

راهنمای ارزیابی الزامات تضمین کیفیت نتایج در آزمایشگاه های بهداشت محیط

بخش دوم : آزمایشگاه میکروبی



راهنمای ارزیابی الزامات تضمین کیفیت نتایج در آزمایشگاه های بهداشت محیط

بخش دوم : آزمایشگاه میکروبی

معاونت بهداشت

مرکز سلامت محیط و کار

بهمن ۱۴۰۰

تهیه کننده :

مهندس غلامرضا شفاقی

مهندس اقدس خیری

فهرست

١	مقدمه
٢	فصل اول: نیروی انسانی
٣	فصل ٢: محیط آزمایشگاه
٣	فصل ٣: تجهیزات آزمایشگاه
١١	فصل ٤: روش های کلی / عمومی آزمایشگاهی / ایمنی آزمایشگاه
١٤	فصل ٥: روش آزمایش
١٩	فصل ٦: شمارش باکتری های هتروتروف
١٩	فصل ٧: جمع آوری ، حمل و نقل و نگه داری نمونه
٢١	فصل ٨: تضمین کیفیت
٢٢	فصل ٩: ثبت و گزارش داده
٢٥	پیوست ١:
٤٧	مراجع:

مقدمه

به استناد بند ۲ ماده یک قانون تشکیلات و وظایف وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، وظیفه وزارت بهداشت "تامین بهداشت عمومی و ارتقاء سطح آن از طریق اجراء برنامه های بهداشتی مخصوصا" در زمینه بهداشت محیط، کنترل و نظارت بر سموم و مواد شیمیایی" است و براساس بندهای ۱۱ و ۱۶ این قانون به ترتیب تعیین و اعلام استانداردهای مربوط به خدمات بهداشتی، درمانی، بهزیستی و مواد دارویی، آزمایشگاهی، همچنین تعیین ضوابط مربوط به ارزیابی، نظارت و کنترل بر برنامه ها، خدمات واحدها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی، بهداشتی، درمانی و بهزیستی و انجام این امور براساس استانداردهای مربوطه برعهده وزارت بهداشت می باشد.

بر اساس تبصره ۳ ماده ۳ آیین نامه بهداشت مصوب هیات وزیران، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی به منظور کنترل آب آشامیدنی عمومی در مراحل مختلف توزیع، آزمایشگاه های مراکز بهداشت استان و شهرستان و مراکز بهداشتی - درمانی را برای ارائه خدمات در این زمینه تجهیز می نماید.

نتایج آزمایشگاهی نقش مهمی در انجام وظایف نظارتی، برنامه ریزی و انجام اقدام های اصلاحی دارد و چه بسی در صورت بروز خطا های قابل توجه در نتایج آزمایشگاهی باعث تضعیف منابع و حقوق مردم گردد. این دستورعمل در راستای اجرای سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه های بهداشت محیط و ارزیابی تضمین کیفیت نتایج آزمایشگاهی تهیه شده است.

فصل اول: نیروی انسانی

۱-۱: مدیر فنی/ کارشناس مسئول آزمایشگاه:^۱

کارشناس مسئول آزمایشگاه با مدرک کارشناسی در رشته بهداشت محیط / میکروبیولوژی/علوم آزمایشگاهی دارای سابقه کار ۵ سال، کارشناسی ارشد ۲ سال و دکتری ۱ سال باشد و در صورت نبود فرد واجد شرایط با مشخصات پیش گفت لازم است فرد مورد نظر گواهی نامه معتبر آموزشی آزمایشگاه میکروبی را از مراجع مورد تایید وزارت بهداشت کسب نماید.^۲ کارشناس مسئول آزمایشگاه بایستی اطمینان حاصل کند که همه پرسنل آزمایشگاه توانایی لازم برای انجام وظایف شان را دارند و ضمن نظارت بر آنها مسئولیت تایید تمام آزمایش های انجام شده را بر عهده دارد. اگر آزمایشگاه در حوزه های مختلف مانند آزمایش های میکروبی فعالیت می کند نیاز به معرفی کارشناس مسئول/ مدیر فنی جداگانه برای هر بخش می باشد.

۱-۲: کارشناس آزمایشگاه:

کارشناس آزمایشگاه باید دارای حداقل مدرک کارشناسی در رشته بهداشت محیط/ میکروبیولوژی/علوم آزمایشگاهی باشد و حداقل یک سال سابقه کار در آزمایشگاه داشته باشد و اگر سابقه کار نداشته باشد باید گواهی نامه معتبر آزمایشگاه میکروبی را از مراجع مورد تایید وزارت بهداشت کسب نماید. اگر کارشناس مسئول کار و بهره برداری تجهیزات آنالیز می باشد بایستی آموزش کار با تجهیزات را توسط نماینده آن تجهیزات یا توسط یک کارشناس با تجربه در آن تجهیزات را دریافت نماید و تمام اطلاعات و نتایج آزمایش در هنگام آموزش، لازم است توسط کارشناس باتجربه تایید شود. مدت زمان گذراندن این دوره باید متناسب با تسلط کامل کاری بادرستگاه باشد و بررسی صحت این موضوع با مدیر فنی/ کارشناس مسئول آزمایشگاه می باشد.

^۱ در شهرستان هایی که فقط یک نفر در آزمایشگاه فعالیت می کند، مدیر فنی / کارشناس مسئول می تواند به عنوان کارشناس آزمایشگاه نیز محسوب شود.

^۲مراجع معتبر توسط مرکز سلامت محیط و کار وزارت بهداشت اعلام می شود.

۳-۱: آموزش:

مدارک آموزشی پرسنل باید نگهداری شوند. این سوابق شامل مدرک تحصیلی و آموزشی های مرتبط با شغل و مسئولیت آنها می باشد. آموزشها و دوره های مرتبط می تواند شامل روش های آزمون، ایمنی در آزمایشگاه، نمونه برداری، دوره تضمین کیفیت و تجربه و تحلیل داده ها باشند.

فصل ۲: محیط آزمایشگاه

محیط آزمایشگاه باید تمیز، دارای دما و رطوبت کنترل شده و نور کافی در قسمت بالای سکوها و میزهای آزمایش باشد. آزمایشگاه باید فضا را برای آزمایش های مختلف (دارای روش مختلف) تفکیک نماید و مطمئن شود که آلودگی بر کیفیت نتایج آزمایشها اثر منفی ندارد. سکوهای آزمایشگاهی باید از موادی ساخته شده باشد که قابل نظافت و ضد عفونی کردن باشد.

محیط آزمایشگاه باید دارای فضای کافی برای آزمایش بر روی نمونه ها، فضای ذخیره سازی، قرارگیری ظروف شیشه ای و تجهیزات قابل حمل، تجهیزات ثابت آزمایشگاهی، حمام آب و یخچال و غیره و محلی برای شستن ظروف شیشه ای و استریل کردن داشته باشد. همچنین باید قسمتی برای دفع پسماند های میکروبی نیز داشته باشد.

فصل ۳: تجهیزات آزمایشگاه

آزمایشگاه باید دارای دستگاه و تجهیزات لازم و متناسب با روش های آزمایش به کار رفته در آزمایشگاه باشد.

۳-۱: pH متر:

دقت و مقدار خطای قابل پذیرش در این دستگاه حدود $\pm 0,1$ می باشد. از هر محلول بافر یک بار استفاده شود. الکترودهای دستگاه باید براساس دستورعمل شرکت سازنده نگه داری شوند.

قبل از هر بار استفاده باید دستگاه با بافر های استاندارد آن در pH های ۴، ۷، ۱۰ استاندارد گردد به نحوی که محدوده استفاده شده pH مورد نظر را برای محیط کشت یا معرف پوشش دهد. تاریخ و بافرهای استفاده شده در

دفتری همراه با حروف اول نام و نام خانوادگی فرد آزمایش کننده ثبت شوند. شیب دستگاه pH متر بصورت ماهیانه بعد از کالیبراسیون ثبت شود.

اگر دستگاه امکان محاسبه شیب pH را به طور خودکار ندارد ولی می تواند pH را در میلی ولت نشان دهد، شیب از طریق فرمول زیر محاسبه می شود:

$$\text{Slope (as \%)} = \frac{\text{mV at pH 7} - \text{mV at pH 4}}{3} \times 100/177$$

اگر شیب زیر ۹۵٪ یا بیشتر از ۱۰۵٪ باشد، ممکن است نیاز به تعمیر دستگاه یا الکترودها باشد. به دستورعمل شرکت سازنده برای تعمیر الکترود و تمیز کردن کلی دستگاه توجه شود. بافرهایی که تاریخ انقضاء آنها گذشته است، نبایستی استفاده شود.

۲-۳: ترازوها:

ترازوها باید قابلیت قرائت تا ۰,۱ گرم را داشته باشند. ترازوها باید برای وزنه ۱۵۰ گرمی حداقل ۰,۱ گرم و برای وزنه ۱۰ گرمی حداقل ۱ میلی گرم یا کمتر حساسیت داشته باشند.

برای کنترل کیفی ترازوها باید آن ها بصورت ماهیانه با استفاده از وزنه های استاندارد و مرجع ASTM ، کلاس ۱ ، ۲ یا ۳ کالیبره شوند. (حداقل سه بار توزین با وزنه های مرجع و استاندارد آزمایشگاهی با دقت قرائت تا ۰,۱ گرم) و وزنه های غیر مرجع باید هر شش ماه یکبار با وزنه های مرجع کالیبره شوند. اطلاعات کالیبراسیون و مقادیر اصلاح شده وزنه ها باید در دفتر ثبت و نگهداری شود. وزنه های مرجع باید هر پنج سال مجدداً تأیید شوند. وزنه های آسید دیده یا خورده شده، باید عوض شوند. دستورعمل های نگهداری و سوابق آن باید در دسترس باشد. نگهداری، کالیبراسیون و نظافت وزنه ها باید حداقل بصورت سالیانه توسط شرکت یا تکنسین آموزش دیده مستقل انجام شود. وقتی یک آزمایشگاه از نظر مکانی در حال جابه جا شدن باشد و بررسی سالانه امکان نداشته باشد، می تواند زمان آن را تغییر دهد.

۳-۳: دماسنج ها:

دماسنج های شیشه ای، صفحه ای یا الکترونیکی با درجه بندی ۰,۵ درجه سانتی گراد یا کمتر درجه بندی داشته باشند. (دماسنج هایی با درجه بندی ۰,۲ درجه سانتیگراد برای آزمایش هایی که در دمای ۴۴,۵ درجه سانتی گراد انکوباسیون می شوند لازم است) بجز آون های با هوای داغ و یخچال ها.

ستون مایع دماسنج های شیشه ای نباید جدا شوند. از دماسنج های شماره ای که کالیبره نمی شوند هم نباید استفاده شود.

کالیبراسیون دما سنج های شیشه ای و الکترونیکی باید بطور سالانه و دما سنج های شماره ای بصورت فصلی براساس دماهای استفاده شده با دماسنج های مرجع انجام شود.

