بكتيريولوجيا مياه الشرب

إعداد

عبدالرزاق سليمان التومي

محمد الطاهر على سعد

مركز بحوث التقنيات الحيوية

2008

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.researchgate.net/profile/Salam_Alhelali?ev=hdr_xprf

07807137614

Tomei_abdu@yahoo.com **Saad_micro@yahoo.com**

وَجَعَلْنَاكُمْ
أُمَّةً وَسَطًا

تقدمة الكتاب

يُعَدْ علم الأحياء الدقيقة للمياه من العلوم المتجددة والتي تتطلب المتابعة المستمرة للتعرف على كل ماهو جديد وذلك نظراً لظهور تقنيات وإختبارات جديدة وحدوث تحويرات في الإختبارات المعهودة، وفي هذه النسخة من كتاب (بكتيريولوجيا مياه الشرب) تم التطرق لعدة مواضيع تساعد المتخصصين في هذا المجال على القيام بالإختبارات الروتينية والبحثية بكل يسر وصقلهم بالمعلومات النظرية الهامة، كما تم الإهتمام بكيفية التعليق على النتائج المعملية وإتخاذ الإجراءات التصحيحية والوقائية المناسبة وهذا ما كانت تفتقر إليه المكتبة العربية في هذا التخصص.

والله ولي التوفيق

م. عبدالرزاق سليمان التومي **م. محمد الطاهر على سعد**

المقدمة 1

ايشيريشيا كولاي 10

سالمونيللا 15

شيجيللا 19

فيبريو كوليرا 23

كامبيلوباكتير 29

هيليكوباكتير بايلوري 33

ايرومواناس 37

سيدوموناس 40

ستافيلوكوكس 43

كليبسيللا 47

سيرراتيا 50

فلافوباكتيريوم 52

البكتيريا الطحلبية 54

ليجيونيللا 58

أركوباتير 65

أسينيتوباكتير 67

الجراثيم الدالة العامة 70

- الجراثيم الدالة على التلوث الغائطي 70

- الجراثيم المؤشرة والنموذجية 70

صفات البكتيريا المؤشرة والدالة على التلوث 71

الجائحات الناتجة من إستهلاك المياه الملوثة 72

البكتيريا المؤشرة على وجود التلوث 74

- مجموعة البكتيريا القولونية 74

- البكتيريا القولونية الكلية 74

- البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة (البكتيريا القولونية الغائطية) 75

- مجموعة البكتيريا *إنتيروكوكاي* والبكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية 76

صفات البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية 77

نسبة تواجد البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة بالنسبة للبكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية 77

- البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز* والمختزلة للكبريت 78

مفهوم المستهلك عن جودة مياه الشرب 82

الأولويات المتعلقة بجودة المياه 82

طبيعة القيم الدليلة 83

أولويات الرصد 84

تعريف المياه الصالحة للشرب 84

تعريف المياه غير الصالحة للشرب 85

تعريف المياه الملوثة 85

تعريف مياه الصرف الصحى..... 85
الأعتيان 86
– الأعتيان من صنبور أو فوهة مضخة 87
– الأعتيان من مجرى مائي أو صهريج 90
– الأعتيان من آبار محفورة 91
المعلومات الواجب توافرها مع العينة المأخوذة 92
الضوابط التي تحدد عدد مرات الأعتيان 95
معدّل الأعتيان لمياه الشرب من شبكة التوزيع 95
مياه أنابيب التوزيع 96
الماء غير المعالج قبل دخوله شبكة التوزيع 97
مصادر المياه المعالجة بالكلور 97
اختيار الطريقة المناسبة للتحليل 97
المياه الخارجة من شبكة التوزيع 97
مياه المصادر غير المزودة بأنابيب 98
الكشف عن البكتيريا الدالة على التلوث وكيفية عدّها 103
– اختبار وجود/عدم وجود 103
– طريقة الأنابيب المتعددة 105
– الاختبار الأفتراضى 110
– الاختبار التأكيدي 110

عدّ البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية 118

عدّ البكتيريا كلوستريديوم بيرفرينجنز 121

– طريقة الترشيح الغشائي 124

العد الأفتراضى للبكتيريا القولونية باستعمال طريقة الترشيح الغشائي 134

العد التأكيدي للبكتيريا القولونية والبكتيريا *ايشيريشيا كولاي* باستعمال طريقة الترشيح الغشائي 134

عدّ المستعمرات البكتيرية *ستربيتوكوكس* الغائطية بطريقة الترشيح..... 137

عدّ المستعمرات البكتيرية *كلوستريديوم بيرفرينجنز* بطريقة الترشيح 140

عَدّ وحساب وكيفية أعداد تقرير بالنتائج 144

– اختبار العد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية 147

– طريقة صب الطبق 152

– طريقة التوزيع على الطبق 158

التعليق وتدوين النتائج 160

المياه المعبأة 166

طريقة الكشف عن البكتيريا القولونية في المياه المعبأة 173

– الإختبار الإفتراضي 173

– الإختبار التأكيدي 174

– التعليق على النتائج 174

طريقة الكشف عن العدد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية في المياه المعبأة 175

– الطريقة 175

- التعليق على النتائج 176

الكشف عن البكتيريا سيدوموناس إيروجينوزا بإستعمال طريقة الترشيح الغشائي 177

- التعليق على النتائج 178

عزل البكتيريا المختزلة للكبريت من عينات المياه أوالطمي بطريقة التخفيف المتسلسل ... 179

تحديد وجود البكتيريا المُرسبة للحديد بإستعمال طريقة الاوساط المغذية وطريقة المجهر الضوئي 182

الطريقة البيولوجية للتخلص من النترات في مياه الشرب 189

عملية التخلص من النترات بإستعمال طريقة BioDen 190

التأثيرات السلبية للنترات المتواجدة في المياه 197

عملية معالجة المياه 201

- التخثر، التكتل والترسيب 202

- الترشيح 203

- المُرشِح الرملي السريع 203

- المُرَشِح الرملي البطيئ 204

- مرشح الكربون النشط 207

- المُرشح الغشائي 207

- التثبيط الكيميائي 210

- عملية الكلورة 211

العوامل التي تؤثر على كفاءة عملية المعالجة 212

- المعالجة بالأوزون 213

- المعالجة بالأشعة فوق البنفسجية 214
الأجراءات المنزلية لتطهير المياه في الحالات الطارئة 216
طرق التطهير الطارئة 216
- الغليان 216
- المعالجة الكيميائية 216
- إستعمال الكلور 217
- البوتاس 217
- حبيبات هيبوكلورايث الكالسيوم 217
- أقراص الكلور 218
- إستعمال اليود 218
- اليود الطبي 218
- أقراص اليود 219
- التطهير بأشعة الشمس 219
- تأثير حرارة الأشعة الشمسية 219
- تأثير الأشعة فوق البنفسجية 219
- تأثير حرارة الأشعة الشمسية والأشعة فوق البنفسجية معاً 220
- تطهير الآبار بإستعمال الكلور 222
الأوساط الغذائية 227
الكـــواشـــــف 242

المـــــــواد 244

مواقع إليكترونية ينصح بالإطلاع عليها 248

المراجع 249

المقدمة

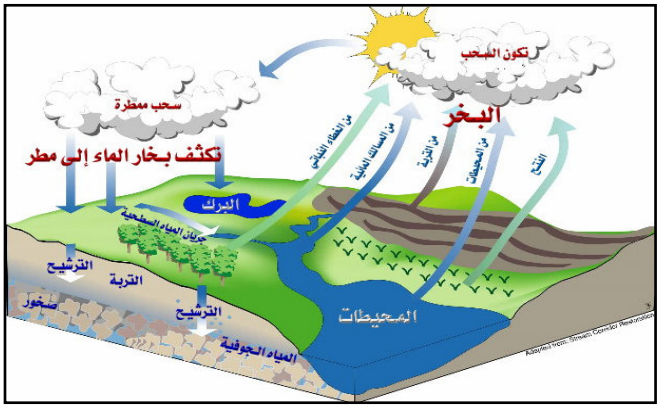
تُقدَر كمية المياه المتواجدة في كوكب الأرض بأنها أكثر من بليون كيلومتر مكعب وتغطي هذه المياه ثلاثة أرباع سطح الكرة الأرضية حيث تتواجد على هيئة محيطات وأنهار وبحيرات ومياه مجمدة وثلوج كما تتواجد على هيئة رذاذ ينتشر في الهواء الجوي وفي الأعماق المختلفة لطبقات الأرض.

