Archive of SID

راندمان حذف کیست ژیاردیا از آب توسط فیلترهای نخی (yarn wound) ساخت داخل کشور با استفاده از روش اصلاح شده شیب غلظت سوکروز

دکتر محمدرضا شاهمنصوری[1]، حسینعلی یوسفی، حسین فرخ‌زاده

چکیده مقاله

مقدمه. ژیاردیا از مهمترین آلاینده‌های بیولوژیکی آب می‌باشد. مشکل اصلی تشخیص این انگل در آب، دستیابی به فیلترهای جدا کنندهٔ آن از آب می‌باشد. در این بررسی، عملیات طراحی و ساخت این فیلترها براساس استانداردهای توصیه شده و به‌منظوراستفاده در بررسی کیفیت بیولوژیکی آب آشامیدنی مناطق مختلف کشور انجام گرفت.

روشها. برای تعیین راندمان فیلترها، سیستم پایلوتی احداث گردید تا پارامترهای مورد نظر، بصورت کنترل شده بررسی شوند. تعداد معینی کیست با استفاده از لام هموسایتومتر شمارش و به آب مورد آزمایش در مخزن پایلوت اضافه می‌شد. پس از عبور دادن کل آب درون مخزن (حداقل ۴۰۰ لیتر) از روی فیلترهای مذکور که با استفاده از پمپ تحت فشار انجام می‌گرفت، فیلترها از پایلوت جدا و پس از انجام عملیات جداسازی نخ، شستشو و تغلیظ، کیست‌های بازیافتی شمارش و با توجه به تعداد اولیه، راندمان فیلتر تعیین شد. تشکیل رسوب بر روی فیلترها به علت مواد معلق موجود در آب و پنهان شدن کیست‌ها در تشخیص و شمارش آنها ممانعت به وجود می‌آورد و لذا، باعث شد تا روش شناور سازی با سوکروز برای جداسازی آنها از رسوب بکار گرفته شود. با توجه به خصوصیات مرفولوژیک کیست‌های در دسترس، روش مذکور از نظر غلظت لایه سوکروز، اثر دور و زمان سانتریفوژ بر میزان جداسازی کیست‌ها از رسوب نیز بررسی شد.

نتایج. راندمان حذف فیلتر در حدود ۵/۸۵±۸۰/۶۹ بود که بعنوان تجربه اول در ایران بسیار مناسب می‌باشد. در خصوص اصلاح روش شناورسازی با شیب غلظت سوکروز ۲/۵ مولار و زمان ۱۰ دقیقه و ۲۰۰۰ دور در دقیقه با حدود اطمینان ۹۵ درصد و راندمان ۴/۲۵±۸۹/۹۵ بهینه تشخیص داده شد.

بحث. مقایسه راندمان بدست آمده در این تحقیق با راندمان روشهای مختلف مرتبط با این روش در دنیا، مزیت فیلتر ساخته شده را با توجه به سهولت کاربرد آن در محلهای باز نشان می‌دهد. اصلاح روش جدا سازی کیست از رسوبات تشکیل شده بر روی فیلتر با استفاده از روش شیب غلظت سوکروز با توجه به خصوصیات مرفولوژیکی و چگالی کیست‌ها در هر منطقه مهم بوده و بهینه نمودن غلظت سوکروز و دور و زمان سانتریفوژ الزامی به نظر می‌رسد.

● *واژه‌های کلیدی. ژیاردیا، فیلتر نخی، شیب غلظت سوکروز، بهداشت محیط، بهسازی آب، اصفهان.*

مقدمه

انگل تک سلولی ژیاردیا یکی از مهمترین آلاینده‌های بیولوژیکی آب می‌باشد. این انگل به فرم تروفوزوئیت (یا فعال) در بدن میزبان خود فعالیت نموده و پس از تکثیر به فرم کیست از بدن میزبان دفع می‌گردد. کیست‌های انگل ژیاردیا و همچنین اووسیت کریپتوسپریدیم معمولاً در محیطهای آبی اعم از آبهای خام و تصفیه شده یافت می‌شوند (۱-۵).

