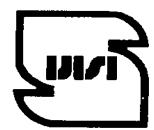


INSO  
10847-20  
1st.Edition  
2016



جمهوری اسلامی ایران  
Islamic Republic of Iran  
سازمان ملی استاندارد ایران  
Institute of Standards and Industrial Research of Iran



استاندارد ملی ایران  
۱۰۸۴۷-۲۰  
چاپ اول  
۱۳۹۴

هوای داخل ساختمان - قسمت ۲۰ : شناسایی و  
شمارش کپک‌ها - تعیین تعداد کل اسپور

**Indoor air- Part 20: Detection and  
Enumeration of moulds-  
Determination of Total spore count**

**ICS:13.040.20**

## بهنام خدا

### آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

سازمان ملی استاندارد ایران به موجب بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می شود و کوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانه صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرفکنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان های دولتی و غیر دولتی حاصل می شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی نفع و اعضای کمیسیون های مربوط ارسال می شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیته ملی مرتبط با آن رشتہ طرح و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه مند و ذیصلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می کنند در کمیته ملی طرح و بررسی و در صورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می شود که بر اساس مفاد نوشه شده در استاندارد ملی ایران شماره ۵ تدوین و در کمیته ملی استاندارد مربوط که در سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می شود به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)<sup>۱</sup> کمیسیون بین المللی الکترونیک (IEC)<sup>۲</sup> و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)<sup>۳</sup> است و به عنوان تنها رابط<sup>۴</sup> کمیسیون کدکس غذایی (CAC)<sup>۵</sup> در کشور فعالیت می کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی های خاص کشور، از آخرین پیشرفت های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین المللی بهره گیری می شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و / یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری کنند. سازمان می تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه بندی آن را اجباری کند. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان ها و مؤسسات فعال در زمینه مشاوره، آموزش، بازرگانی، ممیزی و صدور گواهی سیستم های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست محیطی، آزمایشگاه ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسائل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامه تأیید صلاحیت به آن ها اعطا و بر عملکرد آن ها ناظارت می کند. ترویج دستگاه بین المللی یکاه، کالیبراسیون (واسنجی) وسائل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبهای و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International organization for Standardization

2 - International Electro technical Commission

3- International Organization for Legal Metrology (Organization International de Metrology Legal)

4 - Contact point

5 - Codex Alimentarius Commission

**کمیسیون فنی تدوین استاندارد  
"هوای داخل ساختمان -  
قسمت ۲۰ : شناسایی و شمارش کپک ها- تعیین تعداد کل اسپور"**

**سمت و / یا نمایندگی**

عضو هیات علمی دانشگاه تبریز

**رئیس :**

صابریوند، عادل

(دکتری تخصصی دامپزشکی)

**دبیر :**

سازمان ملی استاندارد ایران

حاجیه پاکیزهوند

(کارشناسی بیولوژی)

**اعضاء : ( اسامی به ترتیب حروف الفبا )**

سازمان ملی استاندارد ایران

اسلامی، پروین

(کارشناسی علوم و مهندسی صنایع غذایی)

کارشناس

خیاط ماهر، ریحان

(کارشناس ارشد میکروبیولوژی)

وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی

رحیمی فرد، ناهید

(دکترای تخصصی میکروبیولوژی)

سازمان ملی استاندارد ایران

طیار، فاطمه

(کارشناسی شیمی)

سازمان مدیریت پسماند شهرداری تهران

مرادی کیا، سعید

(کارشناسی ارشد محیط زیست)

انسیتیو پاستور ایران

مرندی، وحید

(کارشناسی ارشد شیمی)

عضو هیات علمی دانشگاه تهران

معینی الدینی، مظاہر

(دکتری محیط زیست)

## فهرست مندرجات

صفحه	عنوان
ب	آشنایی با سازمان ملی استاندارد
ج	کمیسیون فنی تدوین استاندارد
۵	پیشگفتار
و	مقدمه
۱	۱ هدف و دامنه کاربرد
۱	۲ اصطلاحات، تعاریف
۲	۳ اصول آزمون
۳	۴ وسایل و مواد
۳	۵ معرف ها
۴	۶ روش اجرای آزمون
۸	۷ تضمین کیفیت
۸	۸ کالیبراسیون دبی، کنترل عملکرد و نگهداری سامانه نمونه برداری
۸	۹ پروتکل نمونه برداری
۱۰	۱۰ ویژگی عملکردی
۱۳	پیوست الف(الزامی)- تبادل نمونه برای تصدیق روش
۱۴	پیوست ب(اطلاعاتی) مثال هایی از متراکم کننده ها
۱۵	پیوست پ(اطلاعاتی) کتابنامه

## پیش گفتار

استاندارد "هوای داخل ساختمان - قسمت ۲۰ : شناسایی و شمارش کپک ها- تعیین تعداد کل اسپور" که پیش‌نویس آن در کمیسیون‌های مربوط توسط سازمان ملی استاندارد ایران تهیه و تدوین شد و دریکصد و دهیمن اجلاس کمیته ملی استانداردمحیط زیست مورخ ۱۳۹۴/۱۲/۱۷ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک ماده ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینه صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در موقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

منبع و مأخذی که برای تهیه این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است :

ISO 16000-20: 2014, Indoor air-Part 20: Detection and enumeration of moulds-Determination of total spore count.

کپک، نام رایج برای قارچ‌های رشته‌ای از گروه‌های رده‌بندی مختلف (آسکومیست‌ها<sup>۱</sup>، زیگومیست‌ها<sup>۲</sup> و حالت‌های آنامورفولوژیکی<sup>۳</sup> آنها که قبلاً به نام دئوترومیست‌ها<sup>۴</sup> یا قارچ‌های ناقص<sup>۵</sup> شناخته می‌شدند) است.

کپک‌ها، میسلیوم<sup>۶</sup>‌ها و اسپورهایی را تشکیل می‌دهند که با چشم غیرمسلح، قابل مشاهده هستند. اندازه‌ی بیشتر اسپورها از  $2\text{ }\mu\text{m}$  تا  $10\text{ }\mu\text{m}$  است، اندازه‌ی بعضی از آن‌ها تا  $30\text{ }\mu\text{m}$  و تعداد کمی تا  $100\text{ }\mu\text{m}$  می‌رسد. اسپور بعضی از جنس‌های کپک‌ها کوچک هستند و به آسانی توسط هوا، حمل می‌شوند. (برای مثال: آسپرورژیلوس<sup>۷</sup>، پنی سیلیوم<sup>۸</sup>) در حالی که بقیه‌ی کپک‌ها اسپور بزرگ‌تری داشته و/یا در بافت لزجی احاطه می‌شوند (برای مثال: استاکی بوتریس<sup>۹</sup>، فوزاریوم<sup>۱۰</sup> و کمتر متحرک هستند).

