



جمهوری اسلامی ایران
وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی
معاونت بهداشت



سازمان حفاظت محیط زیست
معاونت محیط زیست دریایی

راه‌نمای پایش آلودگی میکروبی آب‌های ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی



راهنمای پایش آلودگی میکروبی آب های ساحلی،

شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی

معاونت بهداشت

معاونت محیط زیست دریایی

تهیه کنندگان:

مهندس پروین مینای مطلق

مهندس غلامعباس رضایی

مهندس غلامرضا شتاتی

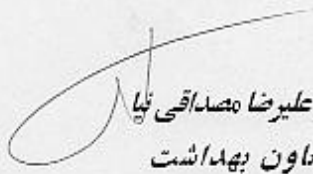
مهندس مریم یار احمدی

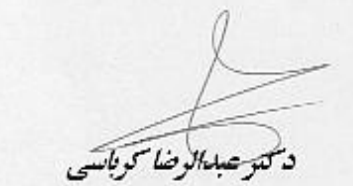
۱۳۹۰

پیش گفتار

از آنجا که سواحل دریاها و شنا بعنوان یکی از جاذبه های توریستی و گردشگری محسوب شده لذا با توجه به شناگاه های متعدد در استان های ساحلی و لزوم حفاظت از محیط زیست آنها و تاثیر آن بر سلامتی استفاده کنندگان لازم است اینگونه اماکن تحت کنترل مستمر باشند. با توجه به نقش سازمان حفاظت از محیط زیست در جلوگیری از آلودگی های زیست محیطی و نقش وزارت بهداشت بعنوان متولی سلامت مردم، راهنمای پایش آلودگی میکروبی آب های ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی با هماهنگی بین دو بخش مرکز سلامت محیط و کار وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و دفتر بررسی آلودگی های دریایی سازمان حفاظت محیط زیست به منظور نظارت و پایش میکروبی این محیط ها تهیه شده است. امید است با اجرای این دستورالعمل توسط کارشناسان و بازرسان دو سازمان در سراسر کشور شاهد حفظ و ارتقاء بهداشت و محیط زیست اینگونه اماکن باشیم.

لازم است از تهیه کنندگان راهنما که طی جلسات کارشناسی متعدد و مطالعه منابع مختلف این دستورالعمل را تهیه نمودند، سپاسگزاری نماییم و امیدواریم شاهد افزایش همکاری های مشترک بین دو سازمان مذکور در جهت حفظ و ارتقاء سلامت و محیط زیست در همه سطوح کشور باشیم. ارسال نظرات و پیشنهادها در خصوص دستورالعمل مذکور می تواند در ویرایش بعدی راهگشا باشد.


دکتر علیرضا مصداقی نیا
معاون بهداشت


دکتر عبدالرضا کربانی
معاون محیط زیست دریایی

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۵	مقدمه
۶	۱- مخاطرات میکروبی آبهای شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی
۷	۲- پایش آبهای شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی
۹	۳- اهداف و موضوعات اساسی برنامه پایش آلودگی میکروبی آبهای ساحلی
۹	۳-۱- بازرسی های محیطی
۹	۳-۲- تعیین شاخص میکروبی و روش های پایش آن
۱۰	۳-۳- تعیین فراوانی و تناوب نمونه برداری
۱۱	۳-۴- تغییرات و نوسانات زمانی
۱۱	۴- نمونه برداری
۱۱	۴-۱- تعیین محل های نمونه برداری
۱۲	۴-۲- روش نمونه برداری
۱۲	۴-۳- ثبت مشخصات نمونه
۱۳	۴-۴- شرایط نگهداری و انتقال نمونه های میکروبی به آزمایشگاه
۱۳	۵- روش آزمایش نمونه ها
۱۴	واژه نامه
۱۵	علائم اختصاری
۱۶	منابع