فاکتور کالیبراسیون و تاریخ کالیبراسیون باید در دماسنج نشان داده شود و اطلاعات زیر در یک دفترچه کنترل کیفیت ثبت شود:

- شماره سریال دماسنج

- شماره سریال دماسنج مرجع

- دمای دماسنج

- دمای دماسنج مرجع

- فاکتور اصلاح (یا کالیبراسیون)

- تاریخ کالیبراسیون

- حروف اول نام و نام خانوادگی فرد کالیبره کننده

اگر تفاوت دمایی یک دما سنج آزمایشگاهی با یک دما سنج مرجع بیش از ۱ درجه سانتیگراد باشد ، ناپایداری آن دماسنج استفاده کرد.

دما سنج های مرجع باید حداقل هر پنج سال یکبار کالیبره شوند. مستندات کالیبراسیون دما سنج مرجع باید نگهداری شود.

دماسنج هایی که به طور مداوم برای پایش دمای انکوباتور استفاده می شوند، لازم است حداقل سالی یک بار مجدداً با دماسنج های مرجع کالیبره شوند.

۳-۴: انکوباتور:

دستگاه انکوباتور باید یک دستگاه پایش دمای داخلی داشته باشد، دمای استفاده شده در روش آزمایش معمولاً در 35 ± 0.5 درجه سانتیگراد و 44.5 ± 0.2 درجه سانتیگراد باید باشد. در داخل انکوباتور ها در طبقات بالا، پایین و داخل مایع طبق دستور شرکت سازنده دماسنج قرار داده شود. (غیر از دماسنج های الکترونیکی)

دمای تصحیح شده کالیبراسیون برای هر دماسنجی بصورت معمول دوبار در روز برای انکوباتورهای در حال استفاده، با فواصل حداقل ۴ ساعت یکبار ثبت شود. مستند سازی شامل تاریخ و ساعت قرائت دما، دمای اندازه گیری شده و حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس آزمایشگاه باشد.

دمای انکوباتور 44.5 ± 0.2 درجه سانتیگراد را می توان با گردش جریان یک حمام آبی و پوشاندن آن (gable cover) حفظ نمود.

۳-۵: اتوکلاو:

اتوکلاو باید دارای منبع گرمای داخلی، دماسنج سنسور دار در خروجی، اندازه گیری فشار و یک سوپاپ ایمنی بهره برداری باشد. اتوکلاو بایستی در حین عملیات استریل کردن، دمای استریلیزاسیون را در طول چرخه استریلیزاسیون حفظ کند (زمان بین شروع به کار اتوکلاو تا پایان آن و خارج کردن موارد استریل شده) و کل چرخه را در مدت ۴۵ دقیقه و هنگامی که زمان استریلیزاسیون بین ۱۵-۱۲ دقیقه است، کامل کند. فشار اتوکلاو باید به آرامی تخلیه شود تا محیط های کشت نجو شدند و حباب در لوله های وارونه (دورهام) تشکیل نشود. به دلیل رعایت ایمنی و مشکلات بهره برداری نباید از زودپز استفاده شود.

تاریخ، فهرست موارد استریلیزاسیون، زمان و دمای استریلیزاسیون، کل زمان اتوکلاو و حروف اول نام و نام خانوادگی آزمایشگر بایستی برای هر بار استفاده ثبت شود. سوابق قرارداد سرویس، یا دستورعمل بهره برداری

داخلی و مستندات بهره برداری بایستی نگهداری شوند. نگهداری و سرویس حداقل سالیانه برنامه ریزی شود و مدارک آخرین سرویس انجام شده در پرونده برای بازرسی نگهداری شود.

دماسنج ثبت کننده دمای حداکثر، نشانگر الکترونیکی دمای دستگاه، یا دستگاه ثبت کننده مداوم دما بایستی در هر چرخه اتوکلاو برای اطمینان از رسیدن به دمای مناسب برای استریلیزاسیون استفاده شده و دما ثبت شود. از شلوغ کردن بیش از اندازه اتوکلاو و خارج از ظرفیت آن بایستی پرهیز کنیم. نوار یا آمپول های اسپور بعنوان شاخص های بیولوژیکی عملکرد استریلیزاسیون باید بصورت ماهیانه استفاده شود. (از آنجایی که شاخص های شیمیایی با طیف گسترده ای از دماها و زمان ها مانند: زمان بیشتر در دمای کمتر یا زمان کمتر در دمای بیشتر پاسخ می دهند، لزوما نتیجه مثبت شاخص به معنی انجام استریلیزاسیون نیست.)

مکانیسم های زمان بندی خودکار برای هر سه ماه یکبار با یک کرومومتر یا یک ساعت یا زمان سنج دقیق دیگری بررسی و نتایج آن ثبت و نگهداری شود. درب غیر قابل نفوذ اتوکلاو بایستی تمیز و عاری از آلودگی توسط محیط کشت باشد. همچنین صفحات زهکش داخل اتوکلاو بایستی به طور مرتب از آلودگی های ناشی از محیط کشت و آشغال تمیز شود.

۳-۶: آون:

آون باید حداقل دمای استریلیزاسیون پایدار ۱۷۰ تا ۱۸۰ درجه سانتی گراد را حداقل برای دو ساعت حفظ کند. از شلوغ کردن بیش از اندازه و خارج از ظرفیت آن بایستی پرهیز نمود. دماسنج آون باید درجه بندی ۱۰ درجه سانتی گراد یا کمتر داشته و حباب آن در مدت استفاده داخل شن باشد.

مستنداتی مانند تاریخ، محتوی، زمان و دمای استریلیزاسیون و حروف اول نام و نام خانوادگی آزمایش کننده ثبت شوند. از نوارهای اسپور برای تایید استریلیزاسیون به صورت ماهیانه استفاده شود. آمپول ها برای هوای داغ آون توصیه نمی شوند زیرا که ممکن است منفجر یا ذوب شوند.

۳-۷: کلنی کانتر:

برای شمارش کلنی های باکتری های هتروتروف (HPC³) از دستگاه کلنی کانتر با زمینه سیاه استفاده می شود.

۳-۸: هدایت سنج:

هدایت سنج ها بایستی بتوانند هدایت الکتریکی آب را در واحد micromhos/cm یا microsiemens/cm قرائت نموده و مناسب برای تعیین درجه شوری آب مورد آزمایش باشد. کالیبراسیون بایستی حداقل بصورت ماهانه انجام گیرد. به توصیه های شرکت سازنده توجه شود. از استاندارد مقادیر پایین و تایید شده مناسب استفاده کنید. اگر دستگاه با یک استاندارد تجاری نمی تواند کالیبره شود، عدد ثابت سل دستگاه بایستی با زمان تناوب ماهانه با روش استاندارد آزمایش هدایت الکتریکی تعیین شود. اگر هنگام استفاده نتوانیم کالیبره کنیم، نبایستی از آن دستگاه استفاده نمود.

۳-۹: یخچال ها:

یخچال ها باید در دمای ۱ تا ۵ درجه سانتی گراد نگهداری شوند. دماسنج های کالیبره شده با درجه بندی یک درجه سانتی گراد در حالی که قسمت حبابی آن در مایع غوطه ور است، برای کالیبراسیون استفاده شوند. برای کنترل کیفی یخچال در روزهای کاری باید دمای اصلاح شده کالیبراسیون یخچال، حداقل یک بار در روز ثبت شود.

۳-۱۰: وسایل مورد استفاده در کشت :

پی پت ها استریل پلاستیکی یکبار مصرف، سواب های استریل، حلقه های فلزی استریل یا پلاستیکی یکبار مصرف، نوارهای چوبی بایستی برای آزمایش استفاده شوند. وسایل چوبی بایستی با حرارت خشک استریل شوند. حلقه ها یا سوزن هایی که برای تلقیح استفاده می شوند، بایستی از جنس نیکل یا پلاتینیوم باشند. (جهت انجام آزمون اکسیداز نبایستی از حلقه با آلیاژ نیکل استفاده شود چون باعث ایجاد تداخل در آزمایش می شود).

³ Heterotrophic Plate count

۳-۱۱: ممبران فیلتر: (اگر از این روش استفاده می شود)

ممبران فیلتر باید از جنس استیل، شیشه، ظروف چینی یا پلاستیک با قابلیت اتوکلاو کردن باشد. دارای خراشیدگی، خوردگی یا نشت نیز نباشند.

در صورتی که از ظروف شیشه ای شفاف یا قیف پلاستیکی برای اندازه گیری نمونه استفاده می شود باید دقت اندازه گیری با استفاده از استوانه یا ظروف شیشه ای مدرج کلاس B بررسی و نتیجه ثبت شود. برای شمارش کلنی های هدف، از میکروسکوپ استریو X ۱۰ تا X ۱۵ با منبع نوری فلورسنت بایستی استفاده شود.

فیلترهای غشایی بایستی توسط شرکت سازنده برای آزمایش توتال کلی فرم مورد تایید قرار گیرند. اساس تایید بر اساس آزمایش های صورت گرفته برای سمیت، ماندگاری و عدم وجود مواد مانع رشد می باشند. فیلترها باید بصورت مشبک با منافذ ۰,۴۵ میکرون و با قطر ۴۷ میلی متر باشد و اگر اندازه منافذ فرق دارد، بایستی عملکرد برابر یا بهتر از سایز ۰,۴۵ میکرون توسط سازنده ارائه شود. فیلترها باید سفید و جنس آن هم از سلولز استر باشد. پد و فیلترهای غشایی بایستی به صورت استریل شده خریداری شوند یا قبل از استفاده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد در اتوکلاو استریل شوند.

سری ساخت و تاریخ دریافت آن ها ثبت شود. اطمینان حاصل شود که فیلترها شکسته یا مخدوش نباشند و مشخصات سازنده و تاییدیه های آن روی آن درج شده باشند. فورسپس ها(پنس ها) برای برداشتن صافی ها باید دارای نوک کاملاً صاف و بدون شیار باشند.

۳-۱۲: ظروف کشت (درهای محکم یا شل):

باید از ظروف شیشه ای یا پلاستیک مقاوم برای استریلیزاسیون استفاده شود. برای نگهداری استریلیزاسیون ظروف شیشه ای، از ظروف سیلندری استیل یا آلومینیوم استفاده شده یا با یک ورقه فویل آلومینیومی یا کاغذی نسوز مقاوم بسته بندی می شوند.

ظروف پتری دیش با درهای شل باید در یک ظرف با درب محکم و کاملاً اندازه قرار گیرند. برای روش ممبران فیلتر باید از ظروف کشت با اندازه مناسب استفاده شود تا امکان انتقال فیلتر غشایی به صورت تکی وجود داشته باشد.

۱۳-۳: پی پت ها:

برای استریل کردن پی پت های شیشه ای باید از قوطی های استیل یا آلومینیوم استفاده شود و یا در داخل کاغذهای مقاوم به حرارت یا فویل آلومینیوم پیچیده شوند. پی پت ها مدرج و درجه بندی خوانا داشته باشند. درب قوطی پی پت های استریل بعد از هر بار استفاده باید مجدداً به طور کامل بسته شود. پی پت های با حجم ۱۰ میلی لیتر یا کمتر باید دقت حدود ۲,۵ درصد داشته باشند.

میکرو پی پت های کالیبره شده در صورتی استفاده می شوند که نوک آنها نیز استریل باشد. میکرو پی پت ها باید سالیانه کالیبره شوند و اگر خطای پی پت ها بیش از ۲,۵ درصد باشد، باید تنظیم یا تعویض شوند.

۱۴-۳: ظروف شیشه ای و پلاستیکی:

ظروف شیشه ای مورد استفاده باید از جنس بوروسیلیکات یا شیشه های مقاوم در برابر خوردگی و بدون ترک خوردگی یا شکستگی باشند. با شد. درجه بندی شیشه های استوانه ای و درجه بندی پی پت ها باید خوانا باشد. ظروف پلاستیکی باید شفاف و ناپستی اثر سمی روی میکروارگانیسم ها داشته باشند.

ظروف شیشه ای استوانه ای درجه بندی شده برای اندازه گیری حجم نمونه ها باید دقت در محدوده ۲,۵ درصد داشته باشند. به جای استوانه های مدرج از ظروفی که از قبل کالیبره شده و حجم ها با دقت ۲,۵ درصد علامت گذاری شده اند، می توان استفاده کرد.

لوله ها و ظروف حاوی محیط تخمیری باید اندازه کافی برای ریختن محیط کشت و نمونه به نحوی که بیش از ۳/۴ ظرفیت را پر نکنند، داشته باشند. درب لوله ها باید از استیل ضد زنگ، پلاستیک، آلومینیوم، درپوش های پیچ دار با پوشش غیر سمی باشد. از پنبه یا فوم استفاده نشود.

۱۵-۳: ظروف نمونه برداری:

ظروف نمونه برداری باید بطری های پلاستیک یا شیشه ای غیر خورنده با دهانه گشاد با درپوشی بدون نشتی و پوشش غیر سمی بوده و قابلیت استریلیزاسیون به دفعات را داشته و یا از کیسه های پلاستیکی استریل شده حاوی تیوسولفات سدیم استفاده شود. از ظروف نمونه برداری مناسب دیگر هم می توان استفاده کرد. ظرفیت ظروف نمونه برداری بایستی حداقل ۱۲۰ میلی لیتر باشد که حداقل ۲,۵ سانتی متر از فضای خالی تا سر آن داشته باشد.

درپوش شیشه ای با فویل آلومینیومی یا کاغذ مقاوم به حرارت برای استریلیزاسیون پوشانده شود. بطری های پلاستیکی یا شیشه ای که قبلا استریل نشده اند، بایستی بوسیله اتوکلاو استریل شوند. بطری های شیشه ای می توانند به وسیله حرارت خشک نیز استریلیزه شوند. ظروف خالی بایستی به وسیله چند قطره از آب قبل از اتوکلاو شدن مرطوب شوند تا از عدم موفقیت در استریلیزاسیون پیشگیری شود.

(Airlock sterilization failure)

اگر آب کلرینه شده آزمایش می گردد، مقدار کافی تیوسولفات سدیم به بطری نمونه برداری قبل از استریلیزاسیون برای خنثی کردن کلر آزاد باقیمانده در نمونه آب اضافه شود.

فصل ۴: روش های کلی / عمومی آزمایشگاهی / ایمنی آزمایشگاه

اگرچه شاخص و معیارهای ایمنی در تایید کردن یک آزمایشگاه لحاظ نشده است اما پرسنل باید از آن اطلاع داشته باشند. هر آزمایشگاه باید یک برنامه ایمنی داشته و یک نسخه از اطلاعات ایمنی مواد و ماده سمی را نگه داری نماید. برای کسب اطلاعات بیشتر به بخش ۱۰۹۰ از کتاب استاندارد متد با عنوان "ایمنی و بهداشت شغلی در آزمایشگاه" و استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۱۴۲ با عنوان "آزمایشگاه های تشخیص طبی - الزامات ایمنی" مراجعه نمایند.

[۲] و [۳]

۱-۴: روش های استریلیزاسیون

دماهای اتوکلاو در ۱۲۱ درجه سانتی گراد مطابق با جدول زیر باشد. غیر از ممبران فیلتر، فیلترها و محیط های حاوی کربو هیدرات، زمان های مشخص شده حداقل زمان اتوکلاو کردن می باشد و می تواند بر اساس حجم ها، ظروف و بار وارده تنظیم شود. محیط های حاوی کربو هیدرات نباید در دمای بالا استریل شوند.

مدت زمان (دقیقه)	موارد
۱۰	فیلترهای غشایی و پدها
۱۵-۱۲ (غیر از مواردی که سازنده محیط کشت توصیه کرده است)	محیط کشت حاوی کربوهیدرات
۳۰ (زمان بستگی به حجم آب هر ظرف و بار وارده به اتوکلاو دارد)	مواد و محیط های آلوده
۱۵	قطعات دستگاه فیلتر غشایی
۱۵	بترهای نمونه برداری
۱۵	ظروف شیشه ای مخصوص
۱۵	آب رقت / رقیق سازی شاهد
۳۰-۱۵ (زمان بستگی به حجم آب هر ظرف و بار وارده به اتوکلاو دارد)	آب شستشو (نیم تا یک لیتر)

۱-۱-۴: فیلترها، ممبران فیلترها و همه محیط های اتوکلاو شده بایستی بلافاصله بعد از اتمام استریلیزاسیون خارج شوند.

۱-۲-۴: تجهیزات ممبران فیلتر باید قبل از شروع یک سری فیلتراسیون اتوکلاو شوند. یک سری فیلتراسیون در مدت ۳۰ دقیقه به پایان می رسد یا زمان بیشتر تا زمانی که یک نمونه فیلتره شود. گاهی اوقات از اشعه ماوراء بنفش (۲۵۴ نانومتر) برای ضد عفونی کردن این تجهیزات برای کاهش بار میکروبی در هنگام حمل و نقل تجهیزات استفاده می شود، (بعد از اتوکلاو اولیه برای استریلیزاسیون).

۲-۴: ظروف نمونه برداری:

برای تاییدیه استریلیزاسیون باید از هر سری بطری های نمونه برداری استریل شده یا سایر ظروف حداقل یک ظرف به عنوان نمونه انتخاب کرد و مقدار ۲۵ میلی لیتر محیط کشت غیر انتخابی براث استریل (بعنوان مثال، تریپتیک سوی،

تریپتیکاز سوی یا تریپتون براث) به شیشه ها افزود و دردمای 35 ± 0.5 درجه سانتی گراد انکوبه کنید. بعد از مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت برای رشد باکتری ها کنترل گردد. نتایج ثبت شود. اگر رشدی در ظروف وجود داشت کل ظروف مجدداً باید استریل شوند.

۳-۴: آب مورد مصرف در واکنش (آب معرف)؛

برای آماده سازی محیط کشت، معرف ها و رقیق سازی برای انجام آزمایش های میکروبی باید از آب معرف واحدهای دیونیزه یا آب مقطر گیری که ویژگی های لازم را دارد، استفاده شود.

کیفیت آب معرف باید دارای مشخصه های جدول ذیل باشد:

تواتر	حدود	پارامتر
ماهانه	>0.5 megohms resistance or <2 micromhos/cm (microsiemens/cm) at 25 C	هدایت الکتریکی
سالانه	Not greater than 0.05 mg/L per contaminant. Collectively, no greater than 0.1 mg/L	Pb, Cd, Cr, Cu, Ni, Zn
ماهانه	<0.1 mg/L	کل کلر باقیمانده (روش DPD)
ماهانه	< 500 CFU/mL	شمارش باکتری های هتروتروف (روش پور پلیت)
سالانه	Ratio of growth rate 0.8 to 3.0	کیفیت باکتریولوژیکی آب معرف (استاندارد متد قسمت 9020.B – ویرایش ۱۸ یا ۱۹)

۴-۴: آب رقیق سازی / شستشو:

⁴ Reagent water

محلول بافر استوک یا آب پپتون، برای تهیه این محلول به استاندارد ملی ایران به شماره ۴۲۰۷ " کیفیت آب- راهنما و الزامات عمومی آزمون های میکروبی با استفاده از روش کشت- راهنما مراجعه نمایید. [۴]

بافرهای استوک بایستی به وسیله اتوکلاو یا صاف کردن استریلیزه شوند و ظروف حاوی آنها بایستی برچسب گذاری و تاریخ آنها ثبت شود. بافر استوک باید در یخچال نگهداری شده و عاری از کدروت باشد.

برای کنترل کیفی باید هر سری آب رقیق سازی تهیه شده یا تجاری را چک کنید با افزودن ۵۰ میلی لیتر از آب به ۵۰ میلی لیتر محیط کشت غیر انتخابی براث با قدرت دو برابر (بعنوان مثال، تریپتیک سوی، تریپتیکاز سوی یا تریپتون براث) دردمای 35 ± 0.5 درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت انکوبه نمایید. نتایج ثبت شود. اگر رشدی در ظروف وجود داشت، کل آن سری استفاده نشود.

فصل ۵: روش آزمایش

برای آزمایش نمونه ها، آزمایشگاه از روش های آزمایش استاندارد های ملی ایران به شماره ۴۲۰۷ با عنوان "کیفیت آب- راهنما و الزامات عمومی آزمون های میکروبی با استفاده از روش کشت- راهنما" و استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷۵۹ با عنوان "جستجو و شمارش کلیفرم ها در آب به روش چند لوله ای" استفاده نماید. [۵]

آزمایشگاه حداقل باید دارای یک روش برای سنجش کل کلی فرم ها و یک روش برای سنجش کلی فرم های گرمپای یا اشیرشیاکلی داشته باشد. همچنین اگر از یک روش برای برخی از آب های آشامینی نمی توان استفاده کرد باید از روش دومی که تایید شده است، استفاده نماید.

نمونه های آب قبل از انجام آزمایش حداقل ۲۵ بار به شدت تکان داده شوند.

اگر از بافر رقیق سازی استفاده می شود، صحت حجم بافر در یک بطری رقیق سازی برای هر سری یا سری ساخت بررسی شود. برای یک حجم ۹۰ یا ۹۹ میلی لیتری، خطا تا ± 2 میلی لیتر قابل قبول است.

حجم نمونه آزمایش شده برای توتال کلی فرم در آب آشامیدنی باید ۱۰۰ میلی لیتر باشد. برای اطمینان از صحت و دقت روش ها و مقایسه بین روش ها، مهم است که آزمایشگاه با دقت اندازه حجم نمونه مورد آزمایش را به دست آورد. بدون توجه به روش های مورد تایید آزمایشگاه برای آزمایش، اطمینان حاصل نمایید که حجم ۱۰۰ میلی لیتر آزمایش شود. آزمایشگاه برای اندازه گیری نمونه از ظروف اندازه گیری استریل و کالیبره شده استفاده نماید. درست نیست که بخشی از نمونه برای دست یابی به حجم مورد نیاز بصورت ضایعات دور ریخته شود زیرا در صورت بروز خطای آزمایشگاهی نیاز به نمونه می شود.

محیط کشت:

استفاده از محیط کشت کم آب یا آماده تجاری به دلیل نگرانی در کنترل کیفیت آزمایش بسیار توصیه می شود. محیط کشت کم آب باید در مکانی سرد و خشک نگه داری شوند و در تاریخ انقضا دور ریخته شوند. محیط کشت خشک کلوخه شده یا تغییر رنگ داده شده باید دور ریخته شود.

برای محیط های آماده شده در آزمایشگاه، تاریخ آماده سازی، نوع محیط و سری ساخت، زمان و درجه استریلیزاسیون، pH نهایی (پس از استریلیزاسیون) و حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس باید ثبت شود. برای محیط کشت آماده تجاری، تاریخ دریافت، نوع محیط کشت، سری ساخت و تایید pH برای هر سری انجام شود. (اگر توسط سازنده یا روش مشخص شده است) محیط کشت باید بعد از تاریخ انقضا دور انداخته شود. هر سری ساخت جدید از محیط کشت تجاری آماده یا خشک شده و هر سری از محیط کشت آماده شده در آزمایشگاه قبل از استفاده برای بررسی استریل شدن از نظر مثبت یا منفی بودن نسبت به آلودگی کنترل شود.

آزمایشگاه های استفاده کننده محیط کشت تجاری آماده شده با ماندگاری بیش از ۹۰ روز، باید کنترل مثبت و منفی بودن محیط کشت را از نظر آلودگی در هر سه ماه انجام دهند به علاوه این کنترل ها و بررسی استریلیزاسیون برای محیط کشت بر روی هر سری محیط کشت جدید باید انجام شود. آزمایشگاه ها باید به انجام آزمون های کنترل با فراوانی بیشتر تشویق شوند.

ارگانیزم های کنترل (توتال کلی فرم، کلی فرم های مدفوعی یا E. coli مناسبند) می توانند در محیط های ذخیره شده ° باشند (به صورت دوره ای برای درجه خلوص بررسی شده است) یا صفحات تجاری آماده که با ارگانیزم آغشته شده است.. نتایج باید ثبت شود. جدول ذیل چند نمونه از محیط های کنترل مثبت و منفی را که در آزمایشگاه ها ممکن است مورد توجه قرار گیرد، نشان می دهد اگر چه سایر محیط های کنترل نیز می تواند قابل قبول است.

Control Cultures for Microbiological Tests

Group	Positive Culture Control ⁹	Negative Culture Control ⁹
Total coliforms	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ¹ <i>Proteus vulgaris</i> ² <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ¹
Fecal coliforms	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> (thermotolerant)	<i>Enterobacter aerogenes</i> ³
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (MUG-positive strain)	<i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> ⁴ (thermotolerant)
Enterococci ⁵	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ⁶ <i>E. coli</i> ⁷ <i>Serratia marcescens</i> ⁸

اگر محیط کشت آماده شده بعد از استریلیزاسیون نگه داری شود، باید در تاریکی و جایی که رطوبت خود را از دست ندهد، مطابق با جدول زیر نگه داری نمود. پلیت های آماده شده می تواند در کیسه های پلاستیکی یا ظروف غیر قابل نفوذ قرار داده شود. برای هر محیط آگار یا براث، هر بسته یا ظرف باید دارای تاریخ آماده سازی محیط کشت یا تاریخ انقضاء باشد. در صورتی که در یخچال نگه داری می شود، باید قبل از استفاده با دمای محیط هم دما شود. پلیت ها یا لوله هایی که رشد یا حباب در آن ها مشخص است باید دور ریخته شوند. محیط کشت مایع باید دور ریخته شود اگر بیش از ۱۰ درصد حجم اولیه آن تبخیر شده باشد.

جدول : حداکثر زمان نگه داری و دما برای محیط کشت آماده شده

⁵ Stock cultures

ظرف	حداکثر دمای نگه داری	حداکثر زمان نگه داری
پلیت های حاوی آگار	۱-۵ درجه سانتی گراد	۲ هفته
براث در لوله ها بطری ها، یا فلاسک های با درهای شل	۱-۳۰ درجه سانتی گراد	۲ هفته
براث در لوله های، بطری ها یا فلاسک های در پیچ دار	۱-۳۰ درجه سانتی گراد	۳ ماه

روش تخمیر چند لوله ای (برای تشخیص توتال کلی فرم ها در آب آشامیدنی و شمارش آن ها در منابع آب)

برای نمونه های آب آشامیدنی: به شکل های مختلفی آزمایش را می توان انجام داد تا زمانی که کل حجم نمونه برای انجام آزمایش ۱۰۰ میلی لیتر باشد.

برای نمونه های منابع آب: آزمایشگاه ها باید حداقل از سه ردیف ۵ لوله ای با رقت های مناسب از منابع آب استفاده کنند. (۰,۰۰۱، ۰,۰۱، ۰,۱)

محیط کشت:

محیط کشت لوریل تریپتوز براث (LTB) (لوریل سولفات براث) باید در آزمون احتمالی و محیط کشت برلیان گرین لاکتوز بیل براث (BGLBB) ۲ درصد در مرحله تاییدی استفاده شود. لاکتوز براث (LB) ممکن است به جای لوریل تریپتوز براث استفاده شود اگر آزمایشگاهی حداقل ۲۵ سری آزمایش موازی را بین این محیط (LB) و محیط (LTB) با استفاده از آب هایی که طبق معمول آزمایش می شوند، انجام دهد، مقایسه این دو محیط نشان می دهد که میزان لوله های کشت داده شده با احتمال مثبت و منفی کاذب برای توتال کلی فرم ها با استفاده از محیط کشت LB کمتر از ۱۰ درصد است. این مقایسه باید مستند شده و سوابق آن نگه داری شود. pH نهایی برای محیط کشت LTB باید $6,8 \pm 0,2$ و برای BGLBB دو درصد $7,2 \pm 0,2$ باشد.

غلظت محیط کشت آزمایش برای جبران ناشی از اضافه نمودن حجم نمونه باید تنظیم شود. ، اگر یک نمونه ۱۰۰ میلی لیتری استفاده شد، لوله دورهام باید با یک اندیکاتور اسیدی (بروموکروزول بنفش رنگ) در داخل لوله قرار گیرد تا حباب های گاز مربوط به لوله های مشکل دار در لوله های دورهام جمع شوند. محیط کشت باید در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد برای ۱۵-۱۲ دقیقه اتوکلاو شود.

محیط کشت استریل در لوله ها باید بررسی شوند تا اطمینان حاصل شود که لوله های دورهام، در صورت استفاده عاری از حباب های هوا باشند.

بعد از تلقیح محیط کشت، باید آن ها در دمای 35 ± 0.5 درجه سانتی گراد به مدت 24 ± 2 ساعت انکوبه شوند. اگر گاز یا اسید ایجاد نشده باشد، باید برای ۲۴ ساعت دیگر عمل انکوباسیون انجام شود (کل زمان انکوباسیون 48 ± 3 ساعت). بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت لوله های حاوی رشد، اسید یا گاز را باید با استفاده از محیط کشت BGLBB دو درصد تایید شوند. یک آزمایش تکمیل شده لازم نیست.

برای نمونه های آب آشامیدنی: هر نمونه مثبت کلی فرم برای حضور کلی فرم مدفوعی یا اشرشیاکلی آزمایش کنید.

عدم تایید نمونه های منفی کل کلی فرم ها:

در کلیه لوله هایی که کدورت ایجاد شده اما گاز / اسید ایجاد نشده (محیط کشت LTB یا LB) ضمن عدم تایید جواب، باید آزمایشگاه درخواست کند که ظرف ۲۴ ساعت آینده از همان مکان اصلی نمونه تایید نشده و به همان شکل مجدداً نمونه جمع آوری و به آزمایشگاه ارسال شود. (قبل از عدم تایید، آزمایشگاه ممکن است یک آزمایش تاییدی یا یک آزمایش اشرشیاکلی / فیکال کلیفرم روی محیط های کشت منفی از نظر کل کلی فرم برای بررسی بازدارندگی محیط کشت برای رشد کلیفرم ها انجام دهد. اگر تست تاییدی کل کلیفرم ها / اشرشیاکلی / فیکال کلیفرم مثبت شد، نتیجه نمونه گزارش می شود. اگر آزمایش کل کلیفرم ها / اشرشیاکلی بر روی محیط کشت، منفی باشد نتایج مورد تایید نمی باشد زیرا سطح بالایی از باکتری های غیر کلیفرمی در لوله های احتمالی ممکن است باعث آسیب، کشته شدن یا بازدارندگی رشد هر نوع کلیفرمی در نمونه شده باشند.

نمونه های آب برداشت شده از منابع:

تمام لوله هایی که بعد از کشت، کدورت زیاد تولید شده ولی تولید گاز و اسید، (محیط کشت LTB یا LB) ندارند، مورد تایید نیستند. آزمایشگاه باید نمونه برداری کند یا درخواست نمونه برداری دیگری از همان محل که نمونه تایید نشده انجام دهد. (قبل از عدم تایید، آزمایشگاه ممکن است یک مرحله آزمایش تاییدی بر روی محیط کشت های منفی از نظر کل کلی فرم ها انجام دهد که اگر تست تاییدی کل کلیفرم ها مثبت شد، MPN گزارش می شود. اگر تست کل کلیفرم ها در این مرحله منفی شد، نتایج نمونه تایید نمی شود.)

فصل ۶: شمارش باکتری های هتروتروف

برای شمارش باکتری های هتروتروف یا کشت سطحی باید از استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۷۱ با عنوان "کیفیت آب - شمارش میکروارگانیسم های قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از تلقیح در محیط کشت آگار مغذی" استفاده نمایند. [۶]

فصل ۷: جمع آوری، حمل و نقل و نکه داری نمونه

۷-۱: نمونه بردار:

نمونه بردار باید آموزش های لازم در خصوص دستور عمل نمونه برداری را دیده باشد و در صورت لزوم روش کار نمونه برداری از سوی مسئول مربوطه مورد بررسی و تایید قرار گیرد.

۷-۲: نمونه برداری:

نمونه های برداشتی باید نشان دهنده وضعیت کل شبکه توزیع آب باشد. شیرهای آب مورد نظر برای نمونه برداری باید فاقد هوا، صافی، اتصالات شلینگ، شیرهای مخلوط و دستگاه تصفیه باشد. از شیر آب سرد برای نمونه برداری استفاده شود. آب باید قبل از نمونه برداری با جریان ثابت برای ۲ دقیقه جریان داشته تا دمای آب ثابت شود. حداقل ۱۰۰ میلی لیتر نمونه جمع آوری شده و حدود ۲ تا ۲,۵ سانتی متر بالای شیشه برای انجام اختلاط خالی بماند. بلافاصله بعد از نمونه برداری باید اطلاعات مربوط به نمونه تکمیل شود. اگر بطری نمونه خیلی پر شده

است بخشی از نمونه را برای انجام اختلاط دور نریزید و در یک ظرف استریل بزرگتر کل نمونه را ریخته، مخلوط کرده و آزمایش را انجام دهید.

نمونه های برداشت شده آب از منبع باید نشان دهنده وضعیت کلی منبع تامین آب باشد و خیلی از نقطه آبرگیر دور نباشد. حجم برداشتی برای کلیه آزمایش های مورد نیاز باید کافی باشد.

حجم مورد نیاز برای آزمایش ها ۱۰۰ میلی لیتر باشد. نمونه اضافی آب در حدود ۱۰۰ میلی لیتر برای انجام مجدد آزمون مجدد در صورت نیاز برداشت شود. برای اطمینان از کافی بودن حجم نمونه ۵۰ میلی لیتر نمونه اضافی آب برداشت شود.

برای باکتری های اشرشیا کلی و انتروکوکسی حجم ۱۰۰ میلی لیتر نمونه ضروری است.

۷-۳: سرد کردن نمونه:

نمونه های جهت آزمون های باکتریایی آب آشامیدنی ترجیحا بهتر است که در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی گراد نگه داری و به آزمایشگاه منتقل شوند ولی در این خصوص الزامی وجود ندارد. نمونه های منابع آب هم مانند نمونه های آب سطحی در دمای کمتر از ۱۰ درجه سانتی گراد نگه داری و منتقل شوند. آزمایشگاه باید نمونه هایی که یخ زده اند را نپذیرد.

دمای نمونه ها پس از دریافت ثبت شود. نمونه هایی که زمان دریافت دارای دمای بیشتر از ۱۰ درجه سانتی گراد باشد، چه درکنار یخ باشند یا نباشد، باید علامت گذاری شوند (مشکوک به نتیجه) مگر اینکه زمان نمونه برداری تا رساندن نمونه به آزمایشگاه کمتر از دو ساعت طول کشیده باشد.

۷-۴: نگه داری نمونه / زمان حمل و نقل نمونه

برای آنالیز کل کلیفرم هادر آب آشامیدنی، زمان بین نمونه برداری و قرار دادن نمونه ها در انکوباتور از ۳۰ ساعت تجاوز نکند. همه نمونه هایی که هر روز به آزمایشگاه تحویل داده می شوند باید در همان روز آزمایش شوند. اگر

نمونه در اواخر روز کاری به آزمایشگاه ارسال شود، می توان نمونه را در یخچال بمدت یک شب نگه داری کرد، (دمای ۱ تا ۵ درجه سانتیگراد) به شرطی که زمان نمونه برداری تا انجام آزمایش بر روی نمونه از ۳۰ ساعت بیشتر نشود.

زمان نمونه برداری تا قراردادن نمونه ها در انکوباتور برای کل کیفرم ها و کلیفرم های مدفوعی در منابع آب سطحی و باکتری های هتروتروف آب آشامیدنی نباید از ۸ ساعت بیشتر شود.

برای آنالیز کلی فاژها زمان بین نمونه برداری تا قرار دادن نمونه در انکوباتور از ۴۸ ساعت نباید بیشتر شود.

برای نمونه های اشرشیا کلی و انترو کوکسی ها زمان بین نمونه برداری نمونه و قراردادن نمونه در انکوباتور از ۳۰ ساعت تجاوز نکند.

۵-۷: فرم اطلاعات نمونه:

پس از نمونه برداری باید اطلاعات نمونه با خودکار(غیرقابل پاک شدن) در فرم اطلاعات بصورت ذیل ثبت شود:

۱. نام سامانه آب رسانی
۲. مشخصات نمونه (در صورت موجود بودن)
۳. محل / مکان نمونه
۴. نوع نمونه (بعنوان مثال نمونه معمول از شبکه توزیع، تکرار نمونه ، آب خام یا تصفیه شده، سایر اهداف خاص نمونه برداری)
۵. تاریخ و زمان نمونه برداری
۶. آزمایش های درخواست شده
۷. میزان کلر آزاد باقیمانده
۸. نام و نام خانوادگی نمونه بردار

فصل ۸: تضمین کیفیت

یک برنامه تضمین کیفیت نوشته شده بایستی تهیه و اجرا شود و در صورت نیاز در اختیار ممیز قرار گیرد. برنامه تضمین کیفیت شامل نحوه کالیبراسیون تجهیزات و دستور عمل های استاندارد بهره برداری، همچنین شرکت در آزمون های PT را شامل می شود. حداقل هر یکسال یک بار آزمون PT برای هر روش اندازه گیری انجام شود.

فصل ۹: ثبت و گزارش داده

۹-۱: قابلیت دفاع قانونی:

داده های پایش برای بررسی تطابق با استاندارد، بایستی با ثبت و نگهداری جزئیات آزمایش و اطلاعات صحیح از نظر قانونی قابل دفاع باشد. برنامه تضمین کیفیت و یا SOPs باید سیاست ها و روش های استفاده شده را برای نگه داری سوابق توصیف کند. اگر نمونه ها بخشی از اقدامات قانونی مورد انتظار باشد، بایستی دستور عمل مستند سازی فرآیندها با جزئیات تهیه شده و استفاده شود.

۹-۲: نگه داری داده ها:

اطلاعات شبکه های عمومی آب اطلاعات نمونه های آزمایش شده را به مدت ۵ سال نگه داری شود. تغییر در مالکیت، ادغام یا بسته شدن آزمایشگاه این شرایط را لغو نمی کند. قبل از از بین بردن سوابق باید به مشترک سامانه آب اطلاع رسانی شود تا در صورت لزوم یک کپی تهیه و به او داده شود. این سوابق شامل داده های خام، محاسبات، کنترل کیفی داده ها می باشد. فایل این داده ها باید بصورت کپی روی سی دی، فلش یا بصورت الکترونیکی باشد. اطلاعات الکترونیکی همیشه باید به صورت نسخه پشتیبان بر روی دیسک یا سی دی باشد. اگر سیستم سخت افزار یا نرم افزار آزمایشگاه تغییر کند باید داده های قدیمی بر روی دستگاه جدید منتقل شود و سیستم جدید در بازه های زمانی مشخص شده در بالا قابل بازیابی باشد. اطلاعاتی که انتظار می رود به بخشی از یک عمل قانونی تبدیل شوند باید برای مدت طولانی تر نگه داری شوند.

۹-۳: ثبت اطلاعات نمونه:

اطلاعات باید با خودکار و با هر تغییری در ردیف مربوط به آن نوشته شود تا ورودی اصلی اطلاعات قابل مشاهده باشد. تغییرات باید امضاء شده و تاریخ داشته باشد. اطلاعات مطابق با موارد ذیل باید بصورت خلاصه شده و به راحتی در دسترس باشد:

۱. فرم اطلاعات نمونه

۲. تاریخ و زمان رسیدن نمونه به آزمایشگاه

۳. نام شخصی که نمونه را در آزمایشگاه دریافت می کند.

۴- هر نوع نقص و مشکلی در شرایط نمونه. یک نمونه می تواند به دلایل ذیل فاقد اعتبار برای آزمایش کردن باشد:

- از زمان نمونه برداری تا رساندن به آزمایشگاه بیش از حد گذشته باشد.

- ماده ضد عفونی کننده در نمونه مشهود باشد. (به عنوان مثال: با بوکردن)

- یخ زدگی در نمونه

- ظرف نمونه برداری برای انجام آزمایش خاص از نظر آزمایشگاه مورد تایید نباشد.

- حجم نمونه برداشتی کافی نباشد. (به عنوان مثال، کمتر از ۱۰۰ میلی لیتر باشد).

- وجود آلاینده های مداخله گر در نمونه قابل توجه باشد. (به عنوان مثال، هیدروکربن ها / شوینده ها / فلزات سنگین

و غیره)

- دمای نمونه بیشتر از حد مجاز باشد.

۴-۹: ثبت نتایج:

اطلاعات داده ها باید با خودکار و با هر تغییری در ردیف مربوط به آن نوشته شود تا ورودی اصلی اطلاعات قابل

مشاهده باشد. تغییرات باید امضاء شده و تاریخ داشته باشد. اطلاعات مطابق با موارد ذیل باید بصورت خلاصه شده

و به راحتی در دسترس باشد :

۱. مشخصات نمونه آزمایشگاهی

۲. تاریخ و زمان شروع آزمایش

۳. نام آزمایشگاه و حرف اول نام و نام خانوادگی شخص یا اشخاص آزمایش کننده با امضاء

۴. روش مورد استفاده برای آزمایش

۵. نتایج آزمایش

۹-۵: نگه داری پیشگیرانه:

آزمایشگاه باید سوابق نگهداری پیشگیرانه و تعمیرات کلیه ابزارها و تجهیزات آزمایشگاهی را به مدت ۵ سال جهت ممیزی نگه داری کند. (مانند: pH متر، ترازوهای دیجیتال، انکوباتور، یخچال، اتوکلاو، حمام آب)

پیوست ۱:

چک لیست ممیزی آزمایشگاه میکروبی

اطلاعات عمومی

	نام آزمایشگاه
	استان، شهر
	خیابان، کوچه
	شماره تلفن، شماره فاکس، ایمیل
	اعضای تیم ممیزی
	تاریخ ممیزی

پرسنل آزمایشگاه

قابل قبول		سابقه کاری در	مسئولیت	دوره آموزش	میزان	نام و نام خانوادگی	سمت شغلی / عنوان
خیر	بلی	مسئولیت فعلی	فعلی	های تخصصی	تحصیلات		
							مدیر فنی / کارشناس مسئول آزمایشگاه
							کارشناس آزمایشگاه

امکانات آزمایشگاهی

تسهیلات آزمایشگاهی	تعداد	بله	خیر	NA	اظهار نظر
آیا تسهیلات آزمایشگاهی تمیز و دما و رطوبت کنترل می شود و نور به اندازه کافی در بالای سکوهاى کار می باشد؟					
آیا آزمایشگاه جداسازی موثر محل های انجام آزمایش که با هم ناسازگار هستند، انجام داده است؟					
آیا آزمایشگاه در صورت لزوم کنترل دسترسی ها و برنامه ریزی برای به حداقل رساندن ترافیک کاری انجام می دهد؟					
آیا آزمایشگاه این اطمینان را می دهد که آلودگی ها بر کیفیت داده های آزمایش تاثیر گذار نباشد؟					
آیا کف ها و سکوهاى کار آزمایشگاه به راحتی قابل تمیز و ضدعفونی شدن هستند؟					
آیا آزمایشگاه فضای کافی برای آنالیز نمونه ها، نخیره سازی محیط کشت، ظروف شیشه ای و تجهیزات قابل حمل، تجهیزات نظافت، شستن ظروف شیشه ای و ضدعفونی کردن مواد را دارد؟					
آیا آزمایشگاه دستور عمل برای دفع مواد زائد میکروبی دارد؟					
تجهیزات و ملزومات آزمایشگاهی					
آیا آزمایشگاه تجهیزات و ملزومات آزمایشگاهی مورد نیاز برای روش های مورد استفاده را دارد؟					
pH متر					
آیا دقت و مقیاس اندازه گیری در حد $\pm 0,1$ واحد است ؟					

					آیا بافر pH متر فقط یک بار استفاده می شود؟
					آیا الکترودها مطابق با توصیه های شرکت سازنده نگه داری می شود؟
					آیا pH متر قبل از هر بار استفاده با pH ۷ و ۴ یا ۱۰ با بافرهای استاندارد که محدوده مورد نیاز محیط کشت یا معرف را پوشش می دهد، تنظیم می شود؟
					تاریخ، بافر مورد استفاده و حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس در یک دفترچه ثبت می شود؟
					آیا بعد از هر کالیبراسیون، شیب pH به صورت ماهیانه ثبت می شود؟
					اگر دستگاه pH متر ویژگی ثبت خودکار شیب را ندارد اما میلی ولت ها را در pH نشان می دهد، آیا شیب کالیبراسیون محاسبه می شود؟ (براساس فرمول محاسبه شیب کالیبراسیون)
					اگر شیب کالیبراسیون دستگاه زیر ۹۵ درصد یا بالای ۱۰۵ درصد باشد، دستورعمل شرکت سازنده برای نگه داری و تمیز کردن الکترودها انجام می شود؟
					آیا محلول های بافر pH تجاری موقع دریافت و باز شدن تاریخ آنها ثبت می شوند؟
					آیا محلول های بافر تاریخ مصرف گذشته دور ریخته می شوند؟
ترازو					
					آیا ترازو دارای قابلیت قرائت تا ۰,۱ گرم را دارد؟
					آیا ترازو دارای حساسیت حداقل ۰,۱ گرم برای وزنه ۱۵۰ گرمی و ۱ میلی گرم برای وزنه ۱۰ گرم یا کمتر را دارد؟
					آیا ترازو ها بصورت ماهانه با استفاده از وزنه های کلاس های ۱، ۲ یا ۳ کالیبره می شود؟ (حداقل ۲ وزنه استاندارد با قابلیت خواندن ۰,۱ گرم)

					آیا وزنه های غیر مرجع با وزنه های مرجع و استاندارد هر شش ماه یکبار کالیبره می شود؟
					آیا اطلاعات کالیبراسیون دستگاه در دفترچه ای با حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس ثبت می شود؟
					آیا مقادیر تصحیح شده در کالیبراسیون ثبت و مورد استفاده قرار می گیرد؟
					آیا وزنه های مرجع هر ۵ سال یک بار گواهی و تایید می شوند؟
					آیا وزنه های آسیب دیده و خورده شده تعویض می شوند؟
					آیا قراردادهای سرویس ترازو یا دستورعمل نگه داری داخلی و اطلاعات بهره برداری قابل دسترس است؟
					آیا نگه داری، کالیبراسیون و تمیز کردن ترازو حداقل یک بار در سال به وسیله یک تکنسین مستقل مورد تایید انجام می شود؟ در غیر این صورت لازم است به وسیله یک کارشناس مورد تایید دارای گواهی، زمان اصلاح یا چشم پوشی شود.
دماسنج ها					
					آیا دماسنج های شیشه ای، صفحه ای یا الکترونیکی با درجه حرارت ۰,۵ درجه سانتی گراد یا کمتر درجه بندی شده اند(افزایش دمای ۰,۲ درجه سانتی گراد برای آزمون هایی که نیاز به انکوبه شدن در دمای ۴۴,۵ درجه سانتی گراد دارند) به غیر از کوره ها و یخچال ها
					آیا ستون های مایع در دماسنج شیشه ای از هم جدا نشده اند؟
					آیا از دماسنج های شماره ای قابل تنظیم استفاده می شود؟
					آیا دماسنج های شیشه ای و الکترونیکی سالانه و دماسنج های شماره ای هر سه ماه یک بار در برابر دماسنج های مرجع در دمای مورد استفاده کالیبره می شوند؟

					<p>آیا تاریخ و فاکتور کالیبراسیون روی دماسنج مشخص شده است؟</p> <p>آیا اطلاعات کالیبراسیون به صورت ذیل در دفتر اطلاعات ثبت می شود؟</p> <p>شماره سریال دماسنج آزمایشگاه</p> <p>شماره سریال دماسنج مرجع</p> <p>دمای دماسنج آزمایشگاه</p> <p>دمای دماسنج مرجع</p> <p>فاکتور اصلاح (یا کالیبراسیون)</p> <p>تاریخ کنترل</p> <p>حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس آزمایشگاه</p>
					<p>اگر دماسنج اگر بیش از یک درجه سانتی گراد خطا با دماسنج مرجع داشته باشد از رده خارج می شود؟</p>
					<p>آیا دماسنج های مرجع حداقل هر ۵ سال یکبار دوباره کالیبره می شوند؟</p>
					<p>آیا مستندات کالیبراسیون دماسنج های مرجع نگه داری می شوند؟</p>
					<p>آیا دستگاه ثبت مداوم برای پایش دمای انکوباتور استفاده می شود و حداقل یکبار در سال با دماسنج های مرجع مجددا کالیبره انجام می شود؟</p>
انکوباتور					
					<p>آیا انکوباتور دارای دستگاه اندازه گیری دمای داخلی است و دمای مشخص شده برای هر روش در دمای معمولاً $35 \pm 0,5$ درجه سانتی گراد و $44,5 \pm 0,2$ درجه سانتی گراد را حفظ می نماید؟</p>

				آیا برای انکوباتور های غیر قابل حمل، دماسنج هایی در قسمت بالا و پایین قفسه ها بصورت غوطه ور در مایع مورد استفاده قرار می گیرند؟(غیر از دماسنج های الکترونیکی)
				وقتی از انکوباتورهای محفظه آلومینیمی استفاده می شود، لوله ها و ظروف حاوی محیط کشت، به صورت مناسب در داخل آن قرار می گیرند؟(کاملا اندازه و بدون حرکت)
				آیا دمای اصلاح شده کالیبراسیون برای دماسنج هایی که حداقل دو بار در روز برای انکوباتورهایی که روزانه استفاده می شوند، ثبت می شوند؟
				آیا این کنترل دمایی دستگاه در فاصله حداقل هر ۴ ساعت یک بار می باشد؟
				آیا تاریخ و ساعت قرائت دما و حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس کنترل کننده ثبت می شود؟
				اگر حمام با گردش آب استفاده می شود، پوشش شیروانی مانند، برای اطمینان از دمای انکوباسیون $2, \pm 0,5$ درجه سانتی گراد قرار می گیرد؟
اتوکلاو				
				آیا اتوکلاو یک معیار دما با یک سنسور در قسمت خروجی، یک معیار برای فشار و یک شیر ایمن بهره برداری(سوپاپ اطمینان) دارد؟
				آیا اتوکلاو درجه حرارت استریلیزاسیون را در طول زمان استریل کردن به مدت ۴۵ دقیقه با زمان ۱۲ تا ۱۵ دقیقه برای استریلیزاسیون را می تواند حفظ نماید؟
				آیا کاهش فشار اتوکلاو به کندی می باشد برای اطمینان از اینکه محیط کشت نجوشیده و حباب در لوله های دورهام موجود در محیط های کشت ایجاد نشود؟
				آیا اطلاعات زیر برای هر بار استفاده از اتوکلاو ثبت می شود:

					<p>تاریخ</p> <p>محتوی</p> <p>زمان و دمای استریلیزاسیون</p> <p>کل زمان در اتوکلاو</p> <p>حروف اول نام و نام خانوادگی کارشناس</p>
					<p>آیا نسخه ای از قراردادهای مربوط به سرویس دستگاه یا دستورعمل های نگهداری داخلی و اطلاعات ثبت شده مربوط به آن وجود دارد؟</p>
					<p>آیا سرویس دستگاه حداقل به صورت سالیانه است؟</p>
					<p>آیا آخرین اطلاعات مربوط به سرویس دستگاه ثبت و در دسترس برای بازرسی است؟</p>
					<p>آیا دماسنج ثبت کننده حداکثر دما، بصورت الکترونیکی دمای دستگاه را نشان داده یا دستگاه ثبت کننده مداوم دما برای اطمینان به رسیدن به دمای مناسب در هر چرخه اتوکلاو وجود دارد؟</p>
					<p>آیا دما ثبت می شود؟</p>
					<p>آیا از بارگذاری بیش از حد در اتوکلاو جلوگیری می شود؟</p>
					<p>آیا نوارهای اسپور یا آمپول های مورد استفاده برای تایید کار استریلیزاسیون اتوکلاو بصورت ماهیانه استفاده می شود؟</p>
					<p>آیا مکانیسم های زمان بندی شده خودکار بصورت فصلی با یک کروномتر یا هر زمان سنج دقیق دیگری بررسی می شود و نتایج آن ثبت می شود؟</p>
					<p>آیا در اتوکلاو تمیز و عاری از محیط های کشت چسبیده بوده و به درستی بسته شده و غیرقابل نفوذ است؟</p>

					آیا صفحات تخلیه ی کف اتوکلاو بطور مکرر از محیط های کشت ریخته شده تمیز می شود؟
آون(کوره) هوای داغ					
					آیا دمای استریلیزاسیون کوره بین ۱۷۰-۱۸۰ درجه سانتی گراد برای حداقل دو ساعت ثابت نگهداری می شود؟
					از پر کردن بیش از حد فضای آون خودداری می شود؟
					آیا دماسنج کوره به صورت ۱۰ درجه سانتی گراد یا کمتر درجه بندی شده و حباب آن در ماسه هنگام استفاده قرار دارد؟
					آیا اطلاعات زیر برای هر بار استفاده از آون ثبت می شود: تاریخ محتوی زمان و دمای استریلیزاسیون حروف اول نام و نام خانوادگی آزمایشگر
					آیا نوارهای اسپور تایید استریلیزاسیون آون بطور ماهیانه استفاده می شود؟
کلنی کانتر					
					آیا کلنی کانتر دارای صفحه تاریخ برای شمارش کلنی ها در پلیت های باکتری های هتروتروف استفاده می شود؟
هدایت سنج یا هدایت الکتریکی					
					آیا دستگاه هدایت الکتریکی قابلیت قرائت هدایت آب را با واحدهای میکروموس بر سانتی متر و میکرو زیمنس بر سانتی متر دارد؟

					آیا هدایت الکتریکی حداقل ماهی یکبار براساس توصیه های سازنده آن و با استانداردهای دارای مقادیر حداقل قابل ردیابی کالیبره می شود؟
					در صورت عدم کالیبره شدن به صورت بالا آیا ثابت سل ^۶ با فواصل ماهی یکبار با استفاده از روش های موجود در استاندارد تعیین می شود؟
یخچال					
					آیا دمای یخچال بین ۵-۱ درجه سانتی گراد نگه داری می شود؟
					آیا دماسنج یخچال به صورت حداقل یک درجه سانتی گراد در جه بندی شده و حباب آن در مایع غوطه ور است؟
					آیا دمای یخچال در هنگام استفاده حداقل یک بار در روز کنترل شده و دمای اصلاح شده کالیبراسیون ثبت می شود؟
تجهیزات انکوباسیون					
					آیا لوپ های فلزی استریل یا پلاستیکی یک بار مصرف، سواب استریل، اپلیکاتور چوبی، پی پت یک بار مصرف پلاستیکی استریل استفاده می شود؟
					آیا اپلیکاتور های چوبی در صورت استفاده با حرارت خشک استریل می شود؟
					آیا لوپ های فلزی یا سوزن های تلقیح فلزی از جنس آلیاژ نیکل یا پلاتین هستند؟
ممبران فیلتر					
					آیا جنس ممبران فیلتر از فولاد ضد زنگ، شیشه، سرامیک یا پلاستیک قابل اتوکلاو است؟
					آیا زنگ زدگی، خوردگی یا نشئت ندارد؟

⁶ Cell constant

				اگر درجه بندی روی قیف های شفاف یا پلاستیکی برای اندازه گیری حجم نمونه استفاده می شود، صحت آن ها با قیف های کلاس B یا بهتر بررسی می شود و سابقه بررسی کالیبراسیون نگه داری می شود؟
				میکروسکوپ با دقت $\times 10$ تا $\times 15$ با منبع نور فلورسنت برای شمارش کلنی های درخشان استفاده می شود؟
				آیا فیلترهای غشایی، مورد تایید شرکت سازنده برای آنالیز توتال کلی فرم ها می باشد؟
				آیا فیلترهای غشایی مورد استفاده از جنس استر سلولزی، سفید و قطر ۴۷ میلی متر و با اندازه منافذ ۰,۴۵ میکرون می باشد؟
				اگر از فیلتر با سایز دیگری استفاده می شود آیا عملکردی برابر یا بهتر از فیلتر با منافذ ۰,۴۵ میکرون دارد؟
				آیا فیلترها و صافی های خریداری شده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد پیش استریل یا اتوکلاو شده اند؟
				آیا سری ساخت فیلترهای غشایی خریداری شده و تاریخ دریافت آن ها ثبت می شوند؟
				آیا صافی ها از نظر شکنندگی و خرابی بررسی می شوند؟
				آیا مشخصات و تاییدیه های تولید کننده در دسترس است؟
				آیا پنس ها صاف و نوک صاف بدون خط و خطوط بر روی قسمت داخلی هستند؟ (سالم باشند)
ظروف کشت (بادرهای شل و محکم)				
				آیا از ظروف شیشه ای یا پلاستیکی استریل شده برای کشت استفاده می شود؟

				آیا ظروف شیشه ای کشت در قوطی های فولادی ضد زنگ و یا در آلومینیوم یا فویل یا کاغذ مقاوم در برابر حرارت پیچیده و استریل می شوند؟
				آیا ظروف پتری دیش با در شل را در یک ظرف محکم در کاغذ های جاذب رطوبت قرار می دهید؟
				آیا بسته های باز شده حاوی ظروف محیط کشت یکبار مصرف در مدت استفاده مجددا درشان بسته و محکم می شود؟
				درروش صافی غشایی، آیا اندازه ظروف کشت به اندازه ای است که امکان انتقال یک صافی به ظرف را دارد؟
پی پت ها				
				آیایی پت های شیشه ای در قوطی های از جنس فولاد ضد زنگ یا آلومینیومی، یا در کاغذهای مقاوم در برابر حرارت یا فویل آلومینیومی استریل و نگه داری می شوند؟
				آیا پی پت ها دارای درجه بندی خوانا و قابل خواندن و بدون خدشه هستند؟
				آیا بسته های باز شده حاوی پی پت یک بار مصرف، بعد از هر استفاده به طور کامل بسته می شوند؟
				آیا پی پت های با حجم ۱۰ میلی لیتر یا کمتر، دارای صحت در محدوده ۲,۵ درصد است؟
				آیا از میکرو پی پت های کالیبره شده با نوک های استریل ^۷ آن استفاده می شود؟
				آیا میکرو پی پت ها سالانه کالیبره و تنظیم می شوند و در صورت اینکه دقت یا صحت آنها بالای ۲,۵ درصد باشند، تعویض می شوند؟

⁷ Sterile tips

ظروف شیشه ای و پلاستیکی				
				آیا ظروف شیشه ای از جنس شیشه بوروسیلیکات یا مقاوم در برابر خوردگی و بدون ترک و خراش می باشد؟
				آیا نشانه گذاری روی ظروف استوانه ای و پی پت ها ی مدرج خوانا است؟
				آیا ظروف پلاستیکی شفاف، برای میکروارگانسیم ها غیرسمی هستند؟
				آیا از ظروف استوانه ای درجه بندی شده برای سنجش حجم نمونه استفاده می شود، در صورت استفاده از سایر ظروف پیش کالیبره شده علامت گذاری حجم های استفاده شده به وضوح با دقت در محدوده ۲,۵ درصد انجام شده است؟
				آیا لوله ها و ظروف کشت مورد استفاده برای محیط های تخمیری، اندازه لازم برای ریختن محیط کشت و نمونه را بدون اینکه بیش از سه چهارم از کل حجم ظروف را پر نکند، دارند؟
				آیا در لوله ها از جنس فولاد ضد زنگ، پلاستیک، آلومینیوم یا درپوش سرپیچ دار با روکش غیر سمی می باشد؟
				آیا برای درپوش لوله ها از مواد کتان یا فوم استفاده می شود؟
ظروف نمونه برداری				
				آیا ظروف نمونه برداری، دهانه گشاد پلاستیکی یا شیشه ای مقاوم با درپوش های شیشه ای غیر قابل نشت با پوش داخلی غیر سمی، کیسه های پلاستیکی استریل حاوی تیوسولفات سدیم یا سایر ظروف نمونه برداری مناسب هستند؟
				ظرفیت ظرف نمونه برداری حداقل ۱۲۰ میلی لیتر است تا حداقل فضای ۲,۵ سانتی متر بالای ظرف خالی برای تکان دادن نمونه باشد؟

					آیا درپوش های شیشه ای با فویل آلومینیوم یا کاغذ مقاوم در برابر حرارت برای استریل شدن پوشانده می شوند؟
					آیا بطری های شیشه ای و پلاستیکی غیر استریل شده برای استفاده مجدد به وسیله اتوکلاو استریل می شوند؟ (یا اون خشک برای بطری های شیشه ای)
					آیا ظروف خالی با چند قطره آب قبل از انجام اتوکلاو برای پیشگیری از شکست در استریلیزاسیون بر اثر حباب های هوا، مرطوب می شوند؟
					اگر نمونه برداری از آب کلرزی شده باشد، به ظروف تیوسولفات سدیم قبل از نمونه برداری اضافه می شود تا کلر باقی مانده آب خنثی شود؟
کلیات در آزمایشگاه					
					آیا پرسنل آزمایشگاه از فعالیت های ایمنی به صورت کلی و متداول در آزمایشگاه اطلاع دارند؟
					آیا آزمایشگاه برنامه ایمنی در آزمایشگاه دارد؟
					آیا آزمایشگاه یک نسخه از راهنمای محافظت شخصی را نگهداری و آنرا اجرا می کند برای موادی که مطابق برگه اطلاعات ایمنی آن ماده سمی هستند؟
					رویه های استریلیزاسیون
					آیا آزمایشگاه حداقل زمان را برای اتوکلاو کردن در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد برای موارد ذیل رعایت می کند؟ ممبران فیلترها و فیلترها - ۱۰ دقیقه محیط کشت دارای کربوهیدرات* - ۱۵-۱۲ دقیقه مواد آلوده - ۳۰ دقیقه وسایل جانبی ممبران فیلتر - ۱۵ دقیقه

				<p>ظروف جمع آوری نمونه - ۱۵ دقیقه</p> <p>ظروف شیشه ای - ۱۵ دقیقه</p> <p>آب رقیق سازی - ۱۵ دقیقه</p> <p>آب شستشو (نیم الی ۱ لیتر) # - ۱۵-۳۰ دقیقه</p> <p>*- به جز مواردی که از سوی سازنده مشخص شده است.</p> <p>#- زمان برای اتوکلاو کردن بستگی به حجم آب موجود در هر ظرف و بار اتوکلاو دارد.</p>
				<p>آیا فیلترهای غشایی، پدها و همه محیط های کشت بلافاصله بعد از اتمام چرخه استریلیزاسیون، اتوکلاو می شوند؟</p>
				<p>آیا تجهیزات فیلتر غشایی قبل از شروع یک دوره عملیات فیلتراسیون اتوکلاو شده اند؟</p>
				<p>اگر از نور ماوراء بنفش (۲۵۴ نانومتر) برای ضدعفونی تجهیزات بعد از اتوکلاو اولیه برای استریلیزاسیون استفاده می شود، همه لوازم پیش استریل هستند؟</p>
ظروف نمونه برداری				
				<p>برای تایید استریلیزاسیون ظروف نمونه برداری، بطور تصادفی از هر سری بطری استریل (یا سری ظرف نمونه برداری تجاری)، یک ظرف با افزودن ۲۵ میلی لیتر محیط کشت آبگوشت براث غیر انتخابی استریل و قراردادن در دمای $0,5 \pm 35$ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت برای بررسی رشد باکتریایی بررسی می شود؟</p>
				<p>آیا این نتایج ثبت می شوند؟</p>

					در صورت ایجاد رشد میکروبی در ظروف، کلیه ظروف آن سری مجدداً استریل می شوند؟
--	--	--	--	--	--

