

بررسی قابلیت جایگزینی روش Presence Absence Test با روش تخمیر ۵ لوله ای در آزمون احتمالی باکتریولوژیک شبکه توزیع آب مشروب

دکتر علیرضا رحمانی *

چکیده:

این تحقیق که یک مطالعه کاربردی است به منظور بررسی قابلیت جایگزینی روش Presence Absence Test با روش تخمیر ۵ لوله ای در آزمون باکتریولوژیک شبکه توزیع آب مشروب که در حال حاضر روش رایج در آزمایشگاههای آب و فاضلاب می باشد انجام شده است. آزمونهای باکتریولوژیک آب مشروب بر اساس جستجو، شمارش و تشخیص شاخص آلودگی آب (کلیفرم) انجام می شود. در روشهای موجود جهت برداشت نمونه و انتقال آن به آزمایشگاه، آماده سازی محیطهای کشت مصرفی و انجام کشت نیاز به وسایل و عملیاتی می باشد. گاهی اوقات این عوامل در اجتماعات کوچک به عنوان فاکتور محدود کننده عمل کرده و کنترل کیفیت باکتریولوژیک آب را دچار مشکل می سازد.

مدت اجرای عملیات طرح مجموعاً ۳ ماه بود و ۲۶۳ نمونه آب با استفاده از دو روش تخمیر ۵ لوله ای و P-A مورد بررسی باکتریولوژیک قرار گرفت.

نتایج بدست آمده از این آزمایشات نشان می دهد که حساسیت روش P-A در مقایسه با روش تخمیر ۵ لوله ای در تائید نمونه های مثبت ۷/۰۱٪ بیشتر می باشد. مدت زمان نگهداری محیط های کشت آماده نیز ۴۰ روز برآورد گردید.

بالا بودن مدت زمان نگهداری محیط های کشت در مناطق دور، سادگی عملیات و عدم نیاز به تائید آزمایشات مثبت و همچنین مقایسه دو روش از لحاظ پارامترهای کیفی و کمی، مزیت های روش P-A را نسبت به روش تخمیر ۵ لوله ای تائید می نماید.

کلیدواژه ها: آلودگی آب / تصفیه آب / کلیفرم

مقدمه:

تا از طریق آن بتوان کنترل کیفیت باکتریولوژیک آب را انجام داد. آزمایشات باکتریولوژیک آب بر مبنای جستجو، شمارش و تشخیص شاخص آلودگی آب (کلیفرم)

تائید این مطلب که آلودگی میکروبی می تواند از طریق آب به انسان منتقل شود، منجر به توسعه روشهایی شده

کشت بریلیانت گرین نیز انجام می گرفت. بنابراین دو سری آزمایش احتمالی و تائیدی به دنبال یکدیگر انجام می پذیرفت. تست احتمالی مشاهده تخمیر و تست تائیدی، تائید گرم منفی بودن باکتری بود. جدول ۱ ارقام محتملترین تعداد کلیفرم در یک صد میلی لیتر نمونه آب را برای انواع ترکیب لوله های مثبت و منفی در روش ۵ لوله ای نشان می دهد(۵).

جدول ۱: ارقام MPN / 100 ml برای انواع ترکیب لوله های مثبت و منفی در روش تخمیر ۵ لوله ای

تعداد لوله های مثبت	MPN/ 100ml
۰	۰
۱	۲/۲
۲	۵/۱
۳	۹/۰
۴	۱۶
۵	غیرقابل تعیین

اساس روش P-A بررسی کیفیت میکروبی یک حجم ۱۰۰ میلی لیتری از نمونه مورد نظر در محیط کشت مناسب است که نتیجه ای کیفی از حضور یا عدم حضور کلیفرمها را در اختیار می گذارد. در تهیه محیط کشت ترکیب زیر مورد استفاده قرار گرفت: (۳،۶)

لاکتوز برات	۱۳ گرم
لوریل تریپتوز برات	۱۷/۵ گرم
برمو کریزول پاربل	۰/۰۰۸۵ گرم
آب مقطر	۱ لیتر

