



جمهوری اسلامی ایران

وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی
معاونت بهداشت



سازمان حفاظت محیط‌زیست
معاونت محیط‌زیست دریایی

راهنمای پایش آلودگی میکروبی آب های ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی



راہنمای پایش آلوگی میکروبی آب‌های ساحلی،

شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی

معاونت بهداشت

معاونت محیط‌زیست دریایی

تهریه کنندگان:

مهندس پروین یینای مطلق

مهندس خلامعباس رضائی

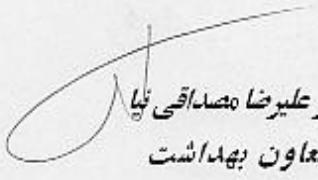
مهندس خلامرضا شعاعی

مهندس مریم یاراحمدی

پیش مختار

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 نزوم حفاظت از محیط زیست آنها و تأثیر آن برسلامتی انسداده کنتدگان لازم است اینگونه اماکن تحت کنترل مشتر 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 میکروی آب های ساحلی، شناگاهی و مناطق تفریحی دریایی با همراهی بین دو بخش مرکز سلامت محیط و کار وزارت بهداشت، درمان و آموزش پژوهشکی و دفتر بررسی آلودگی های دریایی سازمان حفاظت محیط زیست به منظور نظارت و پایش میکروی 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 کنتدگان راهنمای 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 درخصوص دستورالعمل مذکور می تواند در ویرایش بعدی راهگشا باشد.



دکتر عبدالرضا کرامی
معاون بهداشت



دکتر عبدالرضا کرامی
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

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 آبزیان 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 باشد، بیش از پیش آشکار می گردد. تخلیه پسابهای صنعتی، شهری و کشاورزی که از سطح آلودگی قابل توجهی برخور دارند، 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 شناگاه‌ها ممکن است به طور کلی حاوی گروهی از میکروارگانیسم‌های بیماریزا وغیر بیماری زا باشند. شناگاه‌های آزاد مانند شناگاه‌های 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 میکروارگانیسم‌ها ممکن است به علت دفع فاضلاب و پساب، جمعیت شناگران، فضولات دامی (گاو، گوسفند، ...)، فرایندهای صنعتی، فعالیت‌های کشاورزی، جانوران اهلی (سگ، گربه و ...) یا جانوران وحشی باشد.

بیماریهای عفونی مرتبط با شناگاه‌ها ممکن است دارای منشاء ویروسی، باکتریایی، پروتوزوئری یا قارچی باشند. از مهم‌ترین عوامل عفونت‌های باکتریایی در میان شناگران شیگلا^۱، سالمونلا^۲، اشرشیاکلی^۳، استرپتوكوک مدفوعی^۴، کلستریدیوم پرفرنجنس^۵، کمپیلوباکتر^۶، لپتوسپیرا^۷ و استافیلوکوکوس اورئوس^۸ محسوب می‌شوند. از مهمترین عوامل عفونت‌های ویروسی شامل آدنو ویروس ها^۹، ویروس هپاتیت A^{۱۰}، نورو ویروس ها^{۱۱}، اکوویروسها^{۱۲}، و روتا ویروسها^{۱۳} می‌باشند.

از جمله عوامل پروتوزوئری یا قارچی شامل کریپتوسپوریدیوم^{۱۴} و ژیاردیا^{۱۵} و آنتاموبا هیستولیتیکا^{۱۶} می‌باشد در شناگاه‌های بسته و مصنوعی مانند استخرهای سربوشیده، عامل اصلی آلودگی، شناگران می‌باشند و به کارگیری روش‌های فیلتراسیون و ضد عفونی کردن آب و نظارت و مراقبت از محل و ارائه تذکرهای لازم می‌تواند بخش عمدی از دستورالعمل‌ها را به خود اختصاص داده و از آلودگی پیشگیری نماید. ولی در شناگاه‌های

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*

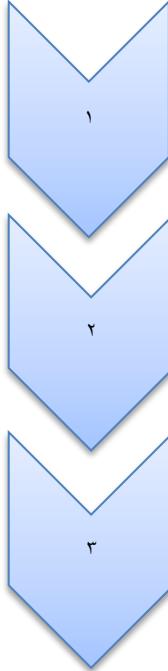
¹⁶- *Entamoeba histolytica*

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 میکرووارگانیسم های بیماری زا را به انسان انتقال دهد. این مسئله همواره نگرانی هایی را در خصوص استفاده افراد از آب های ساحلی بنظرور 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 بکار گیری مجموعه ای از بازرگانی 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 برنامه‌ی ارتباط جمعی برای هشدار دادن به مردم نسبت به خطرات احتمالی.

شکل (۱) : فرآیند پایش کیفیت آب شناگاه‌ها

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 موقع 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 مدفعی وجود داشته باشد، این ویژگی را باید در درجه بندی شناگاه ها به حساب آورد. طبقه بندی تلفیقی مبتنی بر بازررسی 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.

۱-۱- بازررسی 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 سیالاب ها به شناگاه ها و وضعیت بهداشتی آنها، جمع آوری گردیده و با بازررسی های محیطی از محل اطلاعات موجود تکمیل و تائید می گردد. در صورتی که اطلاعاتی وجود ندارد با بازررسی های محیطی اطلاعات جمع آوری شود.

۲-۲- 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- ارگانیسم برای همه انواع آب مناسب باشد.

- ۲- ارگانیسم مورد نظر باید هر جا که پاتوژن ها وجود دارند، قابل جداسازی باشد.
- ۳- زمان بقای ارگانیسم باید از زمان بقای ارگانیسم 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.

میکروارگانیسم های شاخص شامل آنتروکوک های روده ای، اشرشیاکلی، کلیفرم گرمپایی، سالمونلا، آنتروویروس ها می باشند که از میان این ارگانیسم 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 مدفععی به آن دسته از استرپتوکوک ها اطلاق می شود، که عموما در مدفعع انسان و حیوانات خونگرم وجود دارند. همه آنها متعلق به آنتیژن گروه D لانسفیلد می باشند. چون استرپتوکوکهای مدفععی در روده انسان و حیوانات زندگی می کنند بنابراین می توانند شاخص خوبی برای تشخیص آلودگی باشند. استرپتوکوک های مدفععی به ندرت در آب آلوده تکثیر می یابد و پایدارتر از اشرشیاکلی و باکتریهای کلیفرم است.

جدول ۱ نشان دهنده حداقل 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 میکروارگانیسم 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 موقع سیلاب، طوفان و حوادث غیر مترقبه تعداد نمونه برداری بر حسب ضرورت باید افزایش یابد.

۳- 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 (علت اثرات ماوراء بنفسن 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 مدنظر 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 سانتی گراد قرار داد تا استریل شوند.
- استفاده از بطری های تمیز استریل شیشه ای یا پلی پروپیلنی درب دار با حجم مناسب و کافی (معمولًا 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 برد، 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 $0/3 \pm 5$ درجه سانتیگراد است.

- نمونه ها را باید از تابش نور مستقیم خورشید محافظت نمود و بلا فاصله نمونه ها را با رعایت

زنگیره سرد، سریع به آزمایشگاه انتقال داد.

- پس از انتقال نمونه ها به آزمایشگاه، نمونه ها می باشند 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 دقیقت نمود که فاصله زمانی بین نمونه برداری و آزمایش نمونه ها در حداقل زمان ممکن

باشد. این مدت زمان معمولاً ۸ ساعت می باشد و نمونه ها باید 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 عشائی

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 اشتریشیا 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 Metods:	روش های استاندارد
Sewage:	faslab
Sewer:	faslabبرو
Source:	منع ، کانون

عَلَّامَ اخْتَصَارِي :

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 آلدگی 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.