اسپورهای کپک به طور گسترده‌ای در محیط‌های باز، وجود دارند و از این رو، در مقادیر مختلفی در هوای داخل ساختمان نیز وجود دارند. به هر حال، رشد کپک‌ها در محیط‌های داخل ساختمان باید به عنوان مشکل بهداشتی تلقی شود زیرا مطالعات ایدمیولوژیک، حاکی از ارتباط نزدیک بین رطوبت و/یا رشد کپک‌ها در منازل و مشکلات سلامتی ساکنان آن‌ها می‌باشد.

روش‌های هماهنگ<sup>۱۱</sup> برای نمونه‌برداری، شناسایی و شمارش کپک‌ها شامل استاندارد راهبردهای نمونه‌برداری، برای ارزیابی‌های مقایسه‌ای ناشی از وجود کپک‌ها در داخل ساختمان، حائز اهمیت می‌باشند. پیش از هر اندازه‌گیری، باید برنامه‌ای برای راهبرد اندازه‌گیری، طراحی شده باشد.

این استاندارد، روش‌هایی برای نمونه‌برداری هوا از اسپورهای کپک به منظور بررسی‌های بعدی توسط میکروسکوپ را شرح می‌دهد.

1- Ascomycota

2- Zygomycota

3- Anamorphic states former

4- Deuteromycota

5- Fungi imperfecti

6- Mycelium

7-Aspergillus

8-Penicillium

9-Stachybotrys

10-Fusarium

## هوای داخل ساختمان -

### قسمت ۲۰ : شناسایی و شمارش کپک ها - تعیین تعداد کل اسپور

#### ۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد، تعیین الزامات برای نمونه برداری کپک‌ها، از هوا است (هوای داخل ساختمان است) و نمونه‌ها برای تعیین میکروسکوپی غلظت کل اسپورها جمع آوری می‌شوند.

#### ۲ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد، اصطلاحات و تعاریف زیر به کار می‌روند:

۱-۲

کشت<sup>۱</sup>

رشد میکرووارگانیسم‌ها بر روی محیط کشت می‌باشد.

[استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۸۴۷-۱۶]

۲-۲

مقدار حد (آستانه)<sup>۲</sup>

اندازه ذرات (قطر آئرودینامیکی<sup>۳</sup>) که برای آن‌ها کارآبی نمونه برداری ۵۰٪ است.

۳-۲

#### قارچ‌های رشته‌ای

قارچ‌هایی که به شکل سلول‌های رشته‌ای موسوم به هیف رشد می‌کنند.  
یادآوری - اصطلاح قارچ رشته‌ای، قارچ با رشد رشته‌ای را از مخمر متمایز می‌سازد.

[استاندارد ملی ایران شماره ۱۶۸۴۷-۱۶]

۴-۲

برخورد<sup>۴</sup>

نمونه برداری از ذرات معلق در هوا به وسیله جداسازی بر اساس اینرسی روی یک سطح جامد است.

۵-۲

#### میکرووارگانیسم

هر موجود میکروبی، سلولی یا غیرسلولی، قادر به تولید مثل یا انتقال ماده‌ی ژنتیکی یا موجوداتی که این خصوصیات را از دست داده‌اند می‌باشد.

[EN 13098:2000]

1- Cultivation

2- Cut-off value

3- Aerodynamic diameter

4- Impaction

۶-۲

## کپک

قارچ های رشته ای از چند گروه تاکسونومیک می باشد، برای مثال: آسکومیست ها، زایگومیست ها و حالت های تغییر شکل یافته آنها که قبلا به عنوان دئوترومیست ها یا قارچ های ناقص شناخته می شدند. یادآوری - کپک ها بسته به گروه تاکسونومیک که به آن تعلق دارند، انواع مختلفی از اسپورها را تولید می کنند. برای مثال کنیدیوسپورها<sup>۱</sup> (کنیدیوم)، اسپوراتیوسپورها<sup>۲</sup>، یا آسکوسپورها<sup>۳</sup>.

[استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۸۴۷-۱۶]

۷-۲

## میسلیوم

شبکه هیف شاخه ای است.

[استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۵۶۷]

۸-۲

## کارایی نمونه برداری فیزیکی

توان ابزار نمونه برداری در جمع آوری ذرات معلق در هوای اندازه های مشخص می باشد.

## ۳ اصول آزمون

حجم معینی از هوای به وسیله یک برخورد دهنده<sup>۴</sup> که دارای یک صفحه جامد چسبنده بوده و متعاقباً برای بررسی میکروسکوپی استفاده می شود مکیده می شود. ذرات موجود در جریان هوای در اثر اینرسی خود به هنگام عبور از صفحه جامد بر روی آن فشرده می شوند. در نتیجه کپک های موجود در هوای مستقیماً روی صفحه چسبنده جمع آوری می گردند.

کارایی نمونه برداری فیزیکی، به شکل روزنه، سرعت جریان هوای توان چسبنده صفحه بستگی دارد. ابزار نمونه برداری برای شناسایی ذرات هم اندازه اسپورهای کپک  $1\mu\text{m}$   $>$  تا تقریباً  $30\mu\text{m}$  طراحی شده است. برای رسیدن به این هدف، باید حد آستانه روزنه ابزار نمونه برداری ترجیحاً  $1\mu\text{m}$  یا کمتر و حداقل  $26\mu\text{m}$  باشد.

یادآوری - عمدتاً از سه نوع اصلی برخوردهنده ها استفاده می شود و در بازار موجود می باشند : برخورد دهنده هایی با اسلایدهای قابل تعویض و سرعت جریان هوای تقریباً  $30\text{ L/min}$  برای مثال PS30 و MBASS30، نمونه بردارهایی با اسلایدهای قابل تعویض و سرعت جریان هوای تقریباً  $15\text{ L/min}$  برای مثال AllergencoMK3 و نمونه بردارهایی با کاست های قابل تعویض و سرعت جریان هوای تقریباً  $15\text{ L/min}$  (پیوست ب را ببینید).

1- Conidiospores

2- Conidia

3- Sporangiospores

4- Ascospores

5-Impactor

پس از نمونه برداری، اسپورهای کپک به کمک میکروسکوپ شمارش می‌شوند. هیچ کشتی انجام نمی‌شود. بنابراین غلظت اسپورهای جمع آوری شده شامل اسپورهای قابل کشت و غیرقابل کشت را می‌توان تعیین نمود.

## ۴ وسائل

علاوه بر تجهیزات معمول در آزمایشگاه میکروبیولوژی موارد زیر نیز لازم می‌باشد:

- ۱-۴ پایه، برای قرار دادن برخورد دهنده در ارتفاع مورد نیاز برای نمونه برداری.
- ۲-۴ برخورد دهنده، با اسلامیدها یا کاستهای یک بار مصرف
- ۳-۴ پمپ خلاء، برای حصول اطمینان از دبی ثابت طی عملیات مداوم.
- ۴-۴ حجم سنج گاز، برای تعیین حجم گاز مکیده شده توسط ابزار نمونه برداری بر حسب متر مکعب.
- ۵-۴ زمان سنج، برای تنظیم زمان و مدت نمونه برداری.
- ۶-۴ محفظه<sup>۱</sup> برای محافظت ابزار نمونه برداری از شرایط ناگوار محیطی (اختیاری، فقط برای استفاده برون ساختمانی)
- ۷-۴ میکروسکوپ، مجهر به عدسی های  $40\times$  و  $100\times$  برای بزرگنمایی تقریباً ۴۰۰ تا ۱۰۰۰.

## ۵ مواد و / یا واکنشگرها

### ۱-۵ کلیات

همه معرفها و مواد شیمیایی باید کیفیت میکروبیولوژیکی یا بهتر از آن را داشته باشد. آب مورد استفاده باید مقطر بوده و یا کیفیت معادل آن را داشته باشد.

### ۲-۵ محلول لاکتوفنل آبی

ترکیبات محلول رنگ آمیزی در جدول فهرست شده‌اند.

هشدار - محلول لاکتوفنل آبی سمی است و ممکن است اثرات مضر بهداشتی داشته باشد. از تماس مستقیم یا استنشاق آن باید اجتناب گردد.

جدول ۱- ترکیبات محلول رنگ آمیزی

مقدار	اجزا
۰,۵g	کاتن بلو <sup>۲</sup>
۴,۰g	اسید لاکتیک (۸۰ درصد تا ۸۵ درصد)
۴,۰g	فنل
۸,۰g	گلیسرول
۱۰۰ ml	آب مقطر

1-Protective housing

2-Cotton blue

اجزا را به ۱۰۰ ml آب اضافه کرده و حل نمایید.

## ۶ روش انجام آزمون

### ۱-۶ نمونه برداری

نمونه برداری معمولاً در ارتفاع ۷۵m / ۱/۵m تا بالای زمین انجام می‌گیرد. برای اهداف خاص، ارتفاعات دیگری نیز ممکن است استفاده شود. در ارتفاعات پایین باید دقت لازم به عمل آید تا گردوبغار خانگی به داخل ابزار نمونه برداری مکیده نشود.

تعداد مورد نیاز از برخورد دهنده‌ها، اسلایدها و کاستها را بر حسب کار و هدف اندازه گیری آماده کنید. یادآوری - اگر غلظت اسپورها قابل پیش‌بینی نمی‌باشد می‌توان حجم‌های مختلفی از هوا را (برای مثال ۱۰۰l، ۵۰l، ۱۰۰۱) نمونه برداری کرد و سپس مناسب ترین نمونه (دارای اسپور کافی - بدون تراکم زیاد) برای شمارش مورد استفاده قرار گیرد. دستگاه را از نظر کامل بودن و عملکرد، با یک چک لیست کنترل نمایید.

در فواصل زمانی منظم کنترل عملکرد دستگاه را انجام دهید، در درجه اول، کنترل عملکرد برای کنترل حجم جریان هوا می‌باشد (بند ۸ را ببینید).

برای هر اندازه گیری از یک ابزار استریل که شامل اسلایدها یا کاست‌ها می‌باشد استفاده کنید. در غیر این صورت روزنه را با اتانول یا ایزوپروپانول (۷۰٪) تمیز کرده و سپس آن را خشک کنید. (برای مثال با هوای فشرده)

اسلایدها یا کاست‌ها را در برخورد دهنده قرار دهید. برای جلوگیری از آلودگی، دقت کنید. دستگاه نمونه برداری را طبق دستورالعمل‌های سازنده روشن کنید. اندازه گیری چندگانه با نمونه حجم‌های مختلف توصیه می‌شود. این موضوع، به ویژه وقتی که میزان غلظت پیش‌بینی شده‌ی کپک‌ها معلوم نباشد اهمیت پیدا می‌کند.

بعد از نمونه برداری، اسلایدها یا کاست‌ها را از دستگاه نمونه برداری خارج کنید و جهت اجتناب از هر گونه آلودگی ثانویه، آنها را در ظروف استریل و یا کیسه‌های پلاستیکی بسته بندی کنید. متعاقباً، در نقطه نمونه برداری جدید قبل از اینکه نمونه برداری با اسلاید دیگری انجام دهید برای چند دقیقه هوا را از طریق برخورد دهنده بدون اسلاید مکش نمایید.

برای نمونه بردارهای یکبار مصرف، مطابق با دستورالعمل سازنده عمل کنید.  
پروتکل نمونه برداری را پر کنید (بند ۹ و پیوست الف را ببینید).

نمونه‌ها را به آزمایشگاه حمل کنید (بند ۴-۶ را ببینید) و مستقیماً به وسیله میکروسکوپ بررسی نمایید (بند ۲-۶ را ببینید).

## ۲-۶ بررسی مستقیم میکروسکوپی

اسپورهای روی صفحه چسبنده را با محلول لاکتوفل آبی (بند ۲-۵ را ببینید) و یا کاتن‌بلو در اسید لاکتیک رنگ آمیزی کرده و با میکروسکوپ با بزرگنمایی  $\times 400$  تا  $\times 1000$  بررسی کنید.

یادآوری ۱- برای به دست آوردن دید کلی از نوع نمونه، مشاهده اولیه با بزرگنمایی  $\times 100$  تا  $\times 200$  می‌تواند مفید باشد.  
اگر حجم‌های مختلفی نمونه برداری شده است مناسب‌ترین حجم را (دارای اسپور کافی و بیش از حد نباشد) برای شمارش انتخاب کنید.

یادآوری ۲- شمارش انواع اسپورهای مختلف با میکروسکوپ، مشکل می‌باشد که فقط توسط افراد ماهر و آموزش دیده می‌تواند انجام شود.

یادآوری ۳- محلول لاکتوفل آبی سمی بوده و تا جایی که ممکن است باید اجتناب شود. رنگ آمیزی اسپورها با محلول‌های رنگی دیگر باید پیش بینی شود. اگر چه کاتن‌بلو در اسید لاکتیک این کار را انجام می‌دهد ولی با برخورد دهنده PS 30 with MBASS30 که برای تعیین ویژگی‌های عملکردی استفاده می‌شود کار نمی‌کند (بند ۱۰ را ببینید).

در روش نمونه برداری با برخورد دهنده روزنه دار، نمونه‌ای با ابعاد تقریباً  $1.6\text{cm} \times 1\text{mm}$  روی اسلايد شیشه ای تولید می‌شود که با میکروسکوپ قابل ارزیابی می‌باشد.  
معمولأً، اسلايدها برای انواع اسپورهای زیر بررسی می‌شوند:

بازیدیوسپورها<sup>۱</sup>، آسکوسپورها، کلادوسپوریوم<sup>۲</sup>، گونه آسپرژیلوس<sup>۳</sup> پنی سیلیوم<sup>۴</sup>، استاکیبوتریس<sup>۵</sup>، کیتومیوم<sup>۶</sup>، گونه آلتناریا<sup>۷</sup> اولوکلادیوم<sup>۸</sup>، گونه هلمنتوسپوریوم<sup>۹</sup>، اپی کوکوم<sup>۱۰</sup>، اسپورهای دیگر و قطعات میسلیوم، علاوه بر این گونه‌های اسپورهای دیگر که در غلظت‌های غیرمعمول یافت می‌شوند و می‌تواند به یک نوع مورفولوژیکی اختصاص داده شود نیز گزارش شده‌اند.