وجود انگل در آب آشامیدنی باعث شیوع همه‌گیریهای متعدد در نقاط مختلف جهان شده است. بعنوان مثال در فاصله سالهای ۱۹۷۱ تا ۱۹۸۵ بیش از ۵۰ درصد همه‌گیریهایی که بواسطه مصرف آبهای سطحی در آمریکا رخ داده در اثر آلودگی با کیست این انگل بوده است (۶). همچنین ژیاردیا در فاصله سالهای ۱۹۹۰-۱۹۸۹ و ۱۹۹۴-۱۹۹۳ به ترتیب مسؤول ایجاد ۲۷ و ۱۶/۶ درصد همه‌گیریهایی ناشی از آب بوده است (۶). شیوع انگل ژیاردیا در جهان را ۷/۲ درصد تخمین می‌زنند. در بررسیهای انجام شده در سالهای اخیر، آلودگی به این تک‌یاخته را در کشورهای مختلف بین ۵ تا ۴۳ درصد گزارش کرده‌اند (۶). شیوع آن در نقاط مختلف ایران از ۱۵/۸ تا ۳۳/۶ درصد گزارش شده است (۷). بررسی دیگر در سطح کشور، متوسط شیوع آلودگی به انگل ژیاردیا را ۱۴/۷ نشان می‌دهد (۷).

ارتباط میان شیوع بیماری و آب بعنوان یک عامل انتقال تا به حال بررسی نشده است. تنها گزارشی که در مورد آلودگی منابع آب به این انگل در کشور منتشر شده، بررسی شیوع آن در منابع آب یکی از شهرها بوده که آلودگی تقریباً ۱۵ درصدی را نشان می‌دهد (۸).

ژیاردیا از مخازن مختلف (انسان و حیوان) و از طرق مختلف (فاضلابهای انسانی، صنعتی، کشاورزی) به منابع آب راه پیدا می‌نمایند (۸). لذا، تعیین مسیرهای آلودگی بسیار مشکل بوده و نیاز به مطالعات اپیدمیولوژی وسیعی دارد. به علت محدودیت مطالعات، اطلاع کمی از شیوع این انگل در منابع آبی کشور داریم.

مشکل اصلی تشخیص این انگل در آب، دستیابی به فیلترهای جدا کنندهٔ آن از آب می‌باشد. در این بررسی، عملیات طراحی و ساخت این فیلترها بر اساس استانداردهای توصیه شده و به منظور استفاده در بررسی کیفیت بیولوژیکی آب آشامیدنی مناطق مختلف کشور انجام گرفت.

۱ - گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی استان اصفهان، اصفهان.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. مقایسه راندمان عملکرد فیلترهای نخی ساخته شده بدو روش اصلاح شده شیب غلظت سوکروز و رؤیت‌مستقیم

میانگین درصد راندمان دو روش	اصلاح شده شیب غلظت		روش شمارش رؤیت مستقیم		تعداد کیست اضافه شده به نمونه آب $cyst\times10^4$
	درصد راندمان	$cyst\times10^4$	درصد راندمان	$cyst\times10^4$	
۷۸/۱	۷۴	۱۳/۲	۸۲/۲	۱۴/۸	۱۸
۷۴/۹۸	۷۲/۲	۲۵/۹	۷۷/۷۷	۲۸	۳۶
۸۹/۴	۹۱/۳	۲/۱	۸۷/۵	۲۰/۱	۲۳
۸۳/۸	۸۱/۵	۲/۶	۸۶/۱	۲۷/۵	۳۲
۷۷/۲	۷۸	۲/۱۸	۷۶/۴	۲۱/۳	۲۸
۸۰/۶۹±۵/۸۵	۷۹/۳±۷/۵	-	۸۱/۹۹±۴/۹	-	Mean±SD

روشها

فیلتر و پایلوت. برای ساخت فیلترها از میان نخهای توصیه شده در منابع استاندارد (۹-۱۳)، نخ پلی‌آمید بواسطه اینکه موانع کمتری در هنگام برش و شستشوی فیلتر ایجاد می‌نماید، بعنوان ماده اولیه ساخت فیلتر مورد استفاده قرار گرفت. فیلترها با استفاده از یک هسته نگهدارنده از جنس سرامیک (مولایت) تهیه گردید. راندمان عملکرد فیلتر توسط پایلوتی تعیین شد که بدین منظور طراحی و ساخته شده بود (شکل ۱).