مقدمه

آلودگی محیط زیست یکی از اصلی ترین عوامل نابودی و تهدید جمعیت موجودات زنده است. این امر بویژه در مورد آلودگی های دریایی که بسیار آسانتر انتشار می یابند، حائز اهمیت است. آلودگی منابع دریایی نه تنها حیات آبریان را به نابودی می کشاند، بلکه حیات انسان را نیز به مخاطره انداخته و تهدید می کند بیش از ۱۶ درصد جمعیت کشور در استان های ساحلی استقرار یافته اند، از این رو توجه به کیفیت این ذخایر آبی که تحت تاثیر فعالیت های مختلف انسانی می باشند، بیش از پیش آشکار می گردد. تخلیه پسابهای صنعتی، شهری و کشاورزی که از سطح آلودگی قابل توجهی برخوردارند، از جمله عوامل مهم افت کیفیت منابع آبی بشمار می روند. در صورتی که این فاضلاب ها بدون توجه به رعایت ضوابط و معیارهای لازم به آب های ساحلی و دریا تخلیه گردد، موجب آلوده شدن کرانه های شهرهای ساحلی، محل های شنا، ماهی گیری و کاهش کیفیت آب دریا شده و نیز باعث بروز مشکلات و مخاطراتی برای سلامتی انسان ها می شود. استفاده از آبهای تفریحی شناگاه های آلوده به انواع میکروب با مخاطراتی برای استفاده کنندگان همراه است به همین دلیل پایش میکروبی آب های ساحلی و انجام آزمایش های باکتریولوژیکی در تمام سال و یا هنگام بهره برداری از شناگاه ها و تجزیه و تحلیل نتایج و تطبیق آن با حدود مجاز و استانداردها از نظر بهره برداری از شناگاه های مختلف اهمیت زیادی دارد. بر این اساس راهنمای پایش آلودگی میکروبی آبهای ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی تهیه و تدوین شده است و هدف از آن ایجاد وحدت رویه بین دو حوزه نظارتی وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی و سازمان حفاظت محیط زیست در زمینه پایش آلودگی میکروبی آبهای ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی به منظور حفاظت از سلامت مردم و محیط زیست است.



۱- مخاطرات میکروبی آب شناگاهها و مناطق تفریحی دریایی

آب شناگاه ها ممکن است به طور کلی حاوی گروهی از میکروارگانیسم های بیماریزا و غیر بیماری زا باشند. شناگاه های آزاد مانند شناگاه های ساحلی علاوه بر آلودگی توسط فاضلاب ممکن است توسط فضولات دامی و جانوری برای مثال فضولات پرندگان، جوندگان و ... نیز آلوده شوند. خطر ابتلای به بیماری و عفونت در شناگاهها در وهله نخست به آلودگی مدفوعی آب و راه یافتن فاضلاب انسانی و دامی مربوط است. منشاء آلودگی مدفوعی ممکن است خارجی باشد و یا شناگران عامل آن باشند. منشاء این میکروارگانیسم ها ممکن است به علت دفع فاضلاب و پساب، جمعیت شناگران، فضولات دامی (گاو، گوسفند، ...)، فرایندهای صنعتی، فعالیت های کشاورزی، جانوران اهلی (سگ، گربه و ...) یا جانوران وحشی باشد.

بیماریهای عفونی مرتبط با شناگاه ها ممکن است دارای منشاء ویروسی، باکتریایی، پروتوزوئی یا قارچی باشند. از مهم ترین عوامل عفونت های باکتریایی در میان شناگران شیگلا^۱، سالمونلا^۲، اشرشیاکلی^۳، استرپتوکوک مدفوعی^۴، کلستریدیوم پرفرنجنس^۵، کمپیلوباکتر^۶، لپتوسپیرا^۷ و استافیلوکوکوس اورئوس^۸ محسوب می شوند. از مهمترین عوامل عفونت های ویروسی شامل آدنو ویروس ها^۹، ویروس هپاتیت A^{۱۰}، نورو ویروس ها^{۱۱}، اکوویروسها^{۱۲}، و روتا ویروسها^{۱۳} می باشند.