وقتی انجام آزمایش بر روی ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه آب مورد نظر باشد این محیط باید با غلظت ۳ برابر ساخته شود. ابتدا لاکتوز برات و لوریل تریپتوز برات را در آب مقطر حل کرده و سپس ۰/۰۰۸۵ گرم برموکریزول را که قبلا در ۱۰ میلی لیتر از سود ۰/۱ نرمال حل کرده ایم به برات اضافه می کنیم. این محیط را در حجم های ۵۰ میلی لیتر در بطریهای ۲۵۰ میلی لیتری تقسیم می کنیم. pH این محیط بعد از استریل کردن باید $6/8 \pm 0/2$ باشد. این محیط را بمدت ۱۲ دقیقه در ۱۲۱ درجه سانتیگراد استریل می کنیم. رنگ محیط کشت در این مرحله قرمز می باشد. جهت انجام آزمایش ۱۰۰ میلی لیتر از نمونه را به محیط کشت P-A برات درون بطری اضافه نموده و آن را چند بار سروته

استوار می باشد. این آزمایشات بطور عمده به دو روش تخمیر چند لوله ای و روش صافی غشایی تقسیم بندی گردیده که نتایج هر دو آزمون بر مبنای محتمل ترین تعداد در صد میلی لیتر گزارش می گردد(۳-۱). در هر دو روش جهت انجام آزمون نیاز به اقداماتی قبل از نمونه برداری، در حین نمونه برداری، انتقال نمونه به آزمایشگاه، آماده سازی محیطهای کشت و انجام کشت بوده که در نتیجه آن نیاز به وجود دستگاههای بیشتر، انجام مراحل کشت و... می باشد. این اقدامات در پاره ای از موارد به معنی فاکتور محدود کننده در تکرار پذیری، توسعه و گسترش انجام آزمون و صرف وقت و هزینه مرتبط با آن می باشد. بنابر این جایگزینی روشهایی که هر چه بیشتر وابستگی را کاهش دهد به منزله صرفه جویی در وقت و بودجه واحد آزمایشگاهی و در نتیجه ارتقا سطح کنترل کیفیت آب می باشد.

در این طرح، روش انجام آزمون Presence Absence Test (P-A) که یک شیوه اصلاح شده از روش تخمیر چند لوله ای است با روش تخمیر ۵ لوله ای که در حال حاضر در آزمایشگاههای آب و فاضلاب کشور انجام میگردد مقایسه شده و ارزش جایگزینی آن بررسی شده است.

محل اجرای طرح با توجه به اعلام همکاری شرکت آب و فاضلاب استان ایلام و حمایت شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور شهر ایلام انتخاب گردید.

روش کار:

وسایل بکار گرفته شده در این تحقیق شامل کلیه لوازم آزمایشگاه میکروبیولوژی آب و مواد مصرفی شامل محیطهای کشت لاکتوز برات، لوریل تریپتوز برات، بریلیانت گرین لاکتوز بیل برات، معرف برموکریزول پاربل و تیوسولفات سدیم بود.

روشهای انجام آزمایش بر اساس دستورالعمل های کتاب استاندارد متد و کتاب رهنمودهای سازمان جهانی بهداشت انتخاب گردید(۴،۵). در روش تخمیر ۵ لوله ای به یکسری از لوله ها که حاوی محیط کشت لاکتوز برات می باشد، ۱۰ میلی لیتر نمونه آب به هر لوله اضافه شده و بعد از آنکوباسیون در درجه حرارت ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتیگراد وجود تخمیر و تولید گاز در لوله ها در فاصله زمانی ۲۴ تا ۴۸ ساعت بررسی گردید. بر روی لوله های مثبت در این مرحله آزمایش تائیدی در محیط

جدول ۲: جمع بندی نتایج به دست آمده از انجام آزمونهای تخمیر ۵ لوله ای و روش P-A در طی ماه های انجام طرح

ماه نمونه برداری	تعداد نمونه برداشت شده	تعداد آزمون P-A		تعداد آزمون ۵ لوله ای	
		احتمالی	تائیدی	احتمالی	تائیدی
اردیبهشت	۶۶	۴	۴	۶	۴
خرداد	۱۱۴	۲۵	۲۵	۴۱	۲۳
تیر	۸۳	۱۸	۱۸	۳۰	۱۶
جمع	۲۶۳	۵۷	۵۷	۷۷	۵۳

تجزیه و تحلیل آماری نتایج بدست آمده:

با توجه به انجام آزمون احتمالی و تائیدی در هر دو روش و با توجه به اهمیت و دقت بیشتر تست تائیدی، جمع کل نتایج به دست آمده از طرح با ۹۵٪ احتمال معنی دار بودن آن بررسی گردید. با توجه به $X^2 = 2.25$ بدست آمده از محاسبات و مقایسه آن با $X^2 = 3.84$ با درجه آزادی یک و با احتمال ۹۵٪ نتیجه گیری میگردد که بین دو روش در مرحله تائیدی آزمون در تعیین نمونه های آلوده آب تفاوت معنی داری وجود ندارد. در جدول ۳ درصد نمونه های مثبت به دست آمده در آزمونهای احتمالی و تائیدی در دو روش آورده شده است.

جدول ۳: درصد نمونه های مثبت به دست آمده در آزمونهای احتمالی و تائیدی در دو روش

تعداد نمونه برداشت شده	تعداد آزمون P-A		تعداد آزمون ۵ لوله ای	
	احتمالی	تائیدی	احتمالی	تائیدی
۲۶۳	۵۷	۵۷	۷۷	۵۳
درصد	۲۱/۶۷	۲۱/۶۷	۲۹/۲۸	۲۹/۲۸

نتایج بدست آمده از آماده سازی محیط کشت P-A:

برطبق دستورالعمل موجود در خصوص آماده سازی محیط کشت، pH محیط کشت بایستی بعد از ساخت 6.8 ± 0.2 باشد. با توجه به آزمایشات مکرری که انجام گردید و با توجه به pH محیطهای نمونه آبی که مورد آزمایش قرار می گرفت (۷-۸)، pH محیطهای کشت ساخته شده در محدوده 6.6 ± 0.1 تنظیم گردید که با افزودن نمونه های آب pH در رنج 6.7 ± 0.1 ثابت می شد. تغییر رنگ محیط کشت بعد از افزودن نمونه آب و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در $pH = 5.87$

میکنیم تا محیط کشت خوب با نمونه مخلوط شود. سپس بطری را در درجه حرارت 25 ± 0.5 درجه سانتیگراد قرار می دهیم و بعد از ۲۴ تا ۴۸ ساعت آزمایش را می خوانیم. وجود رنگ زرد نشان دهنده تخمیر لاکتوز است. اگر گاز هم تولید شده باشد با تکان دادن بطری و تشکیل کف تشخیص داده می شود. محیط کشتی که گاز و اسید تولید می کند را به محیط کشت بریلیانت گرین انتقال داده و در همان درجه حرارت قرار می دهیم. گاز تولید شده در عرض ۴۸ ساعت تائید کننده وجود کلیفرم در نمونه است. نتیجه آزمون بصورت وجود یا عدم وجود کلیفرم در ۱۰۰ میلی لیتر گزارش می گردد. (۳،۵،۷).

سازمان بهداشت جهانی در کتاب رهنمودهایی در خصوص آب آشامیدنی مبنای مقایسه دو روش را آنالیز حداقل ۱۰۰ نمونه پیشنهاد نموده است (۳).

با توجه به دستورالعمل موجود در خصوص تعداد نمونه لازم جهت انجام آزمون باکتریولوژیک آب (۳) به ازای هر نمونه برداشتی جهت روش تخمیر ۵ لوله ای یک بطری در روش P-A نیز نمونه برداری میگردید. بطری کشت داده شده همراه با نمونه های آب به آزمایشگاه منتقل و بعد از کشت نمونه آب در ۵ لوله حاوی محیط کشت، نمونه ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه سانتیگراد انکوباسیون شده و بعد از این مدت نتایج حاصل از دو روش با یکدیگر مقایسه گردیدند، نمونه های مورد مطالعه از شبکه توزیع آب و همچنین از چاههایی برداشت گردید که احتمال آلودگی آنها وجود داشت تا با تکیه بر نتایج به دست آمده بتوان دو روش را در هنگام نتیجه گیری مقایسه نمود. به منظور تجزیه و تحلیل آماری نتایج به دست آمده از دو روش، از آزمون کای اسکویر مک نمار استفاده گردید (۸).

نتایج:

در مجموع در طی ۳ ماه تعداد ۲۶۳ نمونه آب به دو روش تخمیر ۵ لوله ای و P-A مورد آزمایش قرار گرفت. جدول ۲ جمع بندی نتایج به دست آمده از انجام این آزمونها را نشان می دهد.

برآورد اقتصادی هزینه انجام یک آزمون احتمالی به روش P-A و روش تخمیر ۵ لوله ای:

از آنجائیکه در برآورد هزینه های نمونه برداری از آب و انجام آزمون باکتریولوژیک برروی نمونه فاکتورهای متعددی در محاسبه هزینه ها نظیر محیطهای کشت مصرفی، وسایل و لوازم، فاصله محل نمونه برداری از آزمایشگاه (دسترسی)، هزینه های مأموریت رفت و برگشت، استهلاک وسیله نقلیه، استهلاک و شکستگی لوازم و... وجود دارد بنابراین به جای تخمین دقیق هزینه انجام، میتوان فاکتورهای مختلف دخیل در این امر را با هم مقایسه و نتیجه گیری نمود. در جدول ۴ برخی از موارد مهم فهرست و مورد مقایسه قرار گرفته است.

قرمز مایل به زرد و در $pH = 5/48$ در نمونه های مثبت رنگ کاملاً زرد بود. با توجه به نتایج آزمایشات در آزمون ۵ لوله ای در مواردی که مرحله احتمالی آزمون مثبت ولی در مرحله تأییدی و کلیفرم مدفوعی نتیجه آزمون منفی می باشد تست P-A در مرحله احتمالی نیز منفی است و این نشانگر این است که میزان آلودگی در مرحله احتمالی روش P-A توانایی تولید اسید کافی را نداشته و pH تنها $0/25$ کاهش پیدا می کند. در زمانیکه مرحله احتمالی و تأییدی در آزمون ۵ لوله ای مثبت می باشد، تست P-A نیز تغییر رنگ داده و کاملاً زرد می شود. pH محلول در این حالت به کمتر از $5/48$ میرسد.

جدول ۴: مقایسه روش تخمیر ۵ لوله ای و روش P - A

ردیف	فاکتورهای مورد مقایسه	روش تخمیر ۵ لوله ای	روش P-A
۱	محیط کشت لاکتوز برات برای یک نمونه به گرم	۱/۳	۱/۹۵
۲	محیط کشت لوریل تربیتوز برات برای یک نمونه به گرم	-	۲/۴۲۵
۳	مصرف برمو کریزول پارپل برای یک نمونه به میکرو گرم	-	۱/۲۷۵
۴	لوله دورهام برای یک نمونه	۵	نیاز ندارد
۵	ظرف محیط کشت برای هر نمونه	۵ لوله	یک بطری
۶	ظرف برداشت و نگهداری نمونه آب برای هر نمونه	نیاز دارد	نیاز ندارد
۷	وسایل لازم جهت انجام کشت	نیاز دارد	نیاز ندارد
۸	نیروی انسانی متخصص جهت انجام کشت و قرائت نتایج	نیاز دارد	نیاز ندارد
۹	انتقال نمونه جهت انجام کشت به آزمایشگاه	نیاز دارد	نیاز ندارد
۱۰	خودرو جهت انجام نمونه برداری و انتقال نمونه به آزمایشگاه	نیاز دارد	نیاز ندارد
۱۱	حداقل فاصله زمانی از نمونه برداری تا رسیدن به آزمایشگاه	نیاز دارد	نیاز ندارد
۱۲	عملیات بر روی نمونه برداشت شده در آزمایشگاه قبل از انکوباسیون	نیاز دارد	نیاز ندارد
۱۳	مأموریت در طول یک ماه	چند بار	یک بار
۱۴	هزینه استهلاک وسایل و خودرو جهت انجام نمونه برداری	وجود دارد	کمتر است
۱۵	دقت قرائت نتایج	وجود دارد	بالاتر است
۱۶	نتایج حاصل از کشت	کمیتی	کیفیتی
۱۷	نیاز به وسایل آزمایشگاهی	بالاتر	کمتر

در سال ۱۹۶۸ این روش اولین بار توسط کلارک به عنوان یک روش اقتصادی بکار گرفته شد (۹). او همچنین نتایج آزمون P-A را با سایر روشهای تشخیص کلیفرم مورد مقایسه قرار داد و مشخص نمود که روش P-A روش حساس تری نسبت به سایر روشها بوده و از لحاظ بهره برداری راحتتر و از لحاظ اقتصادی ارزانتر انجام می گردد (۱۱، ۱۰). وی در سال ۱۹۸۲ محیط دیگری را برای مرحله احتمالی آزمایش P-A پیشنهاد داد که شامل آبگوشت لاکتوز - لوریل تریپتوز و تربیتون به جای آبگوشت مک کانکی بود، این محیط در در دستور العمل کتاب استاندارد متد نیز آمده است (۵).

در مطالعه مقایسه ای که ژاکوب در سال ۱۹۸۶ بر روی روشهای مختلف انجام داد مشخص نمود روش تخمیر ۱۰ لوله ای ۸۴٪، روش صافی غشایی ۶۴٪ و روش P-A ۸۸٪ از کل کلیفرمهای موجود در نمونه را مشخص می سازد (۱۲). مطالعات مقایسه ای بیشتری نیز توسط رایس در سال ۱۹۸۹ و بییز در سال ۱۹۸۶ صورت گرفت و نتایج بدست آمده نشان داد که روش صافی غشایی، تعداد نمونه های بیشتری را نسبت به روش P-A مشخص می سازد که البته تفاوتهای حاصله نیز از لحاظ آماری قابل ملاحظه نبوده است (۱۴، ۱۳).

بنابراین مزیت آزمایش P-A علاوه بر سادگی استفاده، عدم نیاز به تائید آزمایشات مثبت است که باعث میشود نتایج تأییدی حداقل یک روز زودتر از دیگر روشها قابل دستیابی باشد و با توجه به وقفه ای که قبل از رسیدن به نتایج تأییدی و بر اساس نتایج احتمالی در مصرف آب با آن مواجه هستیم، اگر نتایج احتمالی صحیح باشد، فعالیت و هزینه متحمل شده قابل توجیه است در حالیکه اگر نتایج احتمالی تأیید نشود، هزینه ها تلف شده است. در حال حاضر در آمریکا روش P-A در فهرست روشهای استاندارد قرار گرفته و به عنوان یک تکنیک قابل استفاده روتین در سیستمهای توزیع و تصفیه خانه های آب توصیه شده است (۱۵).

بر اساس خطوط راهنمای سازمان جهانی بهداشت برای ارگانیسما (کلیفرم) تعداد یک عدد از این میکروارگانیسما در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه آب آشامیدنی نیز برای نامطلوب بودن آن کافی میباشد (۳) و در اکثر موارد تعیین تعداد باکتریهای شاخص موجود در یک نمونه ضرورتی ندارد، به همین جهت از آنجائیکه روش

مدت زمان نگهداری محیطهای کشت ساخته شده P-A: به منظور اطلاع از مدت زمان نگهداری نمونه های ساخته شده تعدادی از شیشه های حاوی محیط کشت در یخچال نگهداری شده و در فواصل زمانی یک هفته مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این نمونه ها حاکی از سالم ماندن محیط کشت تا مدت زمان طولانی فراتر از ۴۰ روز هم می باشد که در این فاصله خصوصیات کلی محیط کشت تغییر پیدا نکرده و به راحتی در مقابل نمونه آب آلوده واکنش مثبت را در مقابل محیط کشت حاوی نمونه غیر آلوده (آب استریل) نشان می دهد. با توجه به عدم تغییر محیط کشت در دراز مدت، حداکثر زمان نگهداری محیط کشت در یخچال ۴۰ روز توصیه می گردد.

بحث:

یکی از نکات عمده و قابل توجه در تامین آب شرب جوامع حفظ و حراست کیفیت آب از منبع تا نقطه برداشت است. مسئولین دست اندرکار تاسیسات آب بایستی اطلاعات وسیعی در زمینه های متفاوت فنی و بهداشتی داشته باشند تا بتوانند با تلفیق درست این اطلاعات و با شناخت کاملی که از شرایط ویژه محل به دست می آورند به هدف یاد شده بالا دست یابند، در این میان پایش منظم و علمی شبکه های توزیع آب مطابق با استانداردهای جاری می تواند ما را در این امر یاری دهد. انجام این طرح تحقیقاتی از جمله قدمهایی بوده است که به منظور ارتقا سطح کنترل کیفیت باکتریولوژیک آب از طریق معرفی روش راحتتر دیگری انجام شده است.

نتایج حاصل از ۲۶۳ زوج آزمون باکتریولوژیک آب در تست احتمالی با دو روش اطلاعات ارزشمندی را در اختیار قرارداد. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص میگردد که حساسیت روش P-A در تائید نمونه های مثبت ۷۱/۰۱٪ بیشتر میباشد، بنابراین با توجه به نزدیک بودن قرائت نتایج آزمون تائیدی در روش تخمیر ۵ لوله ای به روش P-A با ۹۵٪ اطمینان (مطابق با تجزیه و تحلیل آماری روش کای اسکور مک نما) نتایج آزمون احتمالی روش P-A را میتوان مطابق با نتایج آزمون تائیدی در روش تخمیر ۵ لوله ای در نظر گرفت.

بنابراین نتایج کیفی بدست آمده از روش P - A که حضور یا عدم حضور کلیفرم را نشان می دهد قابل استفاده می باشد .

معایب روش P - A :

۱- نتایج حاصله از روش P - A به صورت کیفی بوده و اطلاعات کمی در زمینه آلودگی در اختیار قرار نمی دهد. در نتیجه ازدیاد جمعیت کلیفرمها که به عنوان یک زنگ خطر محسوب می شود با این روش نشان داده نمی شود .

۲- استفاده از روشهای قدیمی یک دهه رواج داشته و تغییر این روشها به روش جدید ممکن است مشکلاتی را برای تکنیسین های آزمایشگاهی ایجاد نماید .

۳- با توجه به انجام آزمون توسط اپراتورهای محلی در صورت عدم آموزش کافی امکان آلودگی ثانویه ظروف نمونه برداری و کشت وجود دارد .

با توجه به مطالب و نتایج ارائه شده و همچنین با در نظر گرفتن مقایسه دو روش از لحاظ پارامترهای هزینه ای جهت انجام آزمون و بمنظور دستیابی به سطوح بالاتر کیفیت آب و در نتیجه ارتقاء سطح سلامت جامعه موارد زیر پیشنهاد می گردد :

۱- با توجه به نتایج بدست آمده از مقایسه دو روش آزمون ، روش P - A میتواند به عنوان جایگزین روش تخمیر ۵ لوله ای در آزمون احتمالی باکتریولوژیک آب مشروب مورد استفاده قرار گیرد .

۲- با توجه به حصول نتایج مطلوب از طرح ، بمنظور گسترش روش آزمایش ، انجام آزمون بصورت پایلوت در مراکزی و در محدوده زمانی معینی پیشنهاد میگردد .

۳- برگزاری کارگاههای آموزشی جهت مسئولین کنترل کیفی و آزمایشگاههای آب و فاضلاب در سطح کشور بمنظور ایجاد هماهنگی لازم و یکنواخت نمودن انجام عملیات .

۴ - پیشنهاد بررسی انجام روش P - A به عنوان یک گزینه انتخابی در آزمون احتمالی آب به موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران .

سپاسگزاری :

بدینوسیله بر خود لازم میدانم از معاونت محترم بهره برداری ، مدیریت محترم نظارت بر بهداشت آب شهری شرکت مهندسی آب و فاضلاب کشور ، سرپرست محترم مرکز تحقیقات و بهبود بهره وری و مدیریت محترم

P - A باعث صرفه جویی در میزان کار و کاهش زمان مورد نیاز برای بدست آوردن نتیجه تائیدی میشود میتواند در آزمایشگاههای آب و فاضلاب بطور وسیعی بکار گرفته شود . در زیر نیز مزایا و معایب این روش که بر اساس نتایج بدست آمده حاصل شده است اشاره می گردد :

مزایای روش P - A :

۱- قابلیت تطبیق نتایج آزمون احتمالی روش P-A به جای آزمونهای احتمالی و تائیدی در روش تخمیر ۵ لوله ای .

۲- قابلیت اعتماد به قرائت نتایج با توجه به تغییر رنگ مشخص ، نتیجه مثبت در روش P-A با تغییر رنگ کاملا مشخص از قرمز به زرد مشهود می باشد ، در حالیکه در روش ۵ لوله ای مثبت بودن با مشاهده گاز در لوله دورهام و ایجاد تخمیر مشخص می گردد.

۳- آسانی روش (ساخت محیط کشت ، انجام کشت و قرائت نتایج) .

۴- پایین تر بودن هزینه ها در روش P - A .

۵- با توجه به مدت زمان نگهداری محیط کشت در یخچال (حداکثر ۴۰ روز) می توان فواصل انتقال ظروف حاوی محیط کشت به شهرها و شهرکهای تابعه را افزایش و فواصل و تکرار نمونه برداری را کوتاهتر انتخاب نمود . به عبارت دیگر با توجه به تعداد نمونه مورد نیاز در طی یک ماه می توان شیشه های نمونه برداری حاوی محیط کشت را ماهی یکبار به این واحدها منتقل نمود .

۶- مساله زمان در این روش عامل تعیین کننده نمی باشد (زمان حمل و نقل) زیرا کاهش جمعیت ناگهانی کلیفرمها در اثر مرگ و میر را نخواهیم داشت .

۷ - در روش P - A حجم نمونه آب کشت داده شده ۱۰۰ میلی لیتر می باشد ، در حالیکه در روشهای تخمیر ۵ ، ۹ ، ۱۵ لوله ای حجم های آب مورد آزمایش ۵۰ ، ۳۳/۳ و ۵۵/۵ میلی لیتر می باشد که با توجه به حجم آب بیشتر کشت داده شده در روش P - A نتایج دقیقتر می باشد .

۸- با آموزش کادر غیر متخصص می توان کنترل کیفیت باکتریولوژیک آب را انجام داد .

۹- با توجه به استاندارد باکتریولوژیک آب مشروب مبنی بر اینکه تعداد کلیفرم در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه ها با توجه به وسعت شبکه توزیع آب بایستی صفر باشد ،

بهداشتی . گروه مترجمین معاونت پژوهشی . تهران : وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی ، ۱۳۷۵ .

9. Clark JA . A test providing sensitive and inexpensive detection of coliforms in municipal drinking water supply. *Can J Microbiol* 1968 ; 14:13-18.
10. Clark JA. The detection of various bacteria indicative of water pollution by a P - A procedure. *Can J Microbiol* 1969 ;15:771-80 .
11. Clark JA. The influence of increasing numbers of non indicator organisms by the filtration and P-A test. *Can J Microbiol* 1980 ; 26 : 827-32 .
12. Jacobs NJ. Comparison of membran filter , multiple fermentation tube and P-A techniques for detection coliforms in small community water systems , *Appl Environ Microbiol* 1986 ; 51 : 1007-12.
13. Rice EW. The P-A coliform test for monitoring drinking water quality . *Public Health Rep* 1989 ;104 : 54 - 8.
14. Pipes WO. Comparison of Clark's P-A test and membran filter method for coliform detection in potable water samples. *Appl Environ Microbiol* 1986 ; 52 :439-43.
15. Gleeson C , Gray N. The coliform index and waterborn disease. London : E & FN SPON , 1997.

شرکت آب و فاضلاب استان ایلام که امکان انجام این تحقیق را فراهم نمودند ، تشکر و قدردانی نمایم . همکاری ارزشمند خانم مهندس زهره اختیاریزاده و آقای مهندس اردشیر احمدی قابل تقدیر است .

منابع:

۱. سازمان بهداشت جهانی . رهنمودهایی در خصوص آب آشامیدنی . ترجمه محمد نوری سپهر . ج ۲ . تهران : حیان ، ۱۳۷۳.
۲. سازمان بهداشت جهانی. رهنمودهایی در خصوص آب آشامیدنی. مترجمین رامین نبی زاده ، دادمهر فائزی. ج ۱ . تهران : ۱۳۷۵.
3. World Health Organization. Guidelines for drinking water quality. Vol 3. Geneva: WHO , 1997.
۴. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ویژگیهای بیولوژیکی و حد مجاز آلودگی باکتریولوژیک آب آشامیدنی و شماره استاندارد ۱۰۱۱ ، ۱۳۶۵.
5. American Public Health Agency , WWA , WPCF , Standard methods for the examination of water & wastewater. 17th ed. Washington DC : APHA , 1990 .
۶. فدراسیون کنترل آلودگی آب . آزمایشهای میکروبی آب و پساب . ترجمه گیتی امتیازی . اصفهان : مانی ، ۱۳۷۷ .
۷. غلامی میترا ، محمدی حامد . میکروبیولوژی آب و فاضلاب . تهران : حیان ، ۱۳۷۷.
۸. سازمان بهداشت جهانی . تحقیق در سیستمهای