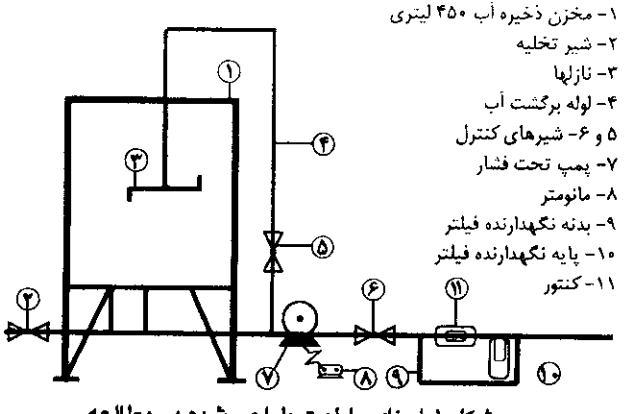
این پایلوت شامل بود بر مخزن ذخیره آب ۴۵۰ لیتری، شیر تخلیه، نازلها، لوله برگشت آب، شیرهای کنترل جریان، پمپ تحت فشار، مانومتر، بدنه نگهدارنده فیلتر، پایه نگهدارنده فیلتر، کنتور و لوله خروجی.

پایلوت مجهز به یک مخزن ۴۵۰ لیتری بود تا حداقل مقدار نمونه توصیه شده، یعنی ۱۰۰ گالن یا ۳۷۸ لیتر را برای فیلتراسیون تأمین نماید (۹). مخزن از طریق یک پمپ تحت فشار به بدنه فیلتر متصل شده و آب را به آن منتقل می‌نمود. برای تنظیم فشار و دبی ورودی به فیلتر بر طبق توصیه‌های استاندارد (فشار حداکثر psi ۲۱ و دبی ۴ لیتر در دقیقه) دو شیر کنترل جریان و یک لوله برگشت در نظر گرفته شد. بوسیله دو نازلی که در خلاف جهت و در انتهای لوله برگشت قرار داده شد شرایط هموژن بواسطه چرخش آب در محتویات مخزن فراهم می‌گردید. برای تعیین راندمان عملکرد فیلتر پس از پُر نمودن مخزن از آب، مقدار معینی کیست که از مدفوع بیماران جدا شده (به‌روش فرمل اتر یا شناورسازی با سوکروز) با لام نئوبار شمارش و به آب درون مخزن اضافه گردید. سپس در شرایط کنترل شده، آب از روی فیلتر عبور داده می‌شد.

پس از اتمام فیلتراسیون، فیلتر از بدنه جدا شده و با حفظ آن از آلودگی احتمالی به یک ظرف لبه‌دار استیل منتقل و فیلتر نخی بصورت طولی بریده می‌شد. نخها یک درصد به دو قسمت تقسیم و ابتدا در یک لیتر محلول Tween 80 یک درصد در آب مقطر به مدت ۱۰ دقیقه و سپس در ۱/۵ لیتر محلول شستشو Elution Solution (۳۰۰ میلی‌لیتر محلول یک درصد Tween 80 و ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول یک درصد SDS و ۲۴۰ میلی‌لیتر PBS×۱۰ با ۲۱۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی مخلوط کرده با سود یا اسید کلریدریک نرمال pH بر روی ۷/۴ تنظیم و سپس به حجم ۳ لیتر رسانده شد) به مدت ۱۵ دقیقه مجدداً شسته می‌شد. در ادامه، نخها جدا شده و مایع استحصالی بوسیله لوله‌های ۷۰ میلیمتری مخروطی به مدت ۵ دقیقه و با دور ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و تغلیظ می‌شدند. رسوبات بدست آمده بدو روش رؤیت مستقیم و روش اصلاح شده شیب غلظت سوکروز از نظر وجود کیست و شمارش آن بررسی شد.

در روش اول رسوب بدست آمده (حدود ۱ تا ۳ میلی‌لیتر) بوسیله آب مقطر استریل به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از هموژن نمودن آن با شیکر در ۱۰ لوله تقسیم و بوسیله لام نئوبار کیست‌ها با رؤیت مستقیم شمارش می‌شد. سپس تمامی اعداد بدست آمده با هم جمع و با مقایسه با شمارش اولیه راندمان تعیین می‌گردید. در این روش مشکل پنهان شدن کیست‌ها در رسوبات و همچنین وجود ارگانیزمهای مشابه کیست عمل شمارش را با مشکل فراوان مواجه می‌ساخت. لذا باعث گردید تا سنجش راندمان فیلتر پس از اصلاح روش شناورسازی با محلول سوکروز مجدداً مورد ارزیابی قرار گیرد (جدول ۱).

جدا سازی کیست ژیاردیا از رسوبات فیلتر با استفاده از روش اصلاح شده شیب غلظت سوکروز. در این روش رسوبات بدست آمده در مقدار معینی آب مقطر استریل (تقریباً ۳ میلی‌لیتر) مجدداً معلق شده و بصورت لایه‌ای (Overlying) بر روی غلظت معینی از سوکروز قرار گرفته و سپس در دستگاه سانتریفوژ قرار داده می‌شد.



شکل ۱. اجزای پایلوت طراحی شده در مطالعه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲. درصد جداسازی کیست ژیاردیا بر حسب دور و زمان سانتریفوژ با استفاده از رسوبات فیلترهای نخی مورد آزمایش در غلظت ۲/۵ مولار سوکروز

دور در دقیقه	زمان (دقیقه)			
	۵	۱۰	۱۵	۲۰
۱۰۰۰	٪۸۵/۷	٪۸۲	٪۸۸	٪۹۱
۱۵۰۰	٪۷۷/۱	٪۸۳/۱۵	٪۹۹	٪۹۴
۲۰۰۰	٪۸۱/۴	٪۱۰۰	٪۹۵/۵	٪۶۴/۱۷
۲۵۰۰	٪۶۵	٪۷۷	٪۶۷/۷	٪۴۸/۵
۳۰۰۰	٪۹۰	٪۸۱	٪۷۷	٪۸۱/۴

درصدهای ارائه شده در جدول مربوط به درصد کیست‌های بازیافتی در حلقه دو لایه سوکروز می‌باشد. مبنای محاسبات بررسی و شمارش کیست‌ها در سه لایه (لایه رویی + حلقه، لایه سوکروز و رسوبات) بوده که بعلت تعدد داده‌ها از آوردن آنها خودداری شده است.

بواسطه تفاوت دانسیته کیست انگل و رسوب نسبت به سوکروز، باعث حرکت آنها در جهت معکوس می‌شود. رسوب به علت سنگینی به سمت ته لوله و انگل به علت دانسیته کمتر به طرف بالا حرکت می‌نماید. در این تحقیق به رسوبات بدست آمده از فیلترهای آب بصورت دستی تعداد معینی کیست اضافه شد. ابتدا در یک دور و زمان معین غلظت بهینه تعیین شد. پس از انتخاب غلظت بهینه، اثر دور و زمان بر روی تحرک کیست و رسوب در لوله‌های سانتریفوژ مورد بررسی قرار گرفت. از بررسی لایه‌های مختلف تشکیل شده در لوله (لایه‌رویی، حلقه، سوکروز و رسوب) و شمارش کیست‌ها و تعیین راندمان جداسازی، مناسبترین دورها و زمانها انتخاب گردید. سه مرحله از بهترین نسبتها مجدداً ده بار تکرار گردید تا بهترین دور و زمان با توجه شاخصهای آماری تعیین گردد.

نتایج

در این تحقیق جنس فیلتر نخی طراحی شده پس از بررسیهای فراوان از نخهای پلی‌آمیدی شماره ۹ و ۱۲ انتخاب گردید. ضمن اینکه ساخت فیلتر بصورت دو لایه‌ای مناسب تشخیص داده شد. بطوری که می‌توانست حجم آب مورد تصفیه را بر اساس دبی و فشار حداکثر استاندارد (۴-۱۰L/min و فشار ۲۱PSI) از خود عبور دهد. پس از تأمین شرایط هیدرولیکی مناسب توسط فیلتر با توجه به آزمایشهای فنی، راندمان فیلترها از نظر حذف کیست ژیاردیا بررسی شد.

راندمان ۵/۸۵±۸۰/۶۹ درصدی بدست آمد (جدول ۱) که با توجه به اینکه اولین تجربه در نوع خود می‌باشد راندمان مناسبی به نظر می‌آید.

در خصوص اصلاح جداسازی کیست از رسوبات تشکیل شده بواسطه مواد معلق درون آب بر روی فیلترها با استفاده از شیب غلظت سوکروز، با انجام بیش از سیصد مورد آزمایش دور و زمان بهینه تعیین و سپس نسبتهای انتخابی ده مرتبه دیگر تکرار شد (جدول ۲). نهایتاً سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه و زمان ۱۰ دقیقه و غلظت ۲/۵ مولار سوکروز با حدود اطمینان ۹۵ درصد و محاسبه به روش برآورد طبیعی با راندمان عملکرد ۴/۲۵±۸۹/۹۵ (Cornfeld Method) بهینه تشخیص داده شده و بهمراه روش رؤیت مستقیم در تعیین راندمان فیلتر بکار گرفته شد (جدول ۱). برای بدست آوردن حداکثر بازیافت کیست باید هر سه قسمت مایع رویی، حلقه و لایه ساکاروز با هم مورد بررسی قرار گیرد.