از جمله عوامل پروتوزوئی یا قارچی شامل کریپتوسپوریدیوم^{۱۴} و ژیا ردیا^{۱۵} و آنتاموبا هیستولیتیکا^{۱۶} می باشد در شناگاه های بسته و مصنوعی مانند استخرهای سرپوشیده، عامل اصلی آلودگی، شناگران می باشند و به کارگیری روش های فیلتراسیون و ضد عفونی کردن آب و نظارت و مراقبت از محل و ارائه تذکرات لازم می تواند بخش عمده ای از دستورالعمل ها را به خود اختصاص داده و از آلودگی پیشگیری نماید. ولی در شناگاه های

¹ - *Shigella spp*

² - *Salmonella spp*

³ - *Escherichia coli O157*

⁴ - Faecal streptococci

⁵ - *Clostridium perfringens*

⁶ - *Campylobacter spp.*

⁷ - *Leptospira spp.*

⁸ - *Staphylococcus aureus*

⁹ - Adenoviruses

¹⁰ - Hepatitis virus

¹¹ - Neuroviruses

¹² - Echoviruses

¹³ - Rotaviruses

¹⁴ - *Cryptosporidium parvum* oocysts

¹⁵ - *Giardia lamblia* cysts

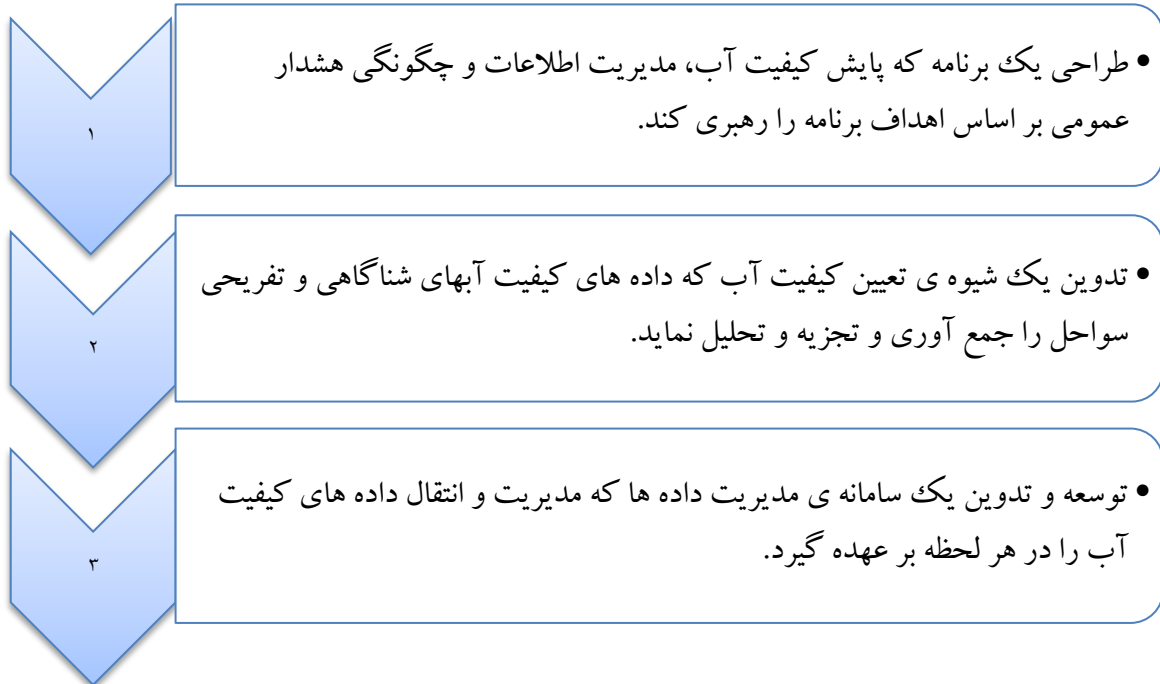
¹⁶ - *Entamoeba histolytica*

طبیعی مانند شناگاه های ساحلی می تواند به دلیل امکان وجود منابع آلودگی خارجی بسیار پیچیده تر باشد و دستورالعمل ها و مراحل کنترل پیچیده ای را نیز نیاز داشته باشد.