تقوم المياه بدور رئيسي وحيوي في شتى صور الحياة، فهي لها دور هام في مجالات الزراعة والصناعة مما يؤثر بشكل كبير على الناحية الاقتصادية وتقدم الأمم. وبالرغم من وفرة المياه على كوكب الأرض إلا أن المياه العذبة تُشكل حوالي 2.5% من إجمالي المياه المتوفرة ويتواجد اغلبها على هيئة كتل ثلجية حيث تُشكل المياه العذبة المتاحة للاستعمال حوالي 0.77% (مايعادل 10652 بليون متر مكعب) تتواجد أغلبها على هيئة مياه جوفية. وتتواجد المياه العذبة المتوفرة للاستعمال بنسبة حوالي 0.76% على هيئة برك وأنهار، وبنسبة حوالي 0.009% في التربة الرطبة والهواء الجوي، كما تُشكل المياه المالحة حوالي 97.5% من إجمالي المياه وهي تتواجد في المحيطات والبحار والبرك المالحة أوكمياه جوفية مالحة تحتوي على تركيزات عالية من العناصر الكيميائية.

تتواجد المياه في حركة مستمرة ومتواصلة حيث تصُب في الأنهار ثم تتبخر من جديد وتنتشر في أرجاء الغلاف الجوي على هيئة رذاذ (بخار ماء)، لتتكثف وتعود فتتساقط من جديد على هيئة أمطار وثلوج وقد تتسرب لتصل إلى طبقات الأرض العميقة وتشكل ما يُعرف بالمياه الجوفية وهذه الدورة تُعرف بدورة المياه في الطبيعة، وهذه الدورة تجعل المياه العذبة مياه متجددة مما يسمح بالحياة على كوكب الأرض. وتعتمد دورة المياه في الطبيعة على الطاقة الشمسية التي تُبخر المياه حيث يُقدر معدل المياه المُتبخرة من المحيطات حوالي (505000 بليون متر مكعب في السنة) يعود 90% منها إلى المحيطات وحوالي 10% (تقريباً 47000 بليون متر مكعب) تعود من جديد إلى اليابسة. ويُشكِل رذاذ

الماء المتواجد في الهواء كنتيجة لتنفس النباتات أو المتبخِر من اليابسة حوالي 119000 بليون متر مكعب في السنة وهذا الرذاذ يتكثف من جديد ليعود إلى الأرض.

يختلف توزيع المياه على سطح الكوكب باختلاف فصول السنة ومن سنة إلى أخرى وأدَّى تزايد وتباين عدد المستهلكين في مختلف القارات إلى تزايد الطلب على المياه حيث تضاعف عدد السكان ما بين سنة 1900 وسنة 1965 بمعدل الضعف وهذا العدد تضاعف من جديد منذ ذلك الوقت حتى سنة 2000 وفي ذات الوقت تضاعفت كمية المياه من 500 بليون متر مكعب خلال سنة 1900 لتصل إلى 1000 بليون متر مكعب خلال سنة 1940، وتضاعفت من جديد خلال سنة 1960 لتصل إلى 3000 بليون متر مكعب سنة 1980 إلا أن الكمية تقلصت في الآونة الأخيرة لتصل إلى حوالي 3900 بليون متر مكعب خلال الفترة من 1990 وحتى سنة 2000 ومن الطبيعي أن يُصاحب التزايد في عدد السكان تزايد الحاجة للغذاء مما تطلب زيادة الطاقة الإنتاجية الزراعية والصناعية حيث تضاعف الناتج الصناعي مرة واحدة أما الناتج الزراعي فتضاعف إلى 2.5 مرة كنتيجة إلى التطور الصناعي والزراعي. وتعتبر الدول الواقعة في قارتي آسيا وأفريقيا من أكثر الدول تزايداً في عدد السكان حيث تضاعف عدد السكان إلى حوالي 3 أضعاف العدد خلال خمسينيات القرن الماضي ومن المتوقع أن يزداد عدد سكان قارة آسيا عند حلول سنة 2025 بنسبة حوالي 50% من إجمالي عدد السكان الموجودين حالياً، أما قارة أفريقيا فمن المتوقع أن يتضاعف عدد سكانها مرتين وبالتالي فإنه من المتوقع أن يصل عدد سكان العالم خلال سنة 2025 حوالي 8.5 بليون نسمة.