بحث

هدف از انجام این بررسی طراحی و تهیه فیلتری برای حذف ژیاردیا از نمونه‌های آب بود. اکثر روشهای تشخیصی مرتبط که از این فیلتر (فیلتر نخی کاتریج) بعنوان وسیله جمع‌آوری نمونه استفاده کرده، بازده را ۵ تا ۵۰ درصد گزارش نموده‌اند (۹، ۱۱). در این مطالعه، راندمان ۵/۸۵±۸۰/۶۹ این فیلتر بعنوان تجربه اول موفقیت‌آمیز به نظر می‌رسد. گرچه این فیلتر از نظر بازده شاید با دیگر روشهای جمع‌آوری (نظیر فیلترهای غشایی) از نظر راندمان برابری ننماید ولی بواسطه سهولت کاربرد در محیطهای باز (فیلد) قابل رقابت می‌باشد.

نکته‌ای که باید به آن اشاره گردد، عواملی است که باعث تلفات کیست انگل در عملیات راندمان سنجی شده که به تبع آن سبب کاهش محاسبات مربوط به بازده حقیقی فیلتر می‌شود. از آن جمله به عواملی نظیر آماری بودن شمارش اولیه کیست‌ها با لام هموساتیومتر، چسبیدن کیست‌ها به جداره داخلی سیستم پایلوت، برخورد کیست‌ها با تیغه‌های پمپ، تلفات کیست در طی عملیات جداسازی، شستشو و تغلیظ محلول شستشوی فیلترها، پنهان شدن کیست‌ها در لابلای رسوبات و مشابهت این کیست با بعضی ارگانیزمهای موجود در آب می‌توان اشاره نمود. در مورد اصلاح روش جداسازی کیست از رسوبات تشکیل شده بر روی فیلترها بواسطه مواد معلق آب با استفاده از شیب غلظت سوکروز باید اشاره نمود که معمولاً در روشهای تشخیصی آزمایشگاهی برای بیماران از غلظتهای ۰/۵ تا ۰/۷۵ و یک مولار استفاده می‌گردد (۱۲). اختلاف دانسیته رسوبات آب با مدفوع از یک طرف و تغییرات مرفولوژیکی کیست‌ها بواسطه سازش با محیط در مناطق مختلف باعث استفاده از غلظتهای بالاتر سوکروز و بعنوان یکی از مواد استفاده در تکنیک شناورسازی در انگل شناسی شده است (برای استفاده از روش شناورسازی در جداسازی انگلها از آب، از محلولهایی نظیر پرکول-سوکروز، سوکروز- سولفات روی و سیترات پتاسیم می‌توان استفاده نمود) (۱۲).

در گذشته، روش شناورسازی مورد استفاده در آزمایشهای آب استفاده از محلول سولفات روی بود (۱۳). ولی بعلت اینکه تماس طولانی کیست‌ها با این محلول موجب تغییر شکل آنها می‌شد، امروزه کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای سهولت دسترسی به سوکروز می‌توان بعنوان جایگزین از شکر معمولی استفاده کرد. در طی این بررسی انواع غلظتهای ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ مولار مورد بررسی قرار گرفت که غلظت سه مولار نتایج بسیار مناسبی داشت. ولی بعلت مشکل تهیه آن و همچنین پلاسمولیز شدن کیست‌ها در مجاورت طولانی مدت با آن مورد تأیید قرار نگرفت.

عملیات شناورسازی معمولاً باید در مجاورت سرما و یا در یخچال و سانتریفوژ یخچال‌دار صورت پذیرد ولی بعلت عدم دسترسی به موارد فوق،

www.SID.ir

Archive of SID

محلولهای سوکروز در دمای ۱۵°C- نگهداری می‌شد که پس از خروج از یخچال و آب شدن آن (دمای صفر درجه) آزمایشها صورت پذیرفت تا در طی سانتریفوژ حداقل دمای ۴°C حفظ گردد. افزایش دمای محیط و همچنین دمای دستگاه بعلت کارکرد آن باعث بهم آمیختن کیست‌ها و محلول سوکروز می‌شود، لذا باید ضمن بررسی لایه رویی و حلقه، لایه سوکروز نیز پس از رقیق‌سازی (برای جلوگیری از شناورسازی مجدد کیست‌ها) و سانتریفوژ، از نظر وجود کیست مورد بررسی قرار گیرد.