بازیدیوسپورها، آسکوسپورها، اسپورهایی از گونه‌های آلتناریا/ اولوکلادیوم، هلمنتوسپوریوم و اپی کوکوم معمولأ از نمونه‌های داخل ساختمان سرچشمه نمی‌گیرند و بنابراین تا حدی می‌تواند نشانگر میزان تأثیرپذیری نمونه از هوای محیط باز باشد. (برای مثال: به واسطه نشست از اطراف پنجره‌ها، مزاحمت مکانیکی اسپورهای وارد شده از محیط‌های باز)

اسپورهای بزرگ که به آسانی قابل تشخیص هستند برای مثال: استاکیبوتریس یا اسپورهای کیتومیوم، روی کل صفحه با بزرگنمایی  $\times 400$  در جهت طولی نمونه شمارش می‌شوند. به این ترتیب، صفحه برخورد دهنده که به طور کامل بارگذاری شده در یک مقیاس زمانی معقول ارزیابی می‌شود و از این رو اسپورهای کمی در هر حجم نمونه تشخیص داده می‌شوند. از نظر تئوری، حد تشخیص، یک اسپور در هر حجم نمونه می‌باشد. برای انواع اسپورهای کوچک، برای مثال: آسپرژیلوس/ پنی سیلیوم، بررسی بیشتر و دقیق‌تر، با بزرگنمایی  $\times 1000$  در جهت عمود بر نمونه انجام می‌شود.

---

1-Basidiospores

2-Cladosporium

3- Aspergillus

4-Penicillium

5-Stachybotrys

6-Chaetomium

7- Alternaria

8-Ulocladium

9- Helminthosporium

10-Epicoccum

بررسی های دقیق خیلی زمان بر بوده به طوری که تعداد کمی نمونه (معمولًا در حدود ۱۰٪ تا ۳۰٪ از کل صفحه برخورده است، بند ۱۰ را ببینید) می‌تواند مورد ارزیابی قرار گیرد. در نتیجه حد تشخیص برای اسپورهای کوچک بیشتر از حد تشخیص برای اسپورهای بزرگتر است. حد تشخیص از نظر تئوری برای یک نمونه به حجم  $L$  ۲۰۰ هوا و ارزیابی ۱۰ مقطع عرضی، تقریباً ۵۰ اسپور در مترمکعب است (یک اسپور در هر ۱۰ مقطع وجود دارد).

برای شمارش، ترجیحاً در صفحه میکروسکوپی شمارش باید ۱۰ اسپور یا بیشتر وجود داشته باشد.  
یادآوری - ذراتی مانند فلس‌های پوست و سایر ذرات (معدنی و آلی) شمارش نمی‌شوند اما ممکن است برای داشتن تصویری از تاثیر فعالیت‌های مربوطه در اتاق به گروه‌های کم، متوسط، تاحدی زیاد و زیاد دسته‌بندی شوند.

### ۳-۶ روش محاسبه و بیان نتایج

نتیجه از نظرکمی به صورت غلظت انواع اسپورها و قطعات میسلیوم شمارش شده در هر مترمکعب هوا گزارش می‌شود. غلظت کل اسپور از مجموع غلظت‌های انواع اسپورها به دست می‌آید.

یادآوری - اسپورهایی که به صورت توده ای هستند به صورت انفرادی شمارش می‌شوند. با وجود این ثبت وجود توده‌ها در گزارش تحلیلی مفید است به طوری که اطلاعات مربوط به تعداد اسپورهای انفرادی و انبوه را که ممکن است برای اهداف خاص تحقیقاتی لازم باشند، فراهم می‌کند.

در ارزیابی با بزرگنمایی  $\times 400$  (بند ۲-۶ را ببینید) که در جهت طولی صفحه‌ی حاوی نمونه انجام می‌شود کل حجم نمونه مورد بررسی قرار می‌گیرد. برای محاسبه غلظت اسپور در هر مترمکعب هوا، نتیجه هر حجم نمونه در یک فاکتور متناظر ضرب می‌شود. (مثال:  $F=5$  برای یک حجم نمونه  $L = 200$ ، مثال یک را ببینید)  
در ارزیابی دقیق با بزرگنمایی  $\times 1000$ ، که در جهت عمود بر نمونه انجام می‌شود (بند ۲-۶ را ببینید) پارامترهایی مانند شکل روزنه، اندازه میدان دید عدسی و تعداد برش‌های عرضی ارزیابی شده در محاسبه دخیل می‌باشند. نتایج تا دو رقم اعشاری گرد می‌شوند.

غلظت با استفاده از فرمول (۱) محاسبه شود.

$$C_L = \frac{L}{B} \cdot \frac{1}{V_G} \cdot Z \quad (1)$$

که در آن :

$C_L$  غلظت نمونه هوا بر حسب اسپور / مترمکعب ؟

$L$  طول کل صفحه نمونه بر حسب میلی‌متر ؟

$B$  طول ناحیه ارزیابی شده از برش نمونه بر حسب میلی‌متر ؟

$V_G$  حجم نمونه بر حسب مترمکعب ؟

$Z$  تعداد کل اسپور.

$B$  با استفاده از فرمول (۲) محاسبه شود:

$$B = D \times Z_Q \quad (2)$$

که در آن :

D قطر میدان دید برحسب میلی متر

$Z_Q$  تعداد برش های عرضی ارزیابی شده است.

مثال ۱: ۲۰ اسپور/ستاکی بوتريس روی کل سطح شناسایی شد و حجم نمونه ۲۰۰ لیتر بود.

نتیجه: اسپور در مترمکعب هوا  $100 \times 100 \times 5 = 1000$  اسپور در مترمکعب هوا

مثال ۲: یک نمونه با استفاده از برخورد دهنده روزنه دار (۱۶mm طول، ۱/۱mm عرض) جمع آوری شد و با بزرگنمایی  $1000 \times 1000$  مورد بررسی قرار گرفت. میدان دید میکروسکوپ و عدسی مورد استفاده دارای قطر  $175 \mu\text{m}$  و حجم نمونه  $L = 20$  بود. ۲۰ مقطع عرضی با شمارش ۶۰ اسپور گونه آسپرژیلوس/ پنی سیلیوم ارزیابی شدند.

$$C_L = \frac{16}{0.175 \times 20} \times \frac{1}{0.2} \times 60 = 1371 \text{ اسپور در مترمکعب هوا}$$

نتیجه: اسپور در مترمکعب هوا  $10^3 \times 1/4 = 10^2$

#### ۴-۶ جابه جایی و نگه داری

اسلایدها یا کاست ها را داخل ظروف استریل و یا کیسه های استریل بسته بندی کنید. آنها را از عوامل مداخله گر (رطوبت، خشکی، حرارت، گرد و غبار، غیره) محافظت کنید و برای بررسی به آزمایشگاه انتقال دهید. بهتر است پردازش نمونه ها را در مدت زمان یک هفته پس از نمونه برداری انجام دهید. نمونه ها را در آزمایشگاه در دمای اتاق نگه داری و از خشک شدن تا مرحله بعد محافظت کنید.

#### ۷ تضمین کیفیت

آزمایشگاه باید مدارک کنترل آزمایش ها را به صورت مستند و قابل دسترس در هر زمان داشته باشد.

#### ۸ کالیبراسیون دبی، کنترل عملکرد و نگه داری سامانه نمونه برداری

کالیبراسیون ابزار نمونه برداری با استفاده از حجم سنج مرجع تأیید شده با دقت اندازه گیری کمتر یا مساوی ۵٪ که بر حسب مترمکعب بیان شده و به شرایط هوای محیطی مربوط می شود انجام می گیرد. حجم سنج مرجع باید به ورودی هوای دستگاه نمونه برداری وصل شود. منفذ ورودی هوای دستگاه مرجع نباید مسدود باشد. پس از تنظیم موقبیت آمیز میزان جریان هوا دقت نمایش دستگاه نمونه برداری را در مقایسه با حجم سنج مرجع کنترل کنید حجم هوای مکیده شده درون دستگاه نمونه برداری برای مدت زمان ۳۰ دقیقه باید با دقت  $\pm 1\%$  در مقایسه با حجم سنج مرجع نشان داده شود.

تصدیق دبی (کنترل عملکرد) به ثبات دستگاه بستگی دارد. پیش از شروع برنامه‌ی جدید اندازه گیری یا به دنبال هر گونه تغییرات عمدۀ مانند استفاده از یک قطعه‌ی جدید یا تعمیری یا پس از سرویس پمپ، کالیبراسیون کامل انجام دهید. چنانچه انحراف معیار انتقالی دبی تعیین شده، بیش از ۲٪ از مقدار مورد نیاز برای کارکرد صحیح ورودی باشد، کنترل گر دبی باید مطابق با دستورالعمل سازنده تنظیم گردد. اطمینان حاصل کنید که دبی بیش از  $\pm 2\%$  در زمان نمونه برداری نوسان نداشته باشد و برای به حداقل رساندن تأثیر دبی بر حجم نمونه، مطمئن شوید که در ابتدای نمونه برداری رسیدن به سرعت نمونه برداری مطلوب در کوتاه‌ترین زمان صورت پذیرد.

برای بعضی تجهیزات نمونه برداری، تصدیق و تنظیم جریان اسمی به وسیله کاربر امکان پذیر نیست اما باید توسط سازنده در فواصل منظم انجام شود. در این حالت سازنده دستگاه باید یک جریان ثابت، بین بازه‌های کالیبراسیون را تضمین کند و دستگاه باید یک سیستم کنترل داخلی جهت جلوگیری از انحراف از جریان اسمی را داشته باشد.

## ۹ گزارش نمونه برداری

برای شناسایی نمونه‌ها باید از برچسب استفاده کنید.

باید برای هر نمونه، پیش / یا پس از نمونه برداری، پروتکل نمونه برداری را تکمیل کنید.  
پروتکل حداقل باید موارد زیر را در برگیرد:

- ۱-۹ ارجاع به این استاندارد ملی ایران؛
- ۲-۹ نام و آدرس مشتری؛
- ۳-۹ روش اندازه گیری؛
- ۴-۹ نوع ابزار نمونه برداری به کار رفته؛
- ۵-۹ حجم هوای نمونه برداری شده؛
- ۶-۹ تاریخ، زمان و مکان نمونه برداری.

## ۱۰ ویژگی‌های عملکردی

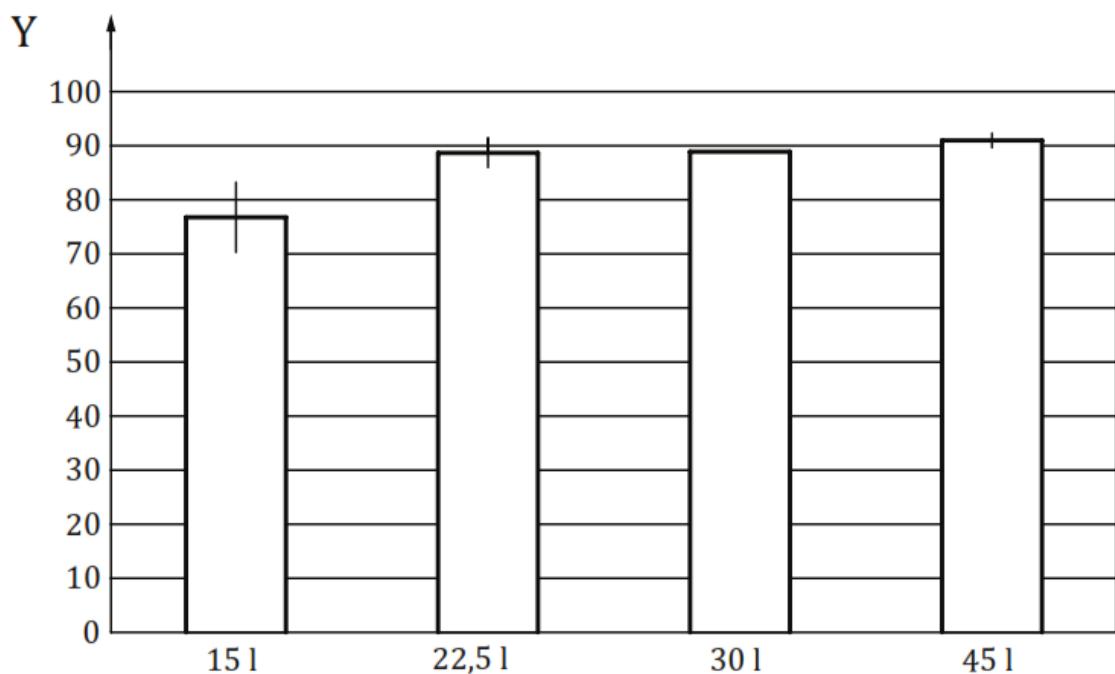
ویژگی‌های عملکردی با استفاده از دستگاه P230 به همراه MBASS به وسیله مرکز تحقیقاتی Umweltmykologie آلمان توسط دکتر Dill و دکتر GbR Trautmann به سفارش آژانس محیط زیست فدرال تعیین شده است.

کارایی نمونه برداری فیزیکی در سرعت‌های مختلف ( $15\text{L/min}$ ,  $22/5\text{L/min}$ ,  $30\text{L/min}$  و  $45\text{L/min}$ ) به وسیله فیلتراسیون هوا در مجرای خروجی برخورد دهنده روزنۀ دار برای شناسایی قارچ‌های غیرمتراکم شده تعیین شد. با زیاد شدن سرعت از  $15\text{L/min}$  به  $30\text{L/min}$ ، کارایی نمونه برداری افزایش می‌یابد. برای سرعت هوای  $45\text{L/min}$  هیچ افزایشی مشخص نگردید. کارایی نمونه برداری برای اسپورهای بزرگتر، بیشتر از اسپورهای کوچکتر بود. برای کلادوسپوریوم، کارایی نمونه برداری به حدود ۹۰٪ رسیده بود. (شکل ۱ را ببینید) در حالی که برای آسپرژیلوس / پنی

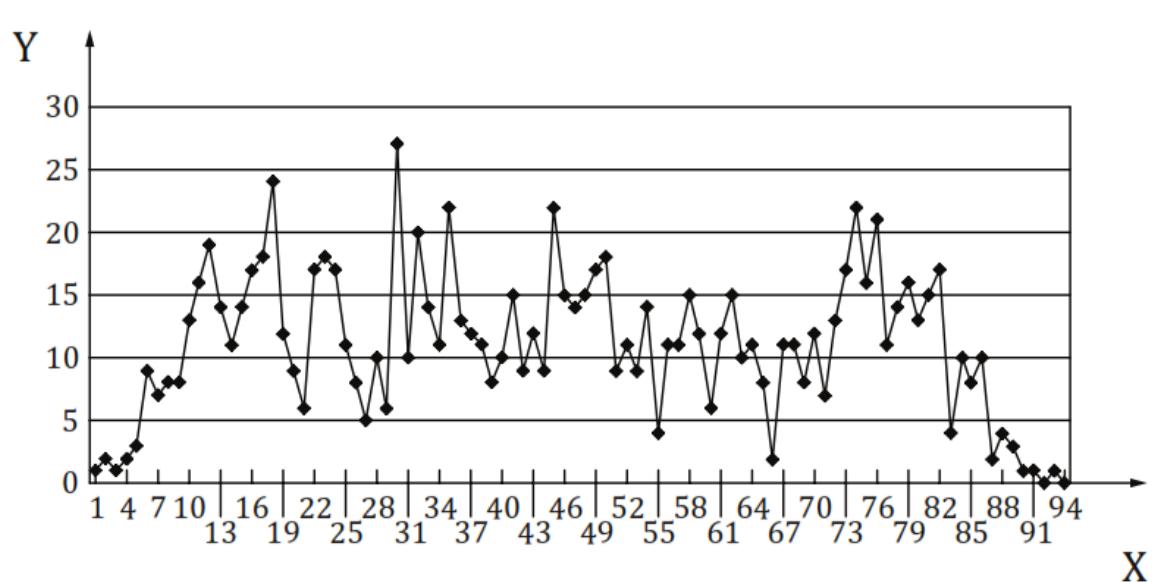
سیلیوم فقط ۳۰٪ تا ۸۰٪ بود در آزمایشات بعدی، از سرعت هوای  $30\text{ L/min}$  استفاده شد. کارایی نمونه برداری قابل مقایسه‌ای برای نمونه برداری با دستگاه Air-O-Cell گزارش شده است (مرجع ۷ را ببینید).

برخورد دهنده روزنه دار نوع PM30 صفحه‌ای به طول  $1,6\text{ Cm}$  و قطر  $1,1\text{ Cm}$  تولید می‌کند. با بزرگنمایی  $\times 1000$ ، در حدود ۹۴ فیلد میکروسکوپی داخل این صفحه  $1,6\text{ Cm}$  در جهت طولی قرار می‌گیرد. توزیع اسپورهای بزرگ (کیتومیوم یا استاکیبوتریس) و اسپورهای کوچک (آسپرژیلوس/ پنی سیلیوم) در غلظت‌های مختلف با استفاده از کشت‌های خالص تعیین شدند. در غلظت‌های بالا، اسپورها در همه فیلدهای میکروسکوپی یافت شدند اما تعداد خیلی کمی در فیلدهای ابتدایی و انتهایی صفحه شناسایی شدند. (شکل‌های ۲ و ۳ را ببینید). در غلظت‌های کم اسپورها در نمونه هوا، بسیاری از فیلدهای میکروسکوپی هیچ اسپوری نداشتند و حتی این اثر در صفحات ابتدایی و انتهایی بیشتر مشخص بود (شکل ۴ و ۵ را ببینید). معمولاً شمارش اسپورهای کوچک با بزرگنمایی  $\times 1000$  بر روی تعدادی از فیلدهای میکروسکوپی انتخابی انجام می‌شود. به دلیل تأثیراتی که در صفحات ابتدایی و انتهایی وجود دارد این نواحی نباید شمارش شوند.

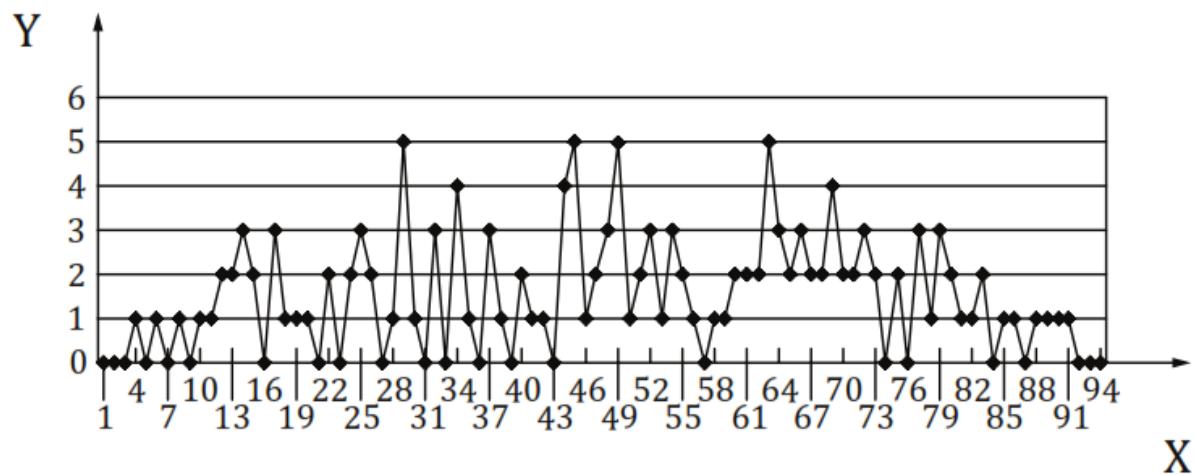
چنانچه فقط تعدادی از ۹۴ فیلد میکروسکوپی (۵، ۱۰، ۲۰ و یا ۳۰) مورد شمارش قرار گیرد و نتایج این شمارش‌ها محاسبه شوند، آزمایشات بیشتری برای تعیین خطای اندازه گیری انجام گردد. خطای اندازه گیری با افزایش غلظت اسپورها و افزایش تعداد فیلدهای میکروسکوپی شمارش شده کاهش می‌یابد (جدول ۲ را ببینید). برای رسیدن به خطای اندازه گیری کمتر از ۱۰٪، باید حداقل ۳۰، ۲۰، ۱۰ یا ۵ فیلد میکروسکوپی به ترتیب برای تعداد اسپورهای در حدود ۱۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ در هر  $200\text{ L}$  هوا شمارش شود. قابلیت روش تحت شرایط میدانی با اندازه گیری‌های تطبیقی با استفاده از برخورد دهنده PS30 and MBASS30 مورد بررسی قرار گرفت.



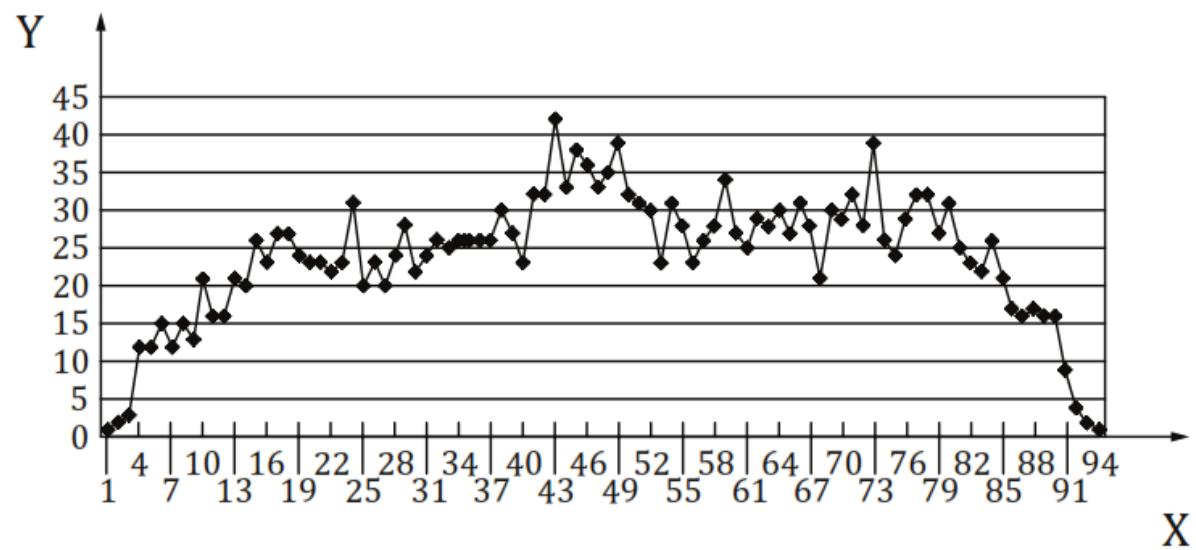
راهنما:  
 Y بهره وری نمونه به %  
 X حجم هوا به لیتر  
**شکل ۱- کار آئی نمونه برداری برای اسپور های بزرگتر (کلادوسپوریوم) در سرعت های مختلف هوا**



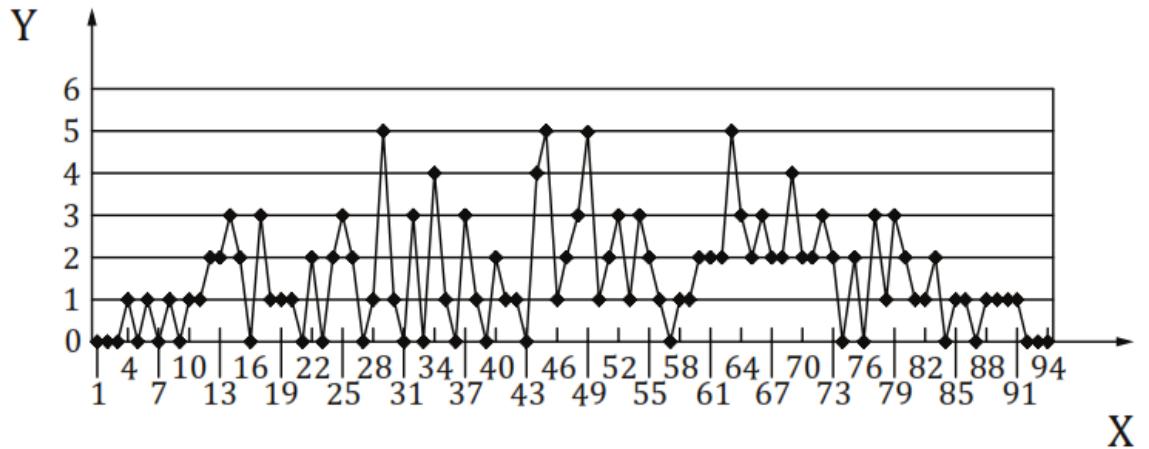
راهنما:  
 X تعداد برش عرضی  
 Y تعداد اسپورها  
**شکل ۲- توزیع ۱۰۳۸ اسپور استاکی بوتریس چارتاریوم در ۹۴ برش عرضی در طول نمونه**



شکل ۳- توزیع ۲۲۵۰ اسپورگونه آسپرژیلوس/پنی‌سیلیوم در ۹۴ برش عرضی در طول نمونه



شکل ۴- توزیع ۲۱۴ اسپور کیتومیوم در ۹۴ برش عرضی در طول نمونه



راهنمای:

X تعداد برش عرضی

Y تعداد اسپورها

شکل ۵ - توزیع ۱۴۴ اسپور گونه آسپرژیلوس/پنی‌سیلیوم در ۹۴ برش عرضی در طول نمونه

جدول شماره ۲ - میانگین تعداد اسپورها و انحراف از معیار اسپورهای شمارش شده در مقادیر مختلفی از فیلد های میکروسکوپی در ۴ نمونه با تعداد اسپورهای مختلف

شماره نمونه	غلظت اسپورها در ۲۰۰ لیتر هوای ۳۰ فیلد میکروسکوپی شمارش شده	غلظت اسپورها در ۲۰۰ لیتر هوای ۲۰ فیلد میکروسکوپی شمارش شده	غلظت اسپورها در ۲۰۰ لیتر هوای ۱۰ فیلد میکروسکوپی شمارش شده	غلظت اسپورها در ۲۰۰ لیتر هوای ۵ فیلد میکروسکوپی شمارش شده	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار
	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین	انحراف از معیار	میانگین
۱	۱۲۶	۱۴	۱۲۰	۲۴	۱۲۲	۳۴	۱۳۳	۱		
۲	۲۵۱	۷	۲۴۸	۱۱	۲۵۵	۱۷	۲۴۸	۲		
۳	۱۰۲۰	۵	۱۰۱۶	۸	۱۰۱۹	۱۶	۱۰۳۱	۳		
۴	۲۲۷۷	۳	۲۲۶۰	۴	۲۲۸۳	۶	۲۲۳۹	۴		

یادآوری ۱- نمونه ۱ و ۴: اسپورهای آسپرژیلوس یا پنی سیلیوم  
 یادآوری ۲- نمونه ۲: اسپور کیتو میوم  
 یادآوری ۳- نمونه ۳: استاتکی بو تریس چارتاریوم

**پیوست الف**  
**(الزمائی)**  
**تبادل نمونه برای تصدیق روش**

تطابق روش نمونه برداری و تجزیه و تحلیل شرح داده شده در این قسمت از استاندارد ISO 16000 تحت شرایط میدانی در ابعاد کوچک با ۴ آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. ۴ نمونه با ۴ دستگاه مختلف (همه PS30 با <sup>۷۱</sup> MBASS30) به طور موازی نمونه برداری گردید. هر نمونه به طور متوالی، به وسیله ۲ آزمایشگاه از ۴ آزمایشگاه شرکت کننده تجزیه و تحلیل شد. نتایج بدست آمده از غلظت‌های کل اسپور که توسط دستگاه‌های متفاوت نمونه برداری شده و در آزمایشگاه‌های با تجربه و متفاوت، شمارش شده است کاملاً مطابقت دارد.

**جدول ب-۱- داده‌های تبادل نمونه**

شمارش تعداد کل اسپور نمونه / مترمکعب								شماره آزمایشگاه
۴B	۴A	۳B	۳A	۲B	۲A	۱B	۱A	
$8,8 \times 10^{-4}$		$1,1 \times 10^{-5}$		$1,2 \times 10^{-5}$		$9,7 \times 10^{-4}$		۱
$7,4 \times 10^{-4}$	$8,5 \times 10^{-4}$	$7,1 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-5}$	$8,6 \times 10^{-4}$	$9,2 \times 10^{-4}$	$9,7 \times 10^{-4}$	$8,1 \times 10^{-4}$	۲
	$1,1 \times 10^{-5}$		$1,1 \times 10^{-5}$		$1,6 \times 10^{-5}$		$1,2 \times 10^{-5}$	۳

## پیوست ب

### (اطلاعاتی)

#### مثال هایی از برخورد دهنده ها

**جدول الف-۱- برخورد دهنده های روزنه دار برای تعیین تعداد کل اسپور در هوای داخل ساختمان**

محدوده نتیجه ارزیابی بر حسب اسپور (قطعات میسلیوم) (m <sup>3</sup> )	روش آماده سازی نمونه / تجزیه و تحلیل	برش(d <sub>50</sub> ) μm	حجم نمونه (m <sup>3</sup> )	مدت نمونه برداری پیشنهادی (min)	سیستم نمونه برداری / دبی حجم سنج
<sup>c d</sup> ۵۰ تا ۱۰۰۰۰۰	رنگ آمیزی و میکروسکوپ نوری، شمارش انواع اسپورها (جنس و یا گروه های جنسی)	۱/۸ <sup>a b</sup>	۰/۱۵ تا ۰/۲	۷ تا ۵ تقریباً	نمونه بردار با اسلایدهای قابل تعویض تقریباً ۳۰ L/min MBASS3,PS30
<sup>c d</sup> ۵۰ تا ۱۰۰۰۰۰	رنگ آمیزی و میکروسکوپ نوری، شمارش انواع اسپورها (جنس و یا گروه های جنسی)	بدون داده مناسب <sup>a b</sup>	۰/۰۷۵ تا ۰/۱۵	۵ تا ۷	نمونه بردار با اسلایدهای قابل تعویض تقریباً ۱۵L/min Allergenco Mk3g
<sup>c d</sup> ۵۰ تا ۱۰۰۰۰۰	رنگ آمیزی و میکروسکوپ نوری، شمارش انواع اسپورها (جنس و یا گروه های جنسی)	۲/۶ <sup>b c</sup>	۰/۰۷۵ تا ۰/۱۵	۷ تا ۵	کاست یکبار مصرف تقریباً ۱۵L/min Air-o-cell cassette <sup>h</sup> ,Allergenco- D cassette <sup>i</sup>

a کارایی مجموعه به میانگین نمونه برداری اختیاری بستگی دارد (چسبندگی، ویسکوزیته)

b کارایی مجموعه به شکل پوشش بیرونی اسپور بستگی دارد.

C کارایی مجموعه به شکل کاست های یکبار مصرف بستگی دارد.

d محدوده ارزیابی های دقیق کاربرد دارد. در اینجا مقادیر پایین تر به تعداد ارزیابی های دقیق بستگی دارد (بندهای ۶-۲ و ۶-۳ را ببینید) مقادیر بالاتر قابل وصول تا حد زیادی در تکرار اندازه گیری متفاوت است زیرا اسپورها، فلش های پوست و ذرات دیگر و غیره که روی صفحه متراکم کننده به دام افتاده اند، چسبیده شدن اسپورها بیشتر را محدود خواهد کرد.

ارزیابی از نمونه کامل، که فقط تشخیص اسپورهایی با مشخصات مورفولوژیکی واضح را ایجاد می کند (برای مثال استاکی بوتریس، چیتومیوم)، شناسایی یک گونه اسپور را روی کل صفحه متراکم کننده، برای مثال کل حجم نمونه را اجاره می دهد. به حال شناسایی اسپورهای تکی ارزیابی کمی را ممکن نمی سازد.

e حجم نمونه و سرعت جریان توسط سازنده پیشنهاد شده است.

f MDASS30 و PS30 مثال هایی از دستگاه های مناسب و موجود در بازار از شرکت Umweltanalvtik Holbach می باشد. این اطلاعات برای راحتی کاربران این سند داده شده است و به منزله تایید این محصول توسط سازمان استاندارد ایران نمی باشد.

g Altergenco MK3 مثالی از یک دستگاه مناسب موجود در بازار از شرکت Blewstane می باشد. این اطلاعات جهت راحتی کاربران این سند ارائه شده و به منزله تایید این محصول توسط سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.

h Air-o-cell مثالی از یک دستگاه مناسب موجود در بازار از شرکت zefon می باشد. این اطلاعات جهت راحتی کاربران این سند ارائه شده و به منزله تایید این محصول توسط سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.

i Allergenco-D مثالی از یک دستگاه مناسب موجود در بازار از شرکت سامانه های پایش محیط زیستی (EALS) می باشد. این اطلاعات جهت راحتی کاربران این سند ارائه شده و به منزله تایید این محصول توسط سازمان ملی استاندارد ایران نمی باشد.

پیوست پ  
(اطلاعاتی)  
کتابنامه

[۱] استاندارد ملی ایران شماره ۱۶-۸۴۷-۱۰: هوای داخل ساختمان- قسمت شانزدهم: شناسایی و شمارش کپک ها- نمونه برداری به روش صاف کردن

[۲] استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۵۶۷ : کیفیت خاک- اثر آلاینده ها روی قارچ میکوریزا- آزمون جوانه زنی اسپور

[۳] ISO 4225, Air quality — General aspects — Vocabulary

[۴] ISO 16000-19, Indoor air — Part 19: Sampling strategy for moulds

[۵] EN 13098:2000, Workplace atmosphere. Guidelines for measurement of airborne micro-organisms and endotoxin

[۶] VDI 4300 Part 10, Messen von Innenraumluftverunreinigungen — Messstrategien bei der Untersuchung von Schimmelpilzen im Innenraum [Measurement of indoor air pollution — Measurement strategies for determination of mould fungi in indoor environment]

[۷] Particle Cut-Size Evaluation of Air-O-Cell Sampler. Zefon International Analytical Accessoires.

---