					جمع آوری، حمل و نقل و نگه داری نمونه
اظهاری نظر	NA	خیر	بله	تعداد	
نمونه بردار					
					آیا نمونه بردار روش های نمونه برداری صحیح را آموزش دیده است و روش کار او مورد تایید است؟
نمونه					
					آیا نمونه های آب آشامیدنی برای آزمایش کلی فرم ها از شبکه توزیع آب برداشت می شوند؟
					آیا شیرهای آب برداشت نمونه برای نمونه برداری، از هواده ها، صافی ها، شیلنگ، اتصالات و شیرهای مخلوط و دستگاه تصفیه جدا شده اند؟
					آیا فقط از شیرهای آب سرد نمونه برداشت شده است؟
					آیا قبل از نمونه برداری حداقل ۲ دقیقه شیر آب تا ثابت شدن دمای آن باز می ماند؟
					آیا حداقل ۱۰۰ میلی لیتر نمونه آب برای آزمون میکروبی برداشت می شود و حداقل ۲,۵ سانت بالای ظرف نمونه برداری جهت اختلاط نمونه و خروج حباب هوای آب خالی می ماند؟
					آیا اطلاعات نمونه بلافاصله بعد از نمونه برداری بر روی نمونه ثبت می شود؟
					اگر بطری نمونه کاملاً پر باشد اجازه می دهید اختلاط نمونه با ریختن آن در یک ظرف بزرگ استریل قبل از انجام آزمایش ها انجام شود؟

					آیا برای نمونه برداری از منبع آب، نمونه برداشتی نماینده منبع تامین کننده آب و خیلی دور از نقطه آبیگیر نیست و دارای فاصله قابل قبول از ساحل می باشد؟
					آیا حجم نمونه برداشتی به اندازه کافی برای انجام همه آزمون های میکروبی مورد نظر می باشد؟
					آیا حجم نمونه برداشتی برای انجام آزمون های کلی فاژ، E. coli، آنتروکوک حداقل ۱۰۰ میلی لیتر می باشد؟
سرد کردن نمونه					
					برای نمونه های باکتریایی آب آشامیدنی، نمونه بردار نمونه را در دمای زیر ۱۰ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل می کند؟
					برای نمونه های باکتریایی منبع آب، نمونه بردار نمونه را در دمای زیر ۱۰ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه منتقل کرده است؟
					آیا آزمایشگاه نمونه هایی را که یخ زده اند، بر می گرداند؟
					برای آنالیز نمونه های کلی فاژ، نمونه ها در دمای زیر ۱۰ درجه سانتی گراد حمل شده و در دمای ۵-۱ درجه سانتی نگه داری و منجمد نمی شوند؟
					آیا برای کنترل کیفی، ثبت دمای نمونه های ارسالی به محض رسیدن به آزمایشگاه انجام می شود؟
					آیا آزمایشگاه نمونه هایی که با دمای بیشتر از ۱۰ درجه و در بیشتر از ۲ ساعت جمع آوری شده اند را علامت گذاری می کنند؟(چه با یخ و یا بدون آن به آزمایشگاه منتقل شده باشند)
زمان نگه داری / حمل و نقل نمونه					

					برای آنالیز کلی فرم ها و انترکوکسی در آب آشامیدنی، زمان بین جمع آوری نمونه و قرار دادن نمونه در انکوباتور از ۳۰ ساعت بیشتر نمی شود؟
					کلیه نمونه ها در همان روز دریافت از سوی آزمایشگاه آنالیز می شوند؟
					آیا نمونه های ارسالی در پایان روز به آزمایشگاه، در صورتی در یخچال در طول شب نگه داری می شوند که آزمایش حداکثر در مدت ۳۰ ساعت پس از جمع آوری نمونه، آزمایش شوند؟
					آیا برای کلی فرم ها و کلی فرم های مدفوعی در منابع آب سطحی و باکتری های هتروتروف در آب آشامیدنی زمان نمونه برداری تا قرار دادن نمونه در انکوباتور از ۸ ساعت تجاوز نمی کند؟
					برای آنالیز کلی فاژها زمان نمونه برداری تا قرار دادن نمونه در انکوباتور از ۴۸ ساعت تجاوز نمی کند؟ (در صورت انجام آزمایش)

اظهاری نظر	NA	خیر	بله	تعداد	فرم اطلاعات نمونه
					<p>بعد از نمونه برداری، اطلاعات نمونه با خودکار غیر قابل پاک شدن در فرم نمونه برداری ثبت می شود؟</p> <p>نام سامانه آبرسانی</p> <p>کد نمونه (در صورت کدگذاری)</p> <p>محل نمونه برداری</p> <p>نوع نمونه (شبکه توزیع، نقطه مصرف، نمونه مجدد، آب خام یا اهداف دیگر)</p> <p>تاریخ و زمان نمونه برداری</p> <p>آزمایش مورد درخواست</p>

					مقدار کلر آزاد باقیمانده
					نام و نام خانوادگی نمونه بردار

تضمین کیفیت

تضمین کیفیت	تعداد	بله	خیر	NA	اظهار نظر
آیا آزمایشگاه برنامه تضمین کیفیت بصورت مکتوب تهیه و در دسترس برای بازرسی دارد؟					
آیا آزمایشگاه برنامه تضمین کیفیت نوشته شده را اجرا می نماید؟					
آیا آزمایشگاه دستورعمل استاندارد (SOP) برای بازبینی کالیبراسیون تجهیزات مربوطه یا نحوه تامین آنها در دسترس دارد؟					
آیا آزمایشگاه حداقل یک بار در سال نمونه های PT را برای هر روش آزمایش مورد تایید انجام می دهد؟					

داده ها و گزارش اطلاعات	تعداد	بله	خیر	NA	اظهار نظر
قابلیت دفاع قانونی					
آیا پایش قابل قبول بودن اطلاعات (نتایج) به صورت کامل و صحیح در آزمایشگاه نگه داری شده و گزارش آزمایش ها از نظر قانونی قابل دفاع می باشد؟					
آیا برنامه تضمین کیفیت و دستور عمل های استاندارد توصیف شده در سیاست ها و روش ها، نگه داری و ذخیره سازی داده ها را شامل می شود؟					
اگر انتظار می رود که نمونه ها بخشی از اقدامات قانونی باشند، آیا دستور عمل مستند سازی نمونه از هنگام نمونه برداری تا آنالیز و گزارش حفظ می شود؟					

					<p>آیا نتایج حداقل تا پنج سال نگه داری می شوند و از همه اطلاعات ذخیره شده به صورت الکترونیکی فایل پشتیبان تهیه و به صورت هارد دیسک هم نگه داری می شود؟</p>
--	--	--	--	--	--

سوابق نمونه برداری	تعداد	بله	خیر	NA	اظهار نظر
آیا همه داده های با خودکار ثبت شده و هر تغییری در خط جداگانه نیز ثبت می شود به طوری که اطلاعات اصلی قابل مشاهده است؟					
آیا مشخصات فرد تغییر دهنده و تاریخ آن ثبت می شود؟					
آیا آزمایشگاه اطلاعات نمونه شامل موارد ذیل را به راحتی قابل دسترسی دارد؟					
<ul style="list-style-type: none"> - تاریخ و زمان دریافت نمونه به وسیله آزمایشگاه - نام شخص آزمایشگاهی دریافت کننده نمونه - اطلاعات مربوط به هر نوع نقصان در شرایط نمونه 					
<p>آیا به دلایل زیر نمونه های برداری های انجام شده تایید نمی شوند؟</p> <ul style="list-style-type: none"> - بیش از حد شدن زمان بین نمونه برداری تا رسیدن نمونه به آزمایشگاه - وجود ماده گذردا در نمونه قابل توجه باشد(به عنوان مثال از طریق بو) - نشانه یخ زدگی نمونه - عدم استفاده از ظروف آزمایشگاهی مورد تایید برای نمونه برداری - کافی نبودن حجم نمونه(بعنوان مثال کمتر از ۱۰۰ میلی لیتر) - وجود آلاینده های مداخله گر مانند هیدروکربن ها، پاک کننده ها/دترجنت ها، فلزات سنگین و غیره 					

					-دمای بیش از حد مجاز نمونه
					آیا اطلاعات ذیل به آسانی قابل دسترس است؟ اطلاعات شناسایی نمونه در آزمایشگاه اطلاعات مربوط به تاریخ و ساعت شروع آزمایش نام آزمایشگاه و امضاء با نام و نام خانوادگی آزمایشگر اطلاعات مربوط به روش استفاده شده در آزمایش اطلاعات مربوط به موارد مربوط به کنترل کیفیت نتایج آزمایش
					آیا آزمایشگاه اطلاعات مربوط به تعمیر و نگهداری همه تجهیزات و وسایل به مدت پنج سال نگه داری و به راحتی قابل دسترس است؟

ظاهر نظر	NA	خیر	بله	تعداد	پاسخگویی به نتایج آزمایشگاه
					آزمایش توتال کلی فرم - کشت های مثبت
					بطور کلی آیا آزمایشگاه در روش اندازه گیری توتال کلی فرم ها همه نتایج مثبت را برای حضور کلی فرم مدفوعی ویا E. coli آزمایش می کند؟
					آیا در صورت وجود نتایج مثبت کلی فرم ها آزمایشگاه سریعاً مسئول مربوطه را برای پیگیری اقدام ها آگاه می نماید؟
					آیا آزمایشگاه برا ساس نتایج مثبت کلی فرم، مسئول سیدستم آبر سانی را از نتایج آزمون در پایان همان روز کاری و در صورت بسته بودن در روز کار بعدی مطلع می نماید؟ (ابتدا تلفنی و سپس ارسال نتیجه)

				<p>آیا آزمایشگاه نتیجه کلی فرم های مثبت را براساس مرحله تاییدی روش های آزمون تخمیر چند لوله ای، یا روش حضور و غیاب یا آزمایش تایید شده فیلترا سیون غشایی با محیط کشت M-Endo یا M-Endo medium LES اعلام کرده است؟</p>
				<p>اگر کشت مثبت کلی فرم مورد تایید قرار نگیرد، اما کلی فرم مدفوعی یا اشیرشیاکلی مثبت باشد، نمونه از نظر کلی فرم، کلی فرم مدفوعی و اشیرشیاکلی، مثبت در نظر گرفته می شود؟</p>

مراجع :

1. EPA.Manual for the Certification of Laboratories Analyzing Drinking Water, Fifth Edition, 2005

2. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.1090. Laboratory Occupational Health and Safety.part1090. 23RD Edition. 2017

۳. استاندارد ملی ایران- آزمایشگاه های تشخیص طبی - الزامات ایمنی - شماره ۱۰۱۴۲، سال ۱۳۸۶

۴. استاندارد ملی ایران- کیفیت آب- راهنما و الزامات عمومی آزمون های میکروبی با استفاده از روش کشت- راهنما- شماره ۴۲۰۷، سال ۱۳۹۸

۵. استاندارد ملی ایران -جستجو و شمارش کلیفرم ها در آب به روش چند لوله ای - شماره ۳۷۵۹، سال ۱۳۷۴

۶. استاندارد ملی ایران -کیفیت آب - شمارش میکروارگانیزم های قابل کشت - شمارش کلنی با استفاده از تلقیح در محیط کشت آگار مغزی - شماره ۵۲۷۱، سال ۱۳۷۸

۷. کتاب راهنمای سیستم مدیریت کیفیت در آزمایشگاه های بهداشت آب وفاضلاب - مرکز سلامت محیط و کار، معاونت بهداشت وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی - سال ۱۳۹۷