در بسیاری از کشورها بدون توجه به مرفولوژی سازش یافته این انگلها با محیط از دستورالعملهای تهیه شده در سایر کشورها برای جداسازی کیست استفاده می‌شود. در این بررسی سعی شد با توجه به کیست‌های جدا شده از بیماران ایرانی که می‌تواند نشانه‌ای از کیست‌های آلوده کننده آب باشد از جدولی نظیر جدول ۲ و شمارش کیست‌ها، در لایه‌های مختلف تشکیل شده در استفاده از تکنیک شناورسازی در لوله‌های سانتریفوژ، ابتدا برای بهینه نمودن غلظت سوکروز و سپس اثر دور و زمان استفاده گردد تا نتایج بطور حقیقی قابل بسط و بحث در کشور باشد.

با توجه با بازده نسبتاً خوب فیلترهای تهیه شده در حذف کیست انگل ژیاردیا و سایر انگلهای شاخص آلودگی آب (اندازه‌های بالاتر) ساخت و توسعه آن در کشور امکان‌پذیر و اقتصادی می‌باشد. ضمناً با توجه به نتایج حاصل، به نظر می‌رسد کیست‌های انگل در نقاط مختلف بواسطه شرایط محیطی از نظر مورفولوژی و چگالی تغییر یافته و باید به این خصوصیات هنگام استفاده از روشهای شناورسازی توجه شده و غلظت محلول شناورسازی، دور و زمان سانتریفوژ بهینه گردد.

قدردانی و تشکر

از کلیه عزیزانی که در اجرای این طرح ما را یاری نمودند، مدیریت دانشکده بهداشت اصفهان، گروه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی اصفهان و آقای محسن محمودی عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران (مرکز اصفهان) تشکر و قدردانی می‌گردد.

مراجع

1- Anon S. Isolation and identification of Giardia cysts, cryptosporidium oocyt and free living pathogenin ameobae in water etc. HMSO J London 1990.

2- Leche vellier M, Norton W, Lee RG. Occurence of giardia and cryptosporidium spp in surface water supplies. Env Microbio J 1995; 57: 2160-2616.

3- Ahmad RA. Pathogenic protozoa in malaysian water resources. Sains Malaysiana J 1995; 24: 121-127.

4- Issac Renton J, Moorhead W, Ross A. Longitudinal studies of giardia contamination in two community drinking water supplies, cyst levels, parasite variability and health impact. Appl Env Microbiol J 1996; 62: 47-54.

5- Ahmad RA, Lee E, Tan ITL, Mohamad Kamel AG. Occurrence of giardia cysts and cryptosporidium oocysts in raw and treated water from two water treatment plant in selangar malaysia. Wat Res J 1997; 31:3125-3136.

6) Bitton G. Wastwater microbiology. 2nd Ed. Wiley Liss 1999; 110-113.

۷ـ گروه مؤلفان. اپیدمیولوژی بیماریهای شایع در ایران. مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ۱۳۷۲؛ ۱۱۵ـ۱۲۰.

۸ـ فلاح م. ارزیابی یک روش ساده برای جستجوی کیست، اووکیست تک یاخته‌ها و تخم کرمها در آب آشامیدنی شهری. فصلنامه آب و فاضلاب ۱۳۷۸؛ ۳۰: ۳۹-۴۳.

9- Gardon AM. DRINKING WATER MICROBIOLOGY. New York, Springer Verlag Inc. 1990: 271-284.

10- Andrew D, Eaton L, Clesceri S. STANDARD METHOD FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 19th Ed. APHA, AWWA, WEF 1995: 9711B.

11- AWWA. Giardia lumblia in water supplies detection, occurrence and removal. Technical Resource Book 1985.

12- Herley G, Sheffield M. ULTRASTRUCTURE OF THE CYST OF GIARDIA LUMBELIA. J AMERICAN TROPIC MEDICIN & HYGIENE 1977; 25: 23-30.

13- Greenberg AE, Clesceri LS, Eaton AD. STANDARD METHOD FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER. 18th Ed. APHA, AWWA, WEF 1992: 9711B.

www.SID.ir