۲- پایش آب شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی

استفاده از شناگاه های طبیعی و آب های ساحلی دریایی در صورت آلوده بودن قادر است میکروارگانیسم های بیماری زا را به انسان انتقال دهد. این مسئله همواره نگرانی هایی را در خصوص استفاده افراد از آب های ساحلی بمنظور شنا و دیگر مصارف تفریحی در پی داشته است بر این اساس باید شناگاه ها را پایش نمود و از بروز آلودگی میکروبی در محیط های تفریحی آبی جلوگیری کرد. نتایج پایش های بعمل آمده مسئولین را نسبت به ضرورت اعمال اقدامات فوری برای تامین سلامت همگانی و کاهش مخاطرات آگاه می کند یا مشخص می کند که چه معیارهای کنترلی را در آینده باید مد نظر قرار دهند تا از بروز مخاطرات کاسته شود. کیفیت آب شناگاه ها را می توان با بکارگیری مجموعه ای از بازرسی های بهداشتی و کنترل کیفیت میکروبی آب به خوبی سامان داد. فرایند پایش کیفیت آب شناگاه در شکل (۱) نشان داده شده است.





تدوین و اجرای یک برنامه ی ارتباط جمعی برای هشدار دادن به مردم نسبت به خطرات احتمالی.

شکل (۱): فرآیند پایش کیفیت آب شناگاه ها

فرآیند پایش کیفیت آب شناگاه ها برنامه ای مناسب در جهت مدیریت بر استفاده از آب شناگاه هاست و می توان آن را به منظورهای زیر به کار برد:

- رتبه بندی شناگاه ها به منظور آگاهی همه مردم و دادن حق انتخاب به آنان
- اطلاع رسانی به شناگران
- کمک به شناسایی و تشویق مدیریت های شایسته در شناگاه ها
- الزامات قانونی و نظارت بر اجرای آن

در برخی موارد کیفیت میکروبی آب ممکن است به شدت تحت تاثیر عواملی نظیر بارندگی قرار گیرد که برای دوره کوتاهی منجر به افزایش سطح آلودگی می شود. تجارب کسب شده در برخی نواحی نشان داده است که اطلاع رسانی به مردم در مواقع مخاطره آمیز موثر است. افزون بر این در چنین شرایطی افراد نسبت به اطلاع رسانی پاسخ مناسب می دهند. در مکان هایی که امکان پیشگیری از خطرات ناشی از آلودگی انسان به مواد مدفوعی وجود داشته باشد، این ویژگی را باید در درجه بندی شناگاه ها به حساب آورد. طبقه بندی تلفیقی مبتنی بر بازرسی های بهداشتی و سنجش کیفیت میکروبی به همراه جلوگیری از شنا در زمان های افزایش خطر آلودگی، چارچوبی را برای سنجش کیفیت آب های شناگاهی ترسیم می کند.

۳- اهداف و موضوعات اساسی برنامه پایش آلودگی میکروبی

اهداف و موضوعات اساسی برنامه پایش آلودگی میکروبی آب های ساحلی و شناگاهی دریایی به صورت ذیل می باشد.

۳-۱- بازرسی های محیطی

براین اساس اطلاعات موجود در خصوص شناگاه شامل: نقشه و موقعیت آن، تعیین محل، زمان و میزان ورود فاضلاب ها، پساب ها و سیلاب ها به شناگاه ها و وضعیت بهداشتی آنها، جمع آوری گردیده و با بازرسی های محیطی از محل اطلاعات موجود تکمیل و تائید می گردد. در صورتی که اطلاعاتی وجود ندارد با بازرسی های محیطی اطلاعات جمع آوری شود.

۳-۲- تعیین شاخص میکروبی و روش های پایش آن

شاخص های میکروبی که برای پایش آلودگی شناگاه ها در نظر گرفته می شود باید دارای خصوصیات زیر باشد:

۱- ارگانسیم برای همه انواع آب مناسب باشد.

۲- ارگانسیم مورد نظر باید هر جا که پاتوژن ها وجود دارند، قابل جداسازی باشد.

۳- زمان بقای ارگانسیم باید از زمان بقای ارگانسیم های پاتوژن مقاوم بیشتر باشد.

۴- به راحتی قابل جداسازی و تشخیص باشد و روش استاندارد برای جداسازی و تشخیص آن وجود داشته باشد.

۵- روش انجام آزمایش کم هزینه و قابل دسترس باشد.

میکروارگانسیم های شاخص شامل آنتروکوک های روده ای، اشرشیاکلی، کلیفرم گرمایی، سالمونلا، آنترووایروس ها می باشند که از میان این ارگانسیم ها تنها آنتروکوک روده ای دارای خصوصیات فوق می باشد و برای پایش شناگاه ها از آن استفاده می شود. آنتروکوکوس ها یا به عبارتی استرپتوکوک مدفوعی به آن دسته از استرپتوکوک ها اطلاق می شود، که عموماً در مدفوع انسان و حیوانات خونگرم وجود دارند. همه آنها متعلق به آنتی ژن گروه D لانسفیلد می باشند. چون استرپتوکوکهای مدفوعی در روده انسان و حیوانات زندگی می کنند بنابراین می توانند شاخص خوبی برای تشخیص آلودگی باشند. استرپتوکوک های مدفوعی به ندرت در آب آلوده تکثیر می یابد و پایدارتر از اشریشیاکلی و باکتریهای کلیفرم است.

جدول ۱ نشان دهنده حداکثر میزان توصیه شده برای آب های شناگاه های ساحلی و تفریحی می باشد:

جدول ۱- رهنمود باکتریولوژی آب شناگاه های ساحلی و تفریحی (رهنمود سازمان جهانی بهداشت)

شاخص	میانگین تعداد در ۱۰۰ml
آنتروکوک روده ای	≤۴۰

۳-۳- تعیین فراوانی و تناوب نمونه برداری

تعداد نمونه و نیز تناوب نمونه برداری به منظور تعیین غلظت میکروارگانسیم های شاخص در شناگاه ها دارای اهمیت فراوانی است. تعداد نمونه ها با توجه به کیفیت میکروبی آب شناگاه ها تعیین می گردد چنانچه کیفیت میکروبی شناگاه ها دارای نوسان نباشد تعداد نمونه نیز ثابت می باشد در غیر اینصورت تعداد نمونه ها در طول سال تغییر خواهد کرد در جدول ۲ حداقل تناوب نمونه برداری در هر فصل نشان داده شده است.

جدول ۲ - تناوب نمونه برداری برای شناگاه های ساحلی و تفریحی

شاخص	تناوب نمونه برداری
آنتروکوک روده ای	۵ نمونه در هر فصل برای فصول شنا
آنتروکوک روده ای	۳ نمونه در هر فصل برای فصول غیر شنا

* در مواقع سیلاب، طوفان و حوادث غیر مترقبه تعداد نمونه برداری بر حسب ضرورت باید افزایش یابد.

