

تاریخ بازنگری ۱۴۰۳/۰۷/۱۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: کنترل کیفی آب مقطر صفحه: ۱ از ۵
شماره سند:		بخش استقرار: آزمایشگاه مرجع
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

دستورالعمل آب مقطر

هدف:

کنترل کیفی آب مقطر، کشت و شمارش میکروارگانیسم های قابل رشد در آب

اقدامات وابسته:

Ph متر و محیط کشتهای مورد نیاز در بخش، کنترل کیفی میکروبی آب مقطر قبل از انجام آزمایش، می بایست کنترل کیفی شوند.

دستگاه آب مقطر گیری قبل از جمع آوری نمونه بین ۱ تا ۱۰ دقیقه باید کار کند.

دامنه ی کاربرد:

این دستورالعمل در آزمایشگاههای تشخیص طبی، درمانی و بهداشتی و نیز همه سازمانها، ارگانها و کارخانه ها و واحدهای بهداشتی، درمانی و تولیدی که از آب مقطر جهت محصولات خود استفاده میکنند کاربرد دارد.

تجهیزات و مواد لازم:

- PH متر
- دستگاه آب مقطر گیر
- محیط کشت
- شعله
- بن ماری یا انکوباتور

کلیات:

آب خالص یکی از مواد ضروری اولیه در بسیاری از فعالیتهای آزمایشگاهی بوده که درجه خلوص مورد نیاز آن باید متناسب با مورد مصرف آن باشد. کیفیت نامرغوب آب موجب اثرات نامطلوبی بر نتایج آزمایشها شده و از این رو، تضمین کیفیت آب مقطر مصرفی آزمایشگاه لازم و ضروری می باشد.

انواع روش های تهیه آب مقطر:

تاریخ بازنگری ۱۴۰۳/۰۷/۱۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: کنترل کیفی آب مقطر
شماره سند:		صفحه: ۲ از ۵
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: آزمایشگاه مرجع

برای تهیه آب مقطر می توان از روش های تقطیر، اسمز معکوس و دیونیزه کردن استفاده کرد که البته هیچ کدام از این روش ها به تنهایی معیارهای کمیته ملی استانداردهای آزمایشگاهی آمریکا را ندارند. برای تهیه آب مقطر نوع ۱ باید دو روش تخلیص را با هم استفاده نمود.

آب خالص به سه روش تهیه می شود:

تقطیر: در این روش ابتدا آب را جوشانده و سپس بخار آن را سرد می نماید. در این روش آهن، منیزیم و کلسیم و همچنین ارگانیسم ها برداشته شده، اما ناخالصی های فرار مانند دی اکسید کربن، کلر و آمونیاک جدا نمی شوند. آب به دست آمده از این روش نوع دو و سه می باشد.

دیونیزه کردن: در این روش، آب پس از عبور از بین ستون های رزینی که حاوی ذرات باردار منفی و مثبت است، عبور داده می شود. این ذرات با یون های موجود در آب ترکیب شده و آب نهایی حاصله دیونیزه خواهد بود. در این روش مواد عالی و سایر مواد غیر قابل یونیزه شدن برداشته و حذف نمی شوند. برای تهیه آب نوع ۱ باید از فیلتر غشایی و شارکول فعال استفاده کنیم.

اسمز معکوس: آب تحت فشار از غشای نیمه تراوا معمولا استات سلولز عبور داده می شود. این غشا حدود ۹۰٪ مواد جامد محلول ۹۹٪ ناخالصی های عالی و مواد غیرقابل حل و ارگانیسم های میکروبی را جدا می سازد.

روش اسمز معکوس، قادر به جداسازی گازهای محلول نبوده و فقط ۱۰٪ ذرات یونیزه را جدا می کند.

نگهداری آب نوع ۱: این نوع آب باید حداکثر ۲ الی ۳ ساعت پس از تهیه مصرف شود.

نگهداری آب نوع ۲ و ۳: این انواع آب مقطر را می توان در شیشه های بروسلیکاتی یا ظروف پلی اتیلنی با درب محکم نگهداری نمود، اما باید به سرعت مصرف شده تا از آلودگی میکروبی آنها با میکروبهای موجود در هوا جلوگیری شود. آب مقطر حداکثر یک هفته در ظروف پلاستیکی یا شیشه ای نگهداری می شود آب دیونیزه برای تعیین مقدار الکترولیت ها مناسب تر است.

تاریخ بازنگری ۱۴۰۳/۰۷/۱۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: کنترل کیفی آب مقطر صفحه: ۲ از ۵
شماره سند:		بخش استقرار: آزمایشگاه مرجع
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

بررسی مقاومت آب توسط هدایت سنج:

برای بررسی آب از هدایت سنج یا کنداکتمتر استفاده می شود که میزان هدایت آب را اندازه میگیرد هدایت با مقاومت نسبت عکس دارد.

مقاومت برای آب نوع ۱-۲-۳ به ترتیب ۱۰-۱-۰,۱ مگا اهم بر سانتی متر می باشد پس هدایت به ترتیب معادل ۱,۰-۵,۰-۱۰ میکروزیمنس بر سانتی متر خواهد بود اندازه گیری هدایت آب باید پس از اندازه گیری دما با دماسنج کالیبره و براساس دستورالعمل هدایت سنج صورت گیرد.

بررسی آلودگی میکروبی آب:

برای بررسی میکروبی می بایست اجازه داد آب برای حداقل یک دقیقه به راحتی از دستگاه خارج شود سپس در یک ظرف استریل ۱۰ میلی لیتر آب جمع آوری می شود آزمایش باید در مدت ۱ ساعت از جمع آوری آب انجام شود.

در صورت عدم امکان کشت در مدت ۱ ساعت، نگهداری برای ۶ ساعت در دمای ۲ الی ۸ درجه امکان پذیر است. بعد از مخلوط کردن آب (که با ۱۰ بار سروته کردن به دست می آید) ۲ میلی لیتر از آب مقطر در پتری دیش ریخته شود سپس ۱۸ میلی لیتر از محیط کشت ذوب شده را در دمای ۴۶ الی ۵۰ درجه با رعایت شرایط آسپتیک در پتری دیش ریخته می شود. (از محیط های کشت TSA, BHIA یا هر محیط کشتی که از رشد باسیل های گرم منفی پشتیبانی کند میتوان استفاده نمود).

با چرخاندن پتری دیش، آب را با محیط کشت مخلوط نمایید. توصیه می شود در هر ران کنترل کیفی یک نمونه به عنوان بلانک و شاهد کنترل منفی هم استفاده گردد. پس از سرد شدن و جامد شدن آگار پتری دیش به صورت وارونه و به مدت ۲۴ ساعت در دمای 36 ± 1 درجه سانتی گراد و سپس ۲۴ ساعت در دمای 23 ± 3 درجه سانتی گراد قرار می گیرد.

تفسیر آزمایش میکروبی :

بعد از ۴۸ ساعت اگر رشدی مشاهده شود تعداد کلنی ها را در کل پلیت شمارش کنید بعد عدد به دست آمده را بر ۲ تقسیم کنید تا تعداد کلنی ها در یک میلی لیتر از آب مقطر به دست آید.

تاریخ بازنگری ۱۴۰۳/۰۷/۱۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: کنترل کیفی آب مقطر
شماره سند:		صفحه: ۴ از ۵
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		بخش استقرار: آزمایشگاه مرجع

اگر تعداد کلنی ها زیاد باشد تنها ۱/۴ پلیت را شمارش کنید، تعداد کلنی ها را در ۴ ضرب کنید بعد عدد به دست آمده را دوباره تقسیم بر ۲ میکنیم تعداد کلنی ها در ۱ میلی لیتر از آب مقطر به دست می آید. توجه داشته باشید که نباید در نمونه بلانک رشدی مشاهده شود.

رشد میکروبی به صورت CFU/ml گزارش می شود.

Test	Frequency	Toierance limit		
		Type I	Type II	Type III
Bacterial Content (CFU/ml)	Weekly	≤ 10	≤ 1000	NS
PH	With use	NS	NS	5.0-8.0
Resistivity(MΩ-cm at25c°)	TypeI,daily(in -line) TypeII, daily (in-or off-line) TypeIII, with use (off-line)	10	1.0	0.1

شکل ۱- خصوصیات و دفعات انجام آزمایش کنترل کیفیت آب آزمایشگاهی

اندازه گیری PH آب:

استفاده از کاغذ PH و معرف های آلی نظیر متیل اورانژ، فنل فتالئین:

معرف های آلی دو نوع می باشند:

الف: معرف های بی رنگ مانند فنل فتالئین

ب: معرف های رنگی مانند متیل اورانژ و متیل بلو که حدود تغییر رنگ آنها را در محیط های مختلف میتوان شناخت کاغذهای PH، حدود PH را نشان می دهند کاغذهای PH همان معرف های آلی را در ساختمان خود دارند.

تغییر ساختمان ملکولی معرف ها، نه تنها تابع هیدروژن محیط بلکه تابع اکسیدان و احیا کننده محیط (مانند کلرور و ...) نیز می باشند. معایب این معرف ها عدم تشخیص رنگ در محیط های رنگی می باشد، بنابر این در این موارد باید از PH متر استفاده کرد.

تاریخ بازنگری ۱۴۰۳/۰۷/۱۵	 آزمایشگاه مرجع معاونت بهداشت	فرم: کنترل کیفی آب مقطر صفحه: ۵ از ۵
شماره سند:		بخش استقرار: آزمایشگاه مرجع
محدوده توزیع: تضمین کیفیت		

استفاده از PH meter

PH، مقدار یون هیدروژن در نمونه را اندازه‌گیری می‌کند PH مترها میبایست توسط محلول‌های استاندارد کالیبره شوند، به این محلولهای استاندارد بافر گفته می‌شود. به عبارت دیگر اگر تخمین زده می‌شود که سیستم مورد اندازه‌گیری دارای PH بین ۵ تا ۹ است PH بافرهای مورد استفاده میبایست در محدوده ۶ و ۱۰ باشد.

توجه: در بخش میکروب شناسی تاثیر نوع آب در عملکرد فرآیندها بطور کافی مستند نشده است. بنابراین برای جلوگیری از مشکلات ناشناخته توصیه می‌شود در صورت امکان از آب نوع ۱ استفاده شود

اما بطور واقع گرایانه اکثر آزمایشگاه‌های میکروب شناسی از آب دیونیزه که معیار های آب نوع ۲ را داشته باشد استفاده میکنند.

محدودیت ها وعوامل مداخله گر :

- جمع آوری آب مقطر از دبه متصل شونده به دستگاه آب مقطرگیری باعث نتایج مثبت کاذب در آزمایش میکروبی میشود.
- عدم رعایت شرایط استریلیزاسیون در جمع آوری و کشت میکروبی آب مقطر باعث نتایج مثبت کاذب میشود.
- عدم رعایت فاصله زمانی کشت نمونه آب تهیه شده از دستگاه آب مقطرگیری باعث نتایج مثبت کاذب می‌شود.
- آب استریل (برای مصارف دارویی) نباید به عنوان آب آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد. زیرا خصوصیات آب آزمایشگاهی را ندارد.

مراجع:

دستورالعملهای آزمایشگاه مرجع سلامت وزارت بهداشت

نام و امضاء تهیه کننده:	نام و امضاء تایید کننده:	نام و امضاء تصویب کننده:
حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه	حوریه قربانی - کارشناس آزمایشگاه علی حقی - کارشناس ارشد باکتری شناسی پزشکی	