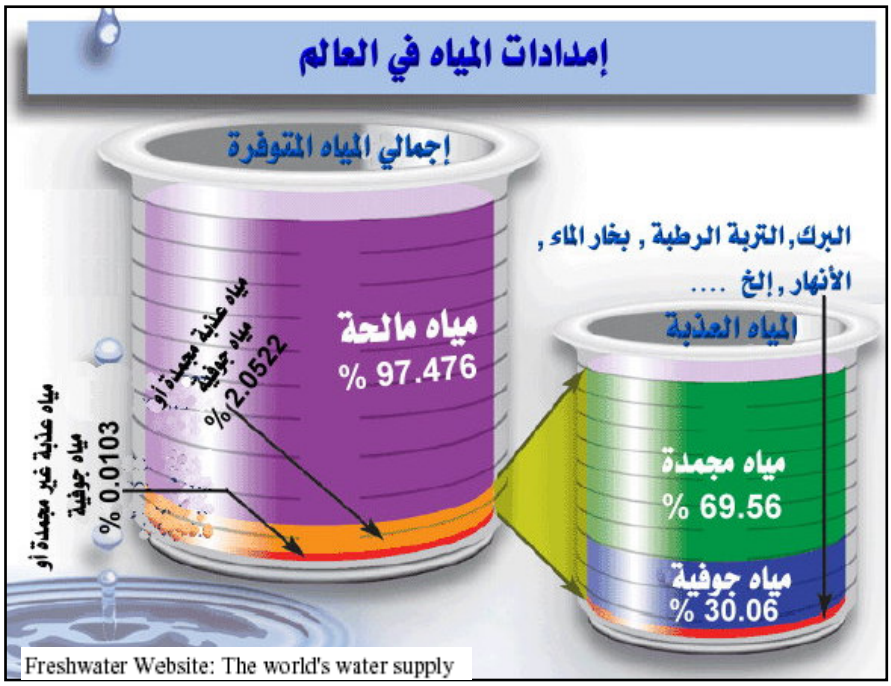
دورة المياه في الطبيعة

ازداد عدد المستهلكين المستفيدين من شبكات توزيع المياه من حوالي 4.1 بليون نسمة (79%) في سنة 1994 إلى حوالي 4.9 بليون نسمة (82%) خلال سنة 2000، كما ازداد خلال تلك الفترة نسبة الأشخاص المستفيدين من شبكات الصرف الصحي من حوالي 2.9 بليون نسمة (55%) إلى حوالي 3.6 بليون نسمة (60%) ومع بداية سنة 2000 أصبح حوالي 1.1 بليون نسمة (1\6 عدد السكان) بحاجة لشبكات توزيع مياه الشرب الآمنة وحوالي 2.4 بليون نسمة (حوالي 2\5 عدد السكان) بحاجة لشبكات الصرف الصحي ويتواجد أغلب هؤلاء المستهلكين بصورة كبيرة في قارتي آسيا وأفريقيا حيث أن أقل من النصف بقليل من المستهلكين الآسيويين تتوفر لهم شبكات الصرف الصحي وحوالي عدد 2 من أصل 5 من المستهلكين في قارة أفريقيا تتوفر لهم المياه الصالحة للاستهلاك الآدمي. كما يختلف توفر النوعية الجيدة لمياه الشرب وكذلك شبكات الصرف الصحي للمياه بين المناطق الريفية والمدن في هاتين القارتين حيث تمثل شبكات الصرف الصحي نصف النسبة التي يستفيد منها سكان المدن حيث أن حوالي 80% من سكان المناطق الريفية يفتقدون لخدمات الصرف الصحي للمياه (حوالي 2 بليون نسمة) منهم حوالي 1.3 بليون نسمة يعيشون في الصين والهند فقط.

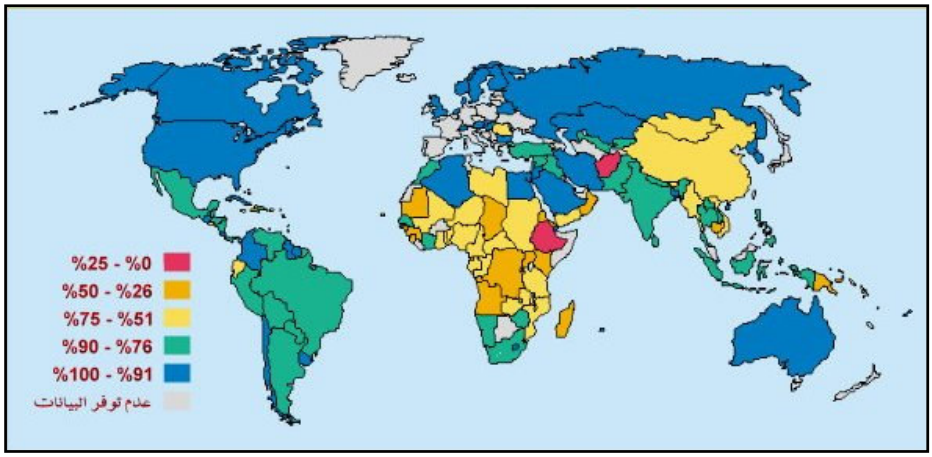
ونظراً للتزايد المتسارع لعدد السكان في قارة آسيا وأفريقيا وأمريكا اللاتينية وكذلك منطقة الكاريبي فإن مشكلة توفير شبكات إمداد المياه الصالحة للشرب وشبكات مياه الصرف الصحي ستواجه العديد من الصعوبات يجب أخذها في الاعتبار من هنا فإن المنظمات العالمية وضعت في خططها تحسين هذه الخدمات قبل بلوغ سنة 2015. وهذا الهدف يتطلب توفير المياه الصالحة للشرب لحوالي 280.000 مستهلك يومياً وتوفير خدمات الصرف الصحي لحوالي 384.000 نسمة يومياً. وهذا الهدف العالمي يستلزم توفير مياه الشرب لحوالي 3 بليون مستهلك وتوفير خدمات الصرف الصحي لأكثر من 4 بليون نسمة قبل بسنة 2015.

يعتبر توفر المياه الصالحة للشرب وتوفر شبكات تصريف مياه الصرف الصحي من الأولويات التي تسعى الدول لتوفيرها لمواطنيها وهي من أساسيات حقوق الإنسان،

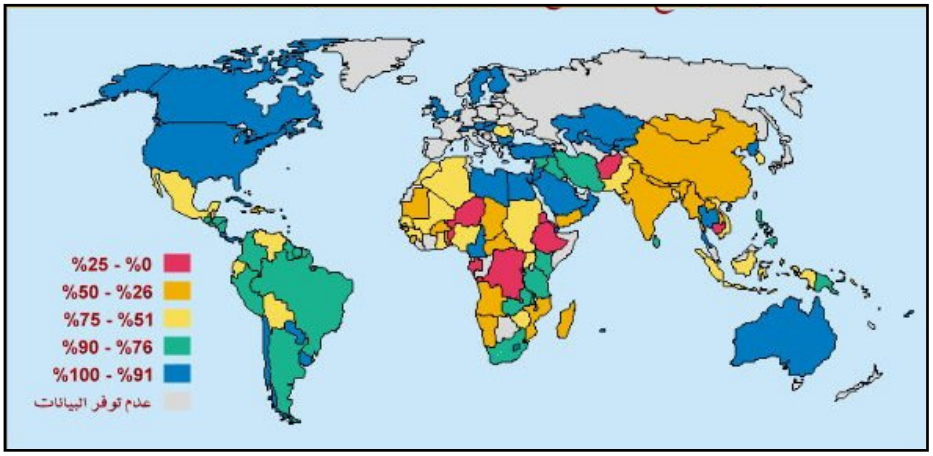
ومع توفر هذه الإمكانيات ستزداد القدرة الإنتاجية من خلال تحسن الحالة الصحية للمستهلكين والعكس صحيح وبالتالي فإن المياه مرتبطة ارتباطاً وثيقاً بالناحية الاقتصادية لجميع الدول ونظراً لأهمية المياه للإنسان والحيوان حيث تساعد على هضم الطعام وتخليص الجسم من السموم لذلك فإن جسم الإنسان يحتاج حسب الجنس لمقدار معين من المياه تختلف هذه الكمية باختلاف فصول السنة والمرحلة العمرية والوظيفة الفيسيولوجية وكذلك الجهد العضلي المبذول.



