سازمانهای دولتی باشد. پیش نویس استانداردهای ملی جهت نظرخواهی برای مراجع ذینفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال میشود و پس از دریافت نظرات و پیشنهادات در کمیته ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که توسط مؤسسات و سازمانهای علاقمند و ذیصلاح و با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می شود نیز پس از طرح و بررسی در کمیته ملی مربوط و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی چاپ و منتشر می گردد. بدین ترتیب استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد مندرج در استاندارد ملی شماره ((۵)) تدوین و در کمیته ملی مربوط که توسط مؤسسه تشکیل میگردد به تصویب رسیده باشد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی 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 بین المللی استفاده می نماید.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی 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. مؤسسه می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آنرا اجباری نماید.

همچنین بمنظور اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمانها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی کنندگان سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاهها و کالیبره کنندگان وسایل سنجش، مؤسسه استاندارد اینگونه سازمانها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آنها اعطا نموده و بر عملکرد آنها نظارت می نماید. ترویج سیستم بین المللی یکاها، کالیبراسیون وسایل سنجش تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی از دیگر وظایف این مؤسسه می باشد.

کمیسیون استاندارد آب - جستجو و شناسایی ژیا ردیا لامبلیا - روش آزمون میکروبیولوژی

رئیس	سمت یا نمایندگی
آسمار - مهدی (دکترای انگل شناسی)	هیئت علمی انستیتو پاستور ایران
اعضاء	
اسماعیلی رستاقی - احمد رضا (دکترای انگل شناسی)	هیئت علمی انستیتو پاستور ایران
حیثی - پروین (دکترای دامپزشکی)	آزمایشگاه کنترل غذا و دارو وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
دوچشمه - مهدی (لیسانس بهداشت محیط)	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
زندوکیلی - فاطمه (فوق لیسانس علوم بهداشتی در تغذیه)	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
صدیقی - هما (لیسانس بیولوژی)	شرکت آب و فاضلاب استان تهران
غلامی - میترا (دکترای بهداشت محیط)	دانشگاه علوم پزشکی ایران
قائمی - نسرین (فوق لیسانس بهداشت)	سازمان حفاظت از محیط زیست استان تهران
محبعلی - قاسمعلی (فوق لیسانس میکروب شناسی)	پژوهشگاه صنعت نفت
دبیر	
زرسازی - گیتا (لیسانس صنایع)	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

پیشگفتار

استاندارد آب - جستجو و شناسایی ژیا ردیا لامبلیا - روش میکروبیولوژی که توسط کمیسیون های فنی مربوطه تهیه و تدوین شده و در چهل و چهارمین جلسه کمیته ملی استاندارد میکروبیولوژی مورخ ۸۲/۲/۲ مورد تصویب قرار گرفته است ، اینک به استناد بند ۱ ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه 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 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 مراجعه به استانداردهای ایران باید همواره از آخرین تجدیدنظر آنها استفاده کرد .

در تهیه و تجدیدنظر 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 مأخذ که برای تهیه این استاندارد بکار رفته به شرح زیر است :

1-W.E.F AW.WA A.P.H.A Standard methods for the examination of water and waste water , 1998 .

صفحه	فهرست مندرجات
الف	پیشگفتار
ب	مقدمه
۱	هدف و دامنه کاربرد
۱	مراجع الزامی
۱	اساس روش
۲	نمونه برداری
۲	روشهای آزمون
۵	بیان نتایج و گزارش آزمون

مقدمه

ژیاردیا لامبلیا^۱ تک یاخته ای تاژکدار است که انگل روده انسان و حیوانات می باشد و دارای چرخه زندگی دو مرحله ای کیستی و فرم فعال^۲ بوده که انگل پس از خروج از کیست به فرم فعال آن تبدیل می شود .

باید توجه داشت که بلغ مقادیر کم کیست (۱۰ عدد) نیز ایجاد بیماری مزمن می کند و با علائمی مانند : اختلالات گوارشی ، اسهال و گاهی استفراغ همراه است و در برخی افراد نیز ممکن است بدون علائم باشد . درچنین حالتی فرد مبتلا حامل^۳ بوده و قادر به انتقال بیماری می باشد . آب مصرفی غیربهداشتی یکی از راههای اصلی شیوع و انتقال این انگل می باشد . از آنجائیکه کیست ژیا ردیا در آب با دمای ۸ درجه سلسیوس می تواند تا دو ماه زنده بماند ، همچنین نسبت به روشهای معمول کلریناسیون مقاوم بوده ، (مقاوم تر از کلیفرم ها) ، لذا کاربرد فرآیند صافی ماسه ای تندوکند بویژه نوع کند آن در تصفیه خانه ها منوط به مناسب بودن اندازه مؤثر^۴ و ضریب یکنواختی^۵ راهی مؤثر در حذف آنها می باشد .

آب – جستجو و شناسایی ژیا ردیا لامبلیا – روش آزمون میکروبیولوژی

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد تعیین روش آزمون و شناسایی ژیا ردیا لامبلیا در آب می باشد . این استاندارد برای انواع آبهای آشامیدنی (سطحی و زیرزمینی) ، استخرهای شنا و شناگاهها ، فاضلاب ها و پساب ها کاربرد دارد .

1- Giardia lamblia

2- Trophozoite

3- Carreiar

4 - Effective size (ES)

5- Unifurnith coifitiont (UC)

۲ اساس روش

این روش براساس تغلیظ نمونه های آب و عبور آن از صافی هایی با اندازه روزنه یک میکرون و آماده سازی نمونه ها برای آزمونهای میکروسکوپی می باشد .

۳ 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 می شود. در مورد مراجع دارای تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر ، اصلاحیه ها و تجدیدنظرهای بعدی این مدارک موردنظر نیست . معهدنا بهتر است کاربران ذینفع این استاندارد امکان کاربرد آخرین اصلاحیه ها و تجدیدنظرهای مدارک الزامی زیر را مورد بررسی قرار دهند . در مورد مراجع بدون تاریخ چاپ و/یا تجدیدنظر آن مدارک الزامی ارجاع داده شده موردنظر است .

استفاده از مراجع زیر برای کاربرد این استاندارد الزامی است

استاندارد ملی ایران شماره ۴۲۰۸ سال ۱۳۷۶ (آئین کار نمونه برداری از آب جهت آزمونهای باکتریولوژیکی) .

۴ نمونه برداری

نمونه ها را باید از منابع آب فرآیند نشده و قبل از انجام عمل گندزدائی برداشت نمود و دست کم ۳۸۰ الی ۴۰۰ لیتر نمونه را توسط دستگاه نمونه برداری بند (۱-۶) این استاندارد، از صافی عبور دهید . برای نمونه برداری شلنگ ورودی را به شیر آب موردنظر وصل کنید . شیر را باز نموده و حجم نمونه و زمان نمونه برداری را از روی کنتور یادداشت کنید و سپس شیر را ببندید . جهت جریان آب باید از خارج به داخل گنجایه صافی باشد و همچنین لازم است دهانه شلنگ ورودی در سطحی بالاتر از سطح شلنگ خروجی قرار گیرد تا از برگشت آب جلوگیری شود . آب باقیمانده در دستگاه را بطور

کامل تخلیه نموده سپس صافی را از گنجایه آن جدا کنید و پس از قراردادن در کیسه پلاستیکی دو لایه برچسب خورده همراه با یخ و هرچه سریعتر به آزمایشگاه ارسال نمایید .

یادآوری ۱- توجه داشته باشید که نمونه منجمد نشود .

یادآوری ۲- اجزا دستگاه نمونه برداری فوق نیازی به سترون شدن ندارند اما باید در بین هر نمونه برداری و یا پایان کار کاملاً شستشو و آبکشی شوند . و به منظور جلوگیری از آلودگی های جانبی ، شرایط بهداشتی در حین نمونه برداری مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۴۲۰۸ رعایت شود .

یادآوری ۳- برای نمونه بردای ، فشاری معادل با ۱۰۰ الی ۱۳۰ کیلو پاسکال مناسب می باشد و چنانچه میزان فشار فوق کافی نباشد ، آب را توسط پمپ از صافی عبور دهید .

۵ مواد لازم

- ۱-۵ محلول فرم آلدئید ۳۷ درصد
- ۲-۵ محلول یددار لوگل (به نسبت یک به پنج با محلول سولفات روی با وزن مخصوص ۱/۲ گرم رقیق شود) .
- ۳-۵ محلول سولفات روی با وزن مخصوص ۱/۲ گرم
- ۴-۵ آب مقطر

۶ وسایل لازم

- ۱-۶ دستگاه نمونه برداری شامل: شلنگ ورودی پلاستیکی ، شلنگ خروجی پلاستیکی ، گنجایه نگهدارنده صافی غشایی با اندازه روزنه یک میکرون و طول ۲۵ سانتیمتر از جنس پلی کربنات یا پلی پروپیلن یا اورلون ، پمپ با ظرفیت فشار ۱۰۰ الی ۱۳۰ کیلو پاسکال ، کنتور آب ، جریان سنج آب (وسیله ای برای سنجش جریان آب به میزان خروجی $۱۰^۵ \times ۶/۳$ متر مکعب بر مجذور ثانیه) .

یادآوری ۱ - شکل دستگاه نمونه برداری در پیوست الف می باشد .

یادآوری ۲- الیاف مورد استفاده در صافی باید از جنس مناسب و محکم باشد تا در مراحل کار گسسته نشود .