۳-۴- تغییرات و نوسانات زمانی

فاکتورهای زمانی نمونه برداری (وقت و زمان روز ، تغییر یا نوسانات روز به روز) نیز هنگام نمونه برداری باید در نظر گرفته شود، زیرا بار میکروبی در ساعات مختلف روز به علت تابش اشعه خورشید متفاوت است. تحقیقات نشان داده است که میانگین شمارش باکتری های اشریشیاکلی در ساعت ۹ صبح ، ۲۳ درصد بیشتر از میانگین شمارش آن در ساعت ۱۲ بوده است (بعلت اثرات ماوراء بنفش نور خورشید).

۴- نمونه برداری

۴-۱- تعیین محل های نمونه برداری

نمونه برداری باید بیانگر کیفیت آب در مناطق تفریحی و شنا بوده و با توجه به مناطقی که دارای بیشترین تعداد شناگر هستند، صورت گیرد. همچنین بایستی محل ورود رواناب ها، تغییرات ناشی از جز و مد، تخلیه فاضلاب یا آلودگی های نقطه ای و غیر نقطه ای و شدت جریان باد ساحلی نیز مد نظر قرار گیرد.

۴-۲- روش نمونه برداری

- نمونه برداری از عمق ۱/۵ - ۱ متری آب که نشان دهنده بیشترین تعداد شناگر و استفاده کننده از آب است صورت گیرد.
- همچنین نمونه برداری از عمقی که قوزک پا را می پوشاند و مختص مناطقی است که توسط بچه ها مورد استفاده قرار می گیرد نیز باید صورت گیرد.
- عمق برداشت نمونه: نمونه ها از عمق ۳۰- ۲۰ سانتیمتری سطح آب برداشت می شوند.
- ظروف نمونه برداری توسط اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل شده، یا می توان ظروف را درون آون خشک به مدت یک ساعت در دمای ۱۷۰ درجه سانتیگراد قرار داد تا استریل شوند.
- استفاده از بطری های تمیز استریل شیشه ای یا پلی پروپیلنی درب دار با حجم مناسب و کافی (معمولا حجم نیم یا یک لیتری) برای تمامی نمونه ها ضروری است.

برای نمونه برداری میکروبی از آب های ساحلی و دریا، ابتدا باید بطری استریل را به صورت وارونه یا معکوس تا عمق نمونه برداری در آب فرو برده، سپس بطری را توسط چرخش (گردش) آن از پهلو به طرف بالا برای اجتناب از آلودگی پر نمایید. باید توجه داشت که برداشت نمونه از منطقه نزدیک به کف بستر یا ستون آب، ممکن است موجب آشفتگی و بهم خوردن رسوبات بستر شده و نتایج کاذبی را نشان دهد.

۴-۳- ثبت مشخصات نمونه

- ثبت مشخصات نمونه شامل موارد ذیل می باشد:
- برچسب زدن روی ظروف و بطری های نمونه برداری
- ثبت آدرس محل نمونه برداری
- ثبت ساعت و تاریخ نمونه برداری
- ثبت عواملی که نیاز به آزمایش دارند
- ثبت نتایج آزمایش هایی که ممکن است در محل اندازه گیری شوند مانند pH، دما و...
- ثبت نام و نام خانوادگی نمونه بردار
- ثبت مشاهدات و ملاحظات در محل مانند رنگ غیر طبیعی آب، شرایط آب و هوایی، وجود پرندگان در کنار ساحل، وجود جلبک در آب و...

۴-۴- شرایط نگهداری و انتقال نمونه های میکروبی به آزمایشگاه

در خصوص شرایط نگهداری موقت و انتقال نمونه های میکروبی به آزمایشگاه میکروبیولوژی باید نکات مهم زیر مورد توجه قرار گیرد:

- درجه حرارت مطلوب برای نگهداری موقت نمونه ها $5 \pm 0/3$ درجه سانتیگراد است.

- نمونه ها را باید از تابش نور مستقیم خورشید محافظت نمود و بلافاصله نمونه ها را با رعایت زنجیره سرد، سریع به آزمایشگاه انتقال داد.

- پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، نمونه ها می بایست در سریعترین زمان مورد آزمایش قرار گیرند و در غیر اینصورت در دمای ۵ درجه در یخچال قرار گیرند و از یخ زدن نمونه ها جلوگیری شود.

- باید دقت نمود که فاصله زمانی بین نمونه برداری و آزمایش نمونه ها در حد اقل زمان ممکن باشد. این مدت زمان معمولاً ۸ ساعت می باشد و نمونه ها نباید بیش از ۲۴ ساعت در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شوند.

۵- روش آزمایش نمونه ها

برای شناسایی و تشخیص آنتروکوک های روده ای (استرپتوکوک های مدفوعی) دو روش استاندارد ملی وجود دارد:

- ۱ - روش اول با توجه به استاندارد ملی شماره ۳۶۱۹ به روش غنی سازی در محیط مایع
- ۲ - روش دوم با توجه به استاندارد ملی شماره ۳۶۲۰ به روش صافی غشائی

واژه نامه :

Beach:	ساحل
Bathing Waters:	آبهای شناگاهی
Beach Registration:	مشخصات ساحل
Designing the Monitoring:	طراحی برنامه پایش
Environmental Health Assessment :	ارزیابی بهداشت محیط
Escherichia Coli:	باکتری اشریشیا کلی
Fecal Enterococci:	آنتروکوک مدفوعی
Fecal Streptococci :	استرپتوکوک مدفوعی
Monitoring:	پایش
Microbiological Monitoring:	پایش میکروبی
Microbiology:	میکروب شناسی
Objectives:	اهداف
Pollution:	آلودگی
Permissible Limit:	حد مجاز
Permissible Pollution:	آلودگی مجاز
Runoff:	رواناب
Sample:	نمونه
Sampling:	نمونه برداری
Sampling Procedures :	روشهای نمونه برداری
Sanitary Survey:	بررسی بهداشتی (ممیزی بهداشتی)
Staphylococcus aureus:	باکتری استافیلوکوکوس اورئوس
Standard Methods:	روش های استاندارد
Sewage:	فاضلاب
Sewer:	فاضلابرو
Source:	منبع ، کانون

علائم اختصاری :

BOD: biological oxygen demand

cfu: colony forming unit

E. coli: Escherichia coli

E. faecalis: Enterococcus faecalis

EC: Electrical Conductivity

ECC: European Committee of Environment

EHEC: Enterohemorrhagic Escherichia Coli

ETEC: Enterotoxigenic Escherichia Coli

EPA: Environment Protection Agency

EPEC: Enteropathogenic Escherichia Coli

DO: Dissolved Oxygen

ml: mililiter

MF: Membrane Filter

MPN: Most Probable Number

WHO: World Health Organization

منابع:

- ۱- معاونت محیط زیست دریایی، گزارش بررسی آلودگی میکروبی آبهای ساحلی دریای خزر (۱۳۸۶)، سازمان حفاظت محیط زیست.
- ۲- معاونت محیط زیست دریایی، گزارش بررسی کمی و کیفی شاخص های میکروبی اصلی و ثانوی در آبهای شناگاهی ساحل دریای خزر (۱۳۸۸)، سازمان حفاظت محیط زیست.
- ۳- معاونت محیط زیست دریایی، گزارش تدوین ضوابط و استانداردهای زیست محیطی آلاینده های میکروبی (۱۳۸۵)، سازمان حفاظت محیط زیست.
- 4- Bartram,J. and Ress, G.(eds), Monitoring of Bathing Waters, WHO and USEPA.
- 5- WHO/ROPME, Joint Workshop on Microbiological Monitoring of Coastal Waters, 29 July – 2 August 2006 Tehran, Iran.
- 6- Anonymous , Guidelines for Safe Recreational Water Environments. Vol. 1: Coastal and Fresh Waters , WHO , Geneva , 2003
- 7- MOOPAM (1999) , Manual of Oceanography Observation Pollutant Analysis Methods, Kuwait.