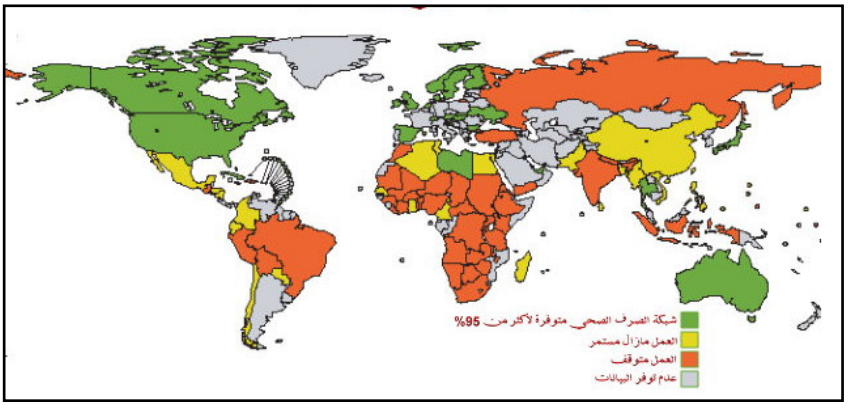
كميات ونوعيات المياه المتوفرة



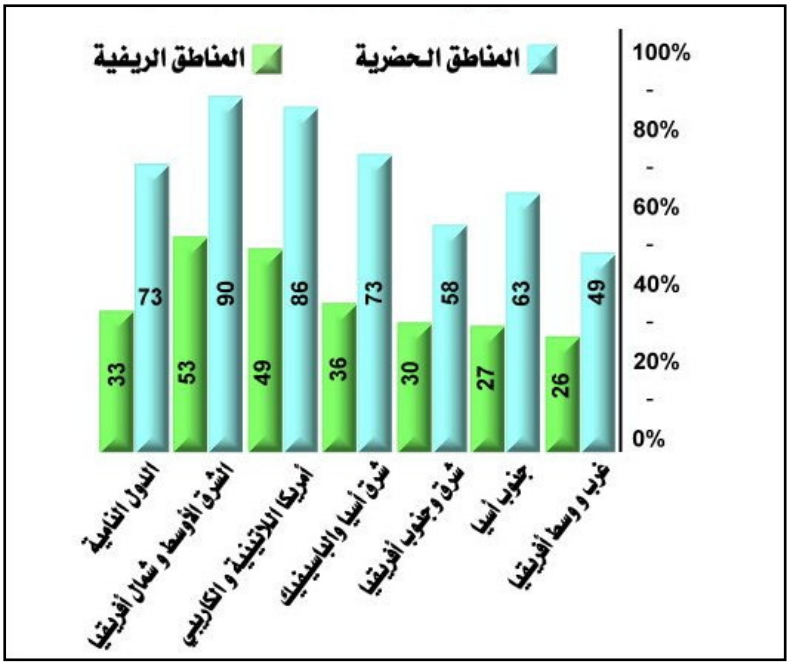
خريطة جغرافية توضح نسبة إنتفاع المستهلكين بشبكات مياه الشرب لسنة 2000



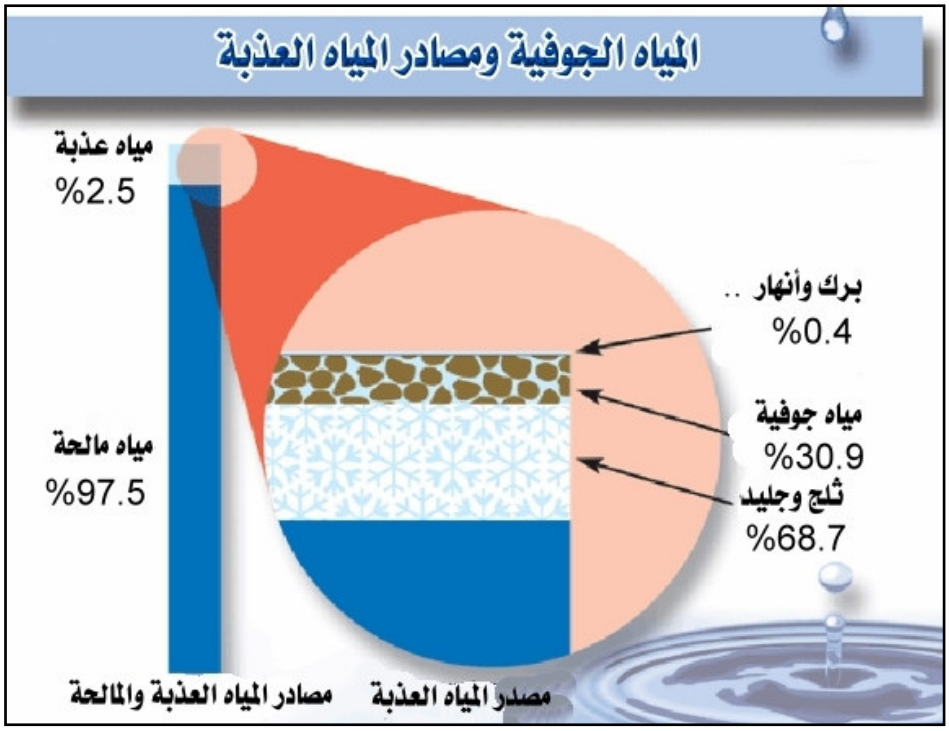
خريطة جغرافية توضح نسبة إنتفاع المستهلكين بشبكات الصرف الصحى لسنة 2000



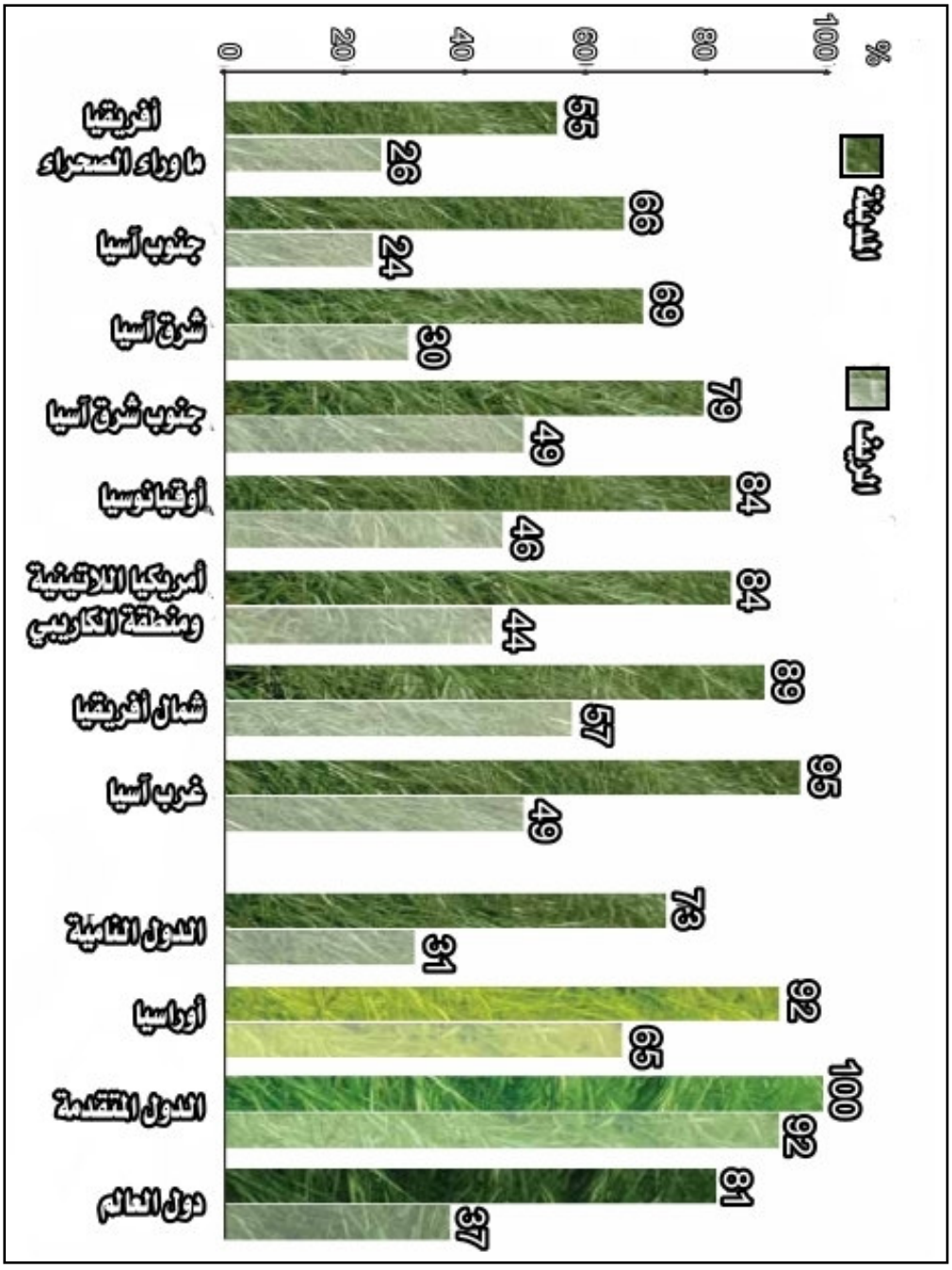
خريطة جغرافية توضح تطور خدمات الصرف الصحي مابين سنة 1990 وسنة 2002