۶-۲	میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۵۰ الی ۱۰۰۰ برابر
۶-۳	سانتریفوژ قابل تنظیم در دور g ۶۵۰ الی ۶۰۰
۶-۴	دستگاه آب مقطرگیری
۶-۵	تکان دهنده مغناطیسی
۶-۶	وسایل شیشه ای معمول در آزمایشگاه میکروبی

آماده سازی نمونه

۱-۷ استخراج

نمونه آب را از صافی مطابق با بند (۴) این استاندارد عبور دهید . وبا استفاده از چاقوی تیز و ایجاد برش طولی صافی را به دو یا سه قسمت تقسیم کنید و هرکدام از آنها را بطور جداگانه در یک لیتر آب دوبار تقطیر شده غوطه ور نموده و به مدت ده دقیقه تکان دهید. سپس محلولها را با هم مخلوط نمائید . چنانچه ادامه آزمون در همان روز امکان پذیر نباشد ، به نمونه فوق محلول فرم آلدئید ۳۷ درصد و حجم مساوی با نمونه به گونه ای اضافه کنید تا غلظت نهایی محلول فرم آلدئید به میزان دو درصد حجم به حجم شود . سپس محلول بدست آمده را تا انجام مرحله بعدی در یخچال نگهداری کنید .

۲-۷ تغلیظ (تهیه رسوب)

۱-۲-۷ عصاره تهیه شده در بند (۷-۱) را می توانید یک شب در یخچال نگهداری کنید تا ایجاد رسوب کندویا با استفاده از سانتریفوژ در دور g ۶۰۰ به مدت ۵ دقیقه آن را رسوب دهید . سپس مایع رویی را به کمک مکش و یا کج نمودن دور ریخته و به رسوب زیرین محلول فرم آلدئید دو درصد به نسبت مساوی (یک به یک) ریخته و مخلوط کنید .

۲-۲-۷ چنانچه مقدار رسوب حدوداً یک میلی لیتر باشد ، مطابق با بند (۷-۲-۱) عمل کنید .

۳-۲-۷ چنانچه مقدار رسوب کم تر از یک میلی لیتر باشد ، دوباره آن را در ۱۰ میلی لیتر محلول فرم آلدئید دو درصد به صورت تعلیق در آورده و در دوره ۶۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نمائید . سپس مایع رویی را دور ریخته و رسوب آن را بررسی کنید .

۴-۲-۷ چنانچه مقدار رسوب حدوداً بیشتر از یک میلی لیتر باشد ، دوباره آن را در مایع رویی خود مخلوط نموده و حجمی از محتویات لوله را که دارای تقریباً یک میلی لیتر از رسوب باشد ، به یک لوله آزمایش ۱۵ میلی لیتری انتقال دهید و آن را در دور ۶۰۰g به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ نمائید . سپس مایع رویی را دور ریخته و رسوب را بررسی کنید .

۸ روش اجرای آزمون

۱-۸ آماده سازی

به رسوب بدست آمده در بند (۲-۷) دوالی سه قطره محلول یددار لوگل مطابق بابتند (۲-۵) اضافه نموده و به کمک همزن شیشه ای مخلوط کنید . سپس ۵ میلی لیتر محلول سولفات روی به آن افزوده به گونه ای که از لوله سرریز نشود و محتویات آن را پس از مخلوط نمودن ، در دور ۶۵۰g به مدت سه دقیقه سانتریفوژ نمائید .

۲-۸ تهیه لام

یک لام تمیز به ابعاد ۲۲ × ۲۲ میلی متر را بر روی سطح لوله آماده شده در بند (۱-۸) قرار دهید به گونه ای که لامل با مایع داخل لوله در تماس مستقیم باشد و در این حالت دو الی سه دقیقه ساکن بماند . سپس با دقت و به آرامی لامل را از لبه آن برداشته و بر روی یک لام قرار دهید .

۳-۸ بررسی میکروسکوپی

با استفاده از میکروسکوپ زمینه تاریک یا میکروسکوپ نوری وبا بزرگنمایی ۴۵۰ الی ۱۰۰۰ برابر ، تمام سطح لام را بررسی کنید . کیست های ژیا ردیا بیضی شکل و دارای جدار شفاف کاملاً مشخص بوده که اندازه آن بین ۸ تا ۱۹ میکرومتر است . هرگونه مشخصات ریخت شناسی^۱ داخلی را که مشاهده

1- Morphology

می کنید گزارش نمائید (پیوست ب را ببینید) و چنانچه میکروسکوپ مجهز به عسکبرداری در دسترس باشد , عکس ها در ارائه مستندات مفید خواهد بود .

بیان نتایج و گزارش آزمون

نتایج آزمون را بصورت وجود یا عدم وجود کیست ژیا ردیا لامبلیا در حجم مشخصی از نمونه بیان کنید .

یادآوری - چنانچه نتیجه آزمایش منفی باشد , بهتر است که مراحل اجرای کار مجدداً و به همان روش تکرار شود .

دستگاه نمونه برداری از آب جهت شناسایی ژیا ردیا لامبلیا
پیوست الف

اشکال میکروسکوپی کیست و تروفوزوئیت ژیا ردیا لامبلیا
پیوست ب

شکل ۱- تروفوزوئیت ژیا ردیا لامبلیا

شکل ۲- کیست ژیا ردیا لامبلیا



ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN

Institute of Standards and Industrial Research of Iran

ISIRI NUMBER

5860



**Water microbiology – Detection and enumeration of
giardia lamblia – Microbiological test method**

1st. Revision