



جمهوری اسلامی ایران

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

مشماره 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، صاحبان نظران 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 اعضاء 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 مصرف‌کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست‌محیطی 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 استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری نماید.

همچنین به منظور اطمینان بخشیدن به استفاده‌کنندگان از خدمات سازمان‌ها و موسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و گواهی‌کنندگان سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و کالیبره‌کنندگان وسایل سنجش، موسسه استاندارد اینگونه سازمان‌ها و موسسات را بر اساس ضوابط نظام تائید صلاحیت ایران مورد ارزیابی قرار داده و در صورت احراز شرایط لازم، گواهی نامه تائید 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 ارگانسیم‌های قابل کشت

رئیس

ایمان‌دل -	دکتر داروساز -	شرکت آب و فاضلاب استان تهران
کرامت ا ...	متخصص بهداشت	
	محیط و پاتولوژی بالینی	

اعضاء

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

دبیر

زندوکیلی -	فوق لیسانس علوم	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
فاطمه	بهداشتی در تغذیه	

فهرست مطالب

آب - شمارش میکروارگانیزم‌های قابل کشت

مقدمه

هدف و دامنه کاربرد

مراجع الزامی

اصطلاح و تعریف

اساس کار

محیطهای کشت و محلول‌های رقیق کننده

نمونه برداری

روش کار

بیان نتایج

بسمه تعالی

پیشگفتار

استاندارد آب - شمارش میکروارگانیسم‌های 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 مراجعه 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 میکروارگانسیم‌های قابل کشت

0 مقدمه

تمام انواع آب به طور ثابتی حاوی میکروارگانسیم‌های 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 میکروارگانسیم‌هایی 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 گندزدائی) 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 شناسائی 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 میکروارگانسیم‌های قابل کشت¹ در آب (از طریق شمارش پرگنه‌های تشکیل شده در محیط کشت آگار مغذی پس از گرم‌خانه گذاری 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 ذی نفع 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 آزمون‌های
باکتریولوژیکی آب.

استاندارد ملی ایران 4208: سال 1376 - آیین کار
نمونه‌برداری از آب جهت آزمون‌های باکتریولوژیکی آب.

3 اصطلاح و تعریف

در این استاندارد واژه با تعریف زیر به کار می‌رود:
میکروارگانیزم‌های قابل کشت - منظور کلیه باکتری‌های
هوازی، کپک‌ها و مخمرها می‌باشد که قادر به تشکیل پرگنه در
سطح یا عمق محیط‌های کشت خاص تحت شرایط توصیف شده
هستند.

4 اساس کار

روش کار براساس تلقیح نمونه آب (یا رقت‌هایی 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 می‌باشد . برای محاسبه تعداد واحدهای تشکیل دهنده پرگنه² در هر میلی‌لیتر نمونه ، تعداد پرگنه‌های تشکیل شده در سطح یا عمق محیط کشت شمارش می‌شود .

5 محیطهای کشت و محلول‌های رقیق کننده

5-1 - مواد اولیه - برای آماده کردن محیطهای کشت ، مواد اولیه با کیفیت و درجه خلوص یکسان به کار برده شود . در غیر این صورت از محیطهای آماده تجارتي بر طبق دستورالعمل سازنده استفاده شود . برای تهیه محیطهای کشت از آب یون‌زدائی شده³ و تقطیر شده (به وسیله دستگاه‌های شیشه‌ای) و همچنین عاری از ترکیبات ممانعت کننده از رشد باکتری‌ها استفاده شود .

5-2 - محلول‌های رقیق کننده - از محلول‌های رقیق کننده که در استاندارد ملی ایران به شماره 4207 ((آیین کار آزمون‌های باکتریولوژیکی آب)) آمده است ، استفاده نمایید .

5-3 - محیط کشت آگار حاوی عصاره مخمر Yesast
extract Agar

<u>مقدار</u>	<u>ترکیبات</u>
6 گرم	تریپتون (پپتون کازئین)
3 گرم	پودر عصاره مخمر
20 - 10 گرم (بسته به قوام ژلی)	آگار
1000 میلی‌لیتر	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 نمونه برداری

نمونه برداری از آب باید بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 4208 ((آیین کار نمونه برداری 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 پورپلیت⁴ مورد استفاده قرار گیرد و پس از ریختن حجم مورد آزمون (حداکثر 2 میلی لیتر) در پلیت و افزودن 20 - 15 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 نگاه‌داری 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