تحسن خدمات الصرف الصحي في المناطق الريفية والحضرية خلال سنة 2004



المياه الجوفية ومصادر المياه العذبة



نسبة انتشار خدمات الصرف الصحي في مدن وقرى دول العالم خلال سنة 2002

جدول يوضح احتياج الجسم للمياه حسب الجنس والمجهود العضلي

	المقادير (لتر/اليوم)			
	الظروف العادية	مجهود عضلي/ درجة حرارة مرتفعة	الكمية اللازمة أثناء الحمل	الكمية اللازمة أثناء الرضاعة
إناث بالغات	2.2	4.5	4.8	5.5
ذكور بالغين	2.9	4.5	–	–
أطفال	1.0	4.5	–	–

قدّرَت منظمة الصحة العالمية أن أكثر من 80% من الإصابات والأمراض المنتشرة في أرجاء العالم لها علاقة بالمياه وذلك إما بطريقة مباشرة: كنتيجة لعدم الإهتمام الجيد بتصريف مياه الصرف الصحي التي قد تحتوي على الجراثيم الممرضة والتي من الممكن أن تصل إلى مياه الشرب لتكون هذه المياه الملوثة المسبب الرئيسي للعديد من الأمراض إذا ما تم تناولها أو استعمالها الاستعمال الحضري. أو قد يكون لها دور بطريقة غير مباشرة: كنتيجة لعدم توفر المياه مما يؤدي إلى حدوث الجفاف وانعدام النظافة الشخصية. من هنا كان من الضروري الاهتمام بتحسين خدمات الصرف الصحي وتزويد المستهلكين بالماء الصالح للاستعمال الحضري.

هناك العديد من الأمراض التي قد تنتقل عن طريق استهلاك المياه الملوثة بمياه المجاري والمخلفات الحيوانية منها على سبيل المثال مرض حمى التيفود والكوليرا والزحار الأميبي ومن هنا فإنه وَجَبَ على المهتمين بجودة المياه ضمان خلوه من هذه الملوثات الجرثومية وحيث أنه من الصعب إجراء الاختبارات الدورية للكشف على جميع الجراثيم الممرضة وذلك لعدم جدوى هذه الاختبارات في الكثير من الأحيان حيث أن بعض هذه الملوثات الجرثومية قد لاتتواجد بصورة مستمرة في الماء أو أنها غالباً ماتتواجد بأعداد قليلة يصعب تحديد وجودها لذا يُفضِل إجراء الاختبارات التي تكشف وجود الجراثيم التي تدل على حدوث التلوث الغائطي لمياه الشرب وفيما يلي بعض الأجناس البكتيرية التي قد تتواجد في المياه وتسبب مشاكل صحية إذا ما تم تناول هذه المياه الملوثة وأمثلة لهذه الأمراض.

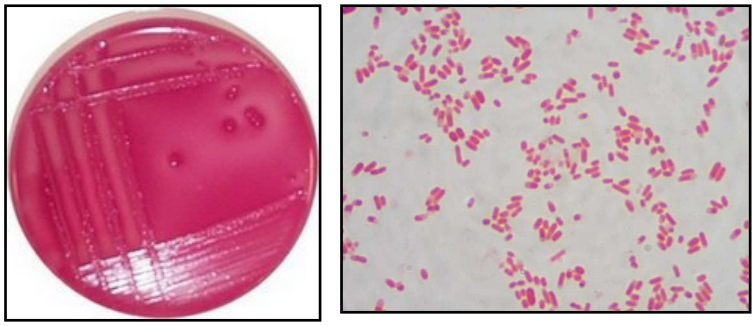
إيشيريشيا كولاي: Escherichia coli

وهي عبارة عن بكتيريا سالبة لصبغة غرام غير مكونة للأبواغ وهي متحركة لاحتوائها على أسواط متعددة وتمتلك حافظة أو حافظة دقيقة microcapsule تكسبها اللزوجة عند نمو المستعمرات البكتيرية في الوسط الغذائي المناسب. كما أنها لاهوائية اختياريا ولها القدرة على تخمير الكربوهيدرات منتجةً غازاً. خلاياها عصوية ويتراوح حجمها حوالي 2.0 – 6.0 ميكرومتر طولاً وحوالي 1.1 – 1.5 عرضاً كما أن الشكل الظاهري للخلايا قد يكون كروياً أو عصيات خيطية طويلة، والسلالات المحتوية على حافظة لها القدرة على إنتاج مستضد خارجي يعرف بـــ K antigen وM antigen. ولهذه البكتيريا أهذاب تساعدها على الالتصاق بخلايا العائل وهذه الأهذاب تختلف من حيث التركيب في السلالات المختلفة للبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.

تم التعرف على هذه البكتيريا سنة 1885 وسميت آنذاك بـــ *Bacterium coli* commune وإستمر تداول هذا الإسم حتى سنة 1919 عندها تم تعديل الاسم وأصبحت تسمى *إيشيريشيا*، وبدأ في أربعينات القرن الماضي التعرف على أنواعها المختلفة وتصنيفها إلى أكثر من 70 مجموعة مصلية مختلفة إعتماداً على المستضد (O antigen)، وفي الوقت الحالي إضيف إليها أكثر من 50 نوع اعتماداً على المستضد (H antigen) وأكثر من 100 نوع بناءاً على المستضد (K antigen).

تظهر الاختبارات الكيموحيوية أن لهذه البكتيريا القدرة على إنتاج الغاز عند تخميرها لسكر اللاكتوز كما لها القدرة على إنتاج الإندول وقادرة على إحلال اليوريا وتعطي نتيجة سالبة التفاعل لاختبار إنتاج كبريتيد الهيدروجين عند تنميتها في الوسط الغذائي Triple Sugar Iron Agar(TSI). و ليس لها القدرة على إماءة الجيلاتين وغير قادرة على النمو في الوسط الغذائي Simmons’ citrate agar (CSA). وهي المسؤولة عن تفشي اغلب حالات الإسهال خلال فصل الصيف وبعض حالات الإسهال عند الأطفال وحالات التسمم الغذائي، وتتواجد هذه البكتيريا بصورة طبيعية كفلورة طبيعية في أمعاء

الإنسان والحيوان، وفي بعض الأحيان تتحول إلى بكتيريا ممرضة مسببة بعض الإصابات، فهي على سبيل المثال المسبب الرئيسي لالتهابات الجهاز البولي الحادة والمزمنة، وحتى هذا الوقت فهي تصنف على أنها بكتيريا غير ضارة من ضمن مجموعة الفلورا البكتيرية المتواجدة في الأمعاء حيث أن أغلب أنواعها غير ممرضة.



إيشيريشيا كولاي

مع العلم بأنها مسئولة عن إحداث التهاب السحايا عند الأطفال الرضع ومن خلال الدراسات التي أجريت تبين أن الجرعة الممرضة اللازمة لإحداث المرض تختلف حسب نوع البكتيريا حيث أن البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* من نوع Enteropathogenic (***EPEC***) تحتاج لتركيز يتراوح مابين 10^{5} – 10^{10} خلية بكتيرية، وحوالي 10^{8} – 10^{10} خلية بكتيرية للبكتيريا Enterotoxigenic (***ETEC***)، كما أن البكتيريا Enteroinvasive (***EIEC***) فإن الجرعة الممرضة تحتوي على 10^{8} خلية بكتيرية، وهذا يعتمد على عدة عوامل أخرى مثل العمر، الجنس ودرجة حموضة المعدة. إلا أنه يكفي فقط أقل من 100 مستعمرة بكتيرية من النوع Vero cytotoxigenic *E. coli* (***VTEC***) لإحداث الإصابة وهي بالتالي من أهم أنواع البكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.

تواجدها في الطبيعة:

تتواجد هذه البكتيريا بصورة طبيعية في أمعاء الإنسان والحيوانات ذوات الدم الحار وتتواجد بأعداد كبيرة في الإخراجات الآدمية والحيوانية ولها القدرة على التواجد في حالة سكون في الطبيعة دون أن تتكاثر، وإذا ما تواجدت في الطبيعة فقد يكون ذلك دليلاً

على التلوث بالفضلات الآدمية مع العلم بأنها تتواجد في المناطق الاستوائية بصورة كبيرة وبالتالي فهي قد تكون دليلاً غيرَ كافٍ على وجود تلوث غائطي في هذه المناطق. بالرغم من ذلك فقد تم اختيارها كمؤشر على التلوث الغائطي للمياه والأغذية حيث أن وجودها في المياه أو الطعام يجعل احتمالية تواجد البكتيريا المعوية الممرضة مثل البكتيريا *شيجيلا* والبكتيريا *سالمونيلا* وكذلك الفيروسات المعوية أمراً وارداً.

الدراسات الوبائية:

تم رصد بعض الجائحات الوبائية في قارتي أوروبا وأمريكا نتيجة الإصابة بالبكتيريا (***EPEC***) حيث تزداد إصابة الأطفال بالتهابات الأمعاء خلال شهور فصل الصيف وتتركز الإصابات في المناطق الفقيرة وذلك نظراً لسوء الحالة الصحية وانعدام النظافة الشخصية وقد يكون للمياه دور في نشر المرض إلا أنه حتى الآن ليس هناك دليل كاف على دور المياه في ذلك. بينما البكتيريا (***ETEC***) هي المسؤولة عن أغلب حالات وفيات الأطفال تحت سن الخامسة في الدول النامية كما تم رصد حالات إصابة بالإسهال في العديد من الدول المتقدمة نتيجة الإصابة بهذه البكتيريا كما أنها تُعَد المسبب الرئيسي لمرض إسهال المسافرين وتعتبر المياه الناقل الرئيسي لهذه البكتيريا. ومن الجائحات الكبيرة التي تم توثيقها أصيب فيها أكثر من 2000 شخص في أمريكا وذلك خلال فصل الصيف لسنة 1975. كما تم توثيق جائحة أصيب فيها حوالي 251 مسافر وعدد 51 من طاقم إحدى السفن السياحية في البحر المتوسط نتيجة استهلاك المياه الملوثة بهذا النوع من البكتيريا حيث عزلت هذه البكتيريا من مياه الصنبور ومن خلال التقصي تبين عدم كفاءة عملية المعالجة بالكلور. وهناك جائحة أخرى أصيب فيها حوالي 2512 ويُعتبر من الشائع الإصابة بهذه البكتيريا على متن السفن التجارية وذلك نتيجة تناول المياه غير المعبأة أو كنتيجة لاضافة مكعبات الثلج الملوثة. في إحدى الدراسات التي أجريت في الإكوادور سنة 1992 لمجموعة من الأطفال من المرحلة العمرية 7 – 10 سنوات تبين أنهم يمتلكون أجسام مضادة لهذه البكتيريا نتيجة تناولهم مياه ذات جودة رديئة وتم التعرف في ثمانينات القرن الماضي على البكتيريا(***EHEC***) Enterohaemorrhagic *E.coli* كأحد المسببات

الرئيسية للإصابات الحادة بين الشباب والعجزة حيث تتواجد هذه البكتيريا في أمعاء حيوانات مختلفة وكذلك الإنسان ولها القدرة على الانتقال عبر المياه والأطعمة الملوثة. وتم رصد النوع المصلي O157:H7 في العديد من الجائحات التي حدثت في أوروبا وأمريكا الشمالية، ففي إحدى الدراسات التي أجريت سنة 1990 في ولاية ميزوري من إجمالي 3126 نسمة ظهرت أعراض الإعياء على 243 شخص حوالي 86 منهم أصيبوا بإسهال مصحوب بدم و 36 شخص تم إيوائهم المستشفى كما توفى 4 أشخاص نتيجة الإصابة. ومن الجائحات الأخرى التي رُصدت كانت في أفريقيا الجنوبية وسوازيلاندا خلال سنة 1992 حيث أصيب الآف الأشخاص بالإسهال المصحوب بدم من أكثر الجائحات التي سببتها البكتيريا (***EHEC***) كانت ما بين شهر مايو ويونيو لسنة 2000 في مقاطعة أونتاريو وأصيب فيها حوالي 1346 شخص تم في البداية تعريف الكائن المسبب على أنه البكتيريا *كامبيلوباكتر* بدلاً من البكتيريا (***EHEC***) بالاضافة لعدد 65 شخص تم إيوائهم للمستشفى المحلي، 27 حالة منهم أصيبوا بمرض Haemolytic uraemic Syndrom مع تسجيل عدد 6 حالات وفاة وتم التأكد من أن المياه كانت السبب الرئيسي لحدوث المرض نظراً لتلوث المياه بفضلات الماشية كنتيجة لهطول أمطار غزيرة وحدوث فيضان.

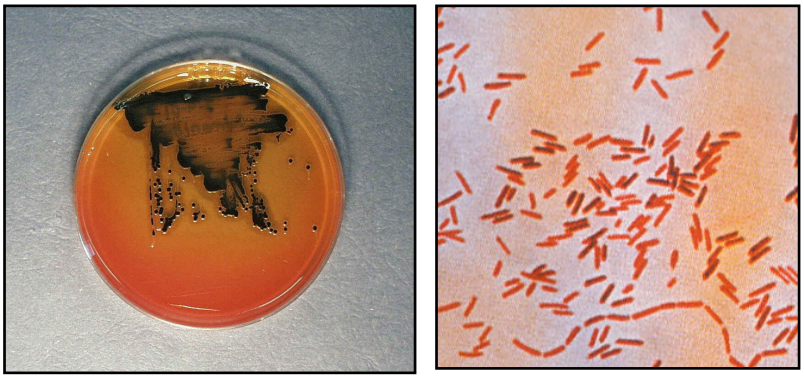
ويعتقد أن البكتيريا (***EIEC***) تتنقل عن طريق مباشر من شخص لآخر ومن غير الشائع انتقالها عن طريق المياه مع العلم بأنه قد تم رصد جائحة واحدة نتيجة تلوث المياه الملوثة بهذه البكتيريا وذلك سنة 1959. بينما تم التأكد من دور المياه في نقل البكتيريا(***EIEC***) حيث لوحظ في إحدى القرى الهندية الصغيرة أن الأشخاص الذين يتناولون مياه الشرب من الآبار العميقة أقلُّ عرضة للإصابة بالإسهال من الأشخاص الذين يتناولون المياه من الآبار السطحية الضحلة حيث تم عزل هذه البكتيريا من هذه الآبار السطحية.

بصورة عامة تتأثر البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* بسرعة عند تعريضها لمادة الكلور ومواد التطهير الأخرى من هنا فإنه يُنصح بإبقاء مقدار من تركيز الكلور الحر في شبكات

توزيع المياه منعاً لاحتمالية انتشار الأمراض وانتقالها عبر المياه غير المعالجة بصورة جيدة أو المياه الملوثة بالفضلات الغائطية وذلك بعد معالجتها.

سالمونيلا Salmonella

وهي عبارة عن بكتيريا عصوية الشكل سالبة لصبغة غرام وغير هوائية اختياريا وغير مكونة للأبواغ وتحتوي على العديد من الأسواط تساعدها على الحركة ويتراوح طول الخليه ما بين 2 – 5 ميكرومتر وعرضها حوالي 0.8 – 1.5 ميكرومتر وتصنف على أنها بكتيريا ممرضة للإنسان والحيوان.



خلايا البكتيريا *سالمونيلا*

تواجدها في البيئة:

يعتمد تواجدها في الطبيعة على وجود الحيوانات ومن أهم العوائل التي تساعد على تواجد هذه البكتيريا الطيور الداجنة والوز والماشية والقوارض والسلاحف والخنافس والقطط كما يمكن أن تستفيد من الإنسان كعائل (وهو مايُعرف بالأشخاص الحاملين للبكتيريا) ويتم إحداث الإصابة عن طريق تناول الأطعمة الملوثة ببراز أحد العوائل المصابة أو تناول لحوم الحيوانات المصابة حيث من الممكن أن تتلوث بهذه البكتيريا أثناء عملية الذبح مع العلم بأنه هذه البكتيريا تم عزلها من المياه الملوثة كما يمكن لهذه البكتيريا التواجد في مياه الصرف الصحي حيث تبين في إحدى الدراسات وجود نسبة تتراوح مابين 1 و 1100 خلية بكتيرية فى كل مليلتر والدراسات البحثية توضح أن حوالي 80% من Activated sludge effluents يحتوي على هذه البكتيريا، فعند تلوث مياه الشرب بمياه الصرف الصحي يجعلها تتواجد بصورة كبيرة فقد تتلوث المياه السطحية أو الجوفية بمياه

الصرف الصحي أو مياه الفيضانات المحملة بالفضلات الحيوانية وتبين من خلال إحدى الدراسات تواجدها في حوالي 58% من إجمالي المياه السطحية الملوثة، حيث لأغلب سلالات هذه البكتيريا القدرة على البقاء لفترات طويلة في المياه ولها القدرة على التكاثر في المياه شديدة التلوث خلال فصول السنة الدافئة وتتأثر هذه البكتيريا أثناء عمليات معالجة المياه إلا أن بعض الدراسات أظهرت قدرتها على مقاومة عمليات المعالجة بنسبة أعلى من البكتيريا القولونية وهذا يعني أن عدم تواجد البكتيريا القولونية أو البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* فإن هذا لايعني عدم وجود البكتيريا *سالمونيلا* كما أن احتمالية عودة نموها على هيئة كتل حيوية biomass في أنابيب إمدادات مياه الشرب أمرٌ يجعلها لاتتأثر بعمليات المعالجة بسهولة إلا أنه يجب أن تكون مياه الشرب خالية من هذه البكتيريا الممرضة إلا أن صعوبة تحديد وجودها أو عدها باستعمال اختبارات روتينية يجعل من غير المفيد وضعها ضمن الاختبارات الروتينية لمراقبة جودة مياه الشرب العالمية إلا أنها قد تستعمل لتحديد مدى كفاءة عمليات المعالجة وسلامة شبكة توزيع المياه، كما أن تحديد وجودها يدل على أن التلوث الغائطي حديث أو أن مصدر التلوث قريب.

طريقة الكشف:

من المعروف أن للبكتيريا *سالمونيلا* القدرة على النمو في درجات حرارة مختلفة (10 – 43 درجة مئوية) وفي معدلات مختلفة من الأس الهيدروجيني (4 – 8). ولعزلها من عينات البيئة والأطعمة وعينات البراز يجب أن يتم تحفيزها على النمو باستعمال أوساط غذائية انتقائية مغذية شائعة الاستعمال مثل : Tetrathionate broth، Selenite broth أو Rappaport-Vassiliadis medium. والشكل الظاهري لهذه المستعمرات البكتيرية على الأوساط الغذائية الصلبة غالباً ماتكون مستعمرات دائرية ذات سطح أملس وبحواف متساوية أو قد تكون مستعمرات مسطحة الشكل غير متساوية وبحواف مسننة وتفضل هذه البكتيريا النمو في درجة حرارة 37 درجة مئوية وبعد انتهاء عملية العزل المبدئي باستعمال الوسط الغذائي الإنتقائي المغذي يتم تنمية المستعمرات التي يُعتقد أنها البكتيريا *سالمونيلا* في الوسط الغذائي Triple sugar iron agar أو Urea broth أو

Lysine iron agar وأي مستعمرة بكتيرية معزولة تعطي نتيجة موجبة لاختبارات البكتيريا *سالمونيلا* الكيموحيوية يتم تأكيد تعريفها باستعمال الاختبارات المصلية polyvalent O group و polyvalent H group و Vi-antisera أو باستعمال التصنيف حسب نوع لاقمات الفيروسات phage-typing.

في حالة التعامل مع العينات البيئية يتم تحليل مقدار كبير من العينة (1 لتر أو أكثر) نظراً لأن هذه البكتيريا تتواجد بأعداد قليلة جداً في العينات البيئية (مياه الشرب ومياه الصرف الصحي) أو قد تكون مُجهدةً نتيجة تعرضها للظروف البيئية المختلفة والتي قد لاتكون ملائمة وبالتالي فإنه يُفضَّل تنمية عينة المياه في وسط مغذي مثل الوسط الغذائي Buffered peptone Water أو Lactose broth لمدة 18 – 24 ساعة في درجة حرارة 37 درجة مئوية وبعض الدراسات أظهرت أن درجة الحرارة 43 درجة مئوية هي الأفضل، ثم يُنقل مقدار إلى الوسط الغذائي الانتقائي مثلا Tetrathionate broth ويتم تلقيحها في أطباق تحتوي على أوساط غذائية مثل Lysine deoxycholate xylose أو Deoxycholate citrate أو الوسط الغذائي Brilliant green agar. كما أن الأوساط الغذائية التالية أظهرت نتائج جيدة لعزل البكتيريا *سالمونيلا* وهي Ambach agar والوسط الغذائي XLT4agar ومن هنا نجد أن تحليل عينة المياه يحتاج لمدة قد تصل إلى 5 أيام مما يستلزم البحث على طريقة أسرع كطريقة التفاعل التسلسلي للبوليمرات (PCR).

الدراسات الوبائية:

عدد البكتيريا *سالمونيلا* اللازم لإحداث الإصابة في الإنسان يعتمد على طبيعة الشخص المعرض للإصابة والعمر والصحة العامة للشخص المعرض للإصابة وما إذا كان يعاني من أمراض أخرى وأغلب جائحات الإصابة بالالتهاب المعد معوي الحاد التي تسببها البكتيريا *سالمونيلا* توثق على أنها مجهولة الكائن المُسبب. وحدوث الجائحة يكون نتيجة عدم توفر المياه الصالحة للشرب أوعدم كفاءة عملية المعالجة أو تلوث شبكات

إمدادات المياه. تم تسجيل حوالي 17 مليون حالة إصابة بحمى التيفود في العالم نجم عنها حوالي 600000 حالة وفاة.

شيجيلا Shigella

وهي عبارة عن خلايا بكتيرية عصوية الشكل سالبة لصبغة غرام وغير متحركة وهي قريبة الشبه لصفات البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* ومما يميزها عن أفراد العائلة Enterobacteriaceae وهو عدم قدرتها على تخمير السكريات وإنتاج الغاز بالتالي فهي غير قادرة على تخمير سكر اللاكتوز المتواجد في الوسط الغذائي Mac Conkey agar أو Desoxycholate citrate agar عند تحضينها لمدة 24 ساعة ولايمكنها إنتاج الإندول من التريبتوفان.

تواجدها في البيئة:

لاتتواجد هذه البكتيريا في الطبيعة ويعتبر الإنسان العائل المناسب لهذه البكتيريا وتتواجد بأعداد كبيرة جدا في الفضلات الآدمية في الطور الحاد لمرض الدوسنتاريا (الزحار) مما يتيح احتمالية تلوث البيئة بهذه البكتيريا وتبقى هذه البكتيريا لعدة أسابيع في مكان رطب وبارد كما لها القدرة على البقاء لمدة تتراوح ما بين 5 – 46 يوم في الأماكن المظلمة ومن 9 إلى 12 يوم في التربة عند درجة حرارة الغرفة ولهذه البكتيريا القدرة على تحمل المعدلات المنخفضة من الأس الهيدروجيني لفترة قصيرة إلا أنها قادرة على البقاء لعدة أيام في الوسط القلوي عند توفر الجو الرطب.

تعتبر البكتيريا *شيجيلا سوني Shigella sonnei* أكثر أنواع البكتيريا *شيجيلا* مقاومة للظروف البيئية غير المناسبة مقارنة بالبكتيريا *شيجيلا ديسينتري Shigella dysenteriae* والبكتيريا *شيجيلا فليكسنيري Shigella flexneri* وتبين أن البكتيريا *شيجيلا سوني* لها القدرة على البقاء لمدة تزيد على 3 ساعات على أصابع اليد ولفترة قد تصل إلى 17 يوم على المرحاض الخشبي لدورة المياه وقد تنتشر البكتيريا *شيجيلا* عن طريق الرذاذ الذي قد يتناثر أثناء شطف المرحاض أو من خلال منظومات الري أثناء الرش حيث تبين من خلال رش معلق بكتيري يحتوي على 10^{10} خلية من البكتيريا *شيجيلا سوني* نتج عن ذلك رذاذ يحتوي على حوالي 39 خلية بكتيرية/ مليمتر^3 من الهواء

الجوي ولهذا النوع من البكتيريا القدرة على البقاء لمدة 4 أيام ومن خلال الدراسات البحثية تبين أن لعمليات المعالجة دور كبير في التخلص من هذه البكتيريا بنفس الكيفية التي يتم فيها التخلص من البكتيريا *إيشيريشيا كولاي*. ومن المعلوم أنه يستلزم حوالي 10 – 200 خلية بكتيرية فقط لإحداث الإصابة.

يمكن للبكتيريا *شيجيلا* التواجد في المياه السطحية مما يجعل المياه وسيلة جيدة لانتقال المرض في الدول النامية ويعتمد إمكانية تواجد هذه البكتيريا في المياه على كميتها بالنسبة لأعداد البكتيريا الأخرى المتواجدة في المياه وتوفر المواد الغذائية والأكسجين ودرجة حرارة المياه وتستطيع البقاء فقط لمدة أقل من 14 يوم في درجة حرارة 20 درجة مئوية ولها القدرة على البقاء لعدة أسابيع في درجة حرارة 10 درجات مئوية. وفي بعض الدراسات تبين أن للبكتيريا *شيجيلا فليكسنيري* القدرة على البقاء لمدة قد تصل إلى 21 يوم في مياه الأنهار الصافية عند درجة حرارة 19 – 24 درجة مئوية وحوالي 47 يوم في مياه النهر (بعد تعقيمها) ولمدة قد تصل إلى 9 أيام في مياه الآبار كما لها القدرة على البقاء لمدة 44 يوم في مياه الصنابير (بعد تعقيمها) ولها القدرة على البقاء لمدة تصل إلى 6 أيام في مياه الآبار الملوثة. كما أن بعض الدراسات أظهرت أن للبكتيريا *شيجيلا ديسنتري* القدرة على البقاء لفترة تتراوح ما بين 2.5 – 29 شهر في المياه المعقمة والملوثة بالبراز عند درجة حرارة 21 درجة مئوية. ويرتبط انتشار حالات الإصابة بهذه البكتيريا والوفيات بحدوث الكوارث الطبيعية والحروب وكذلك معسكرات التخييم.

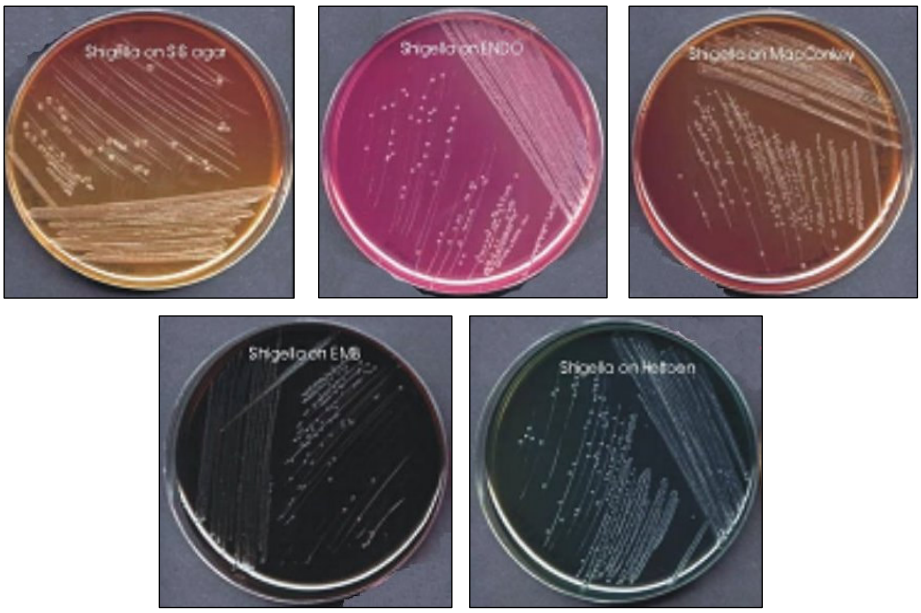
طريقة الكشف:

للبكتيريا *شيجيلا* القدرة على النمو في الوسط الغذائي أجار الدم Blood agar مع عدم قدرتها على إحلال كريات الدم وقد يكون حجمها صغيراً كما هو الحال في البكتيريا *شيجيلا ديسنتري* إلا أن أغلب أنواع البكتيريا *شيجيلا* تكوِّن مستعمرات بكتيرية حجمها حوالي 1 – 2 مليمتر بعد تحضينها في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18 – 24 ساعة بينما مستعمرات البكتيريا *شيجيلا سوني* فهي أكبر مع حواف مسننة. وعند تنميتها

في الوسط الغذائي Leifson's deoxycholate citrate agar أو *Salmonella-Shigella* agar أو الوسط الغذائي Xylose-lysinedeoxycholate agar أو Mac-Conkey agar يكون شكل المستعمرات البكتيرية النامية شفافة ملساء وحجمها حوالي 1 – 2 مليمتر بعد حوالي 18 – 24 ساعة من التحضين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية بينما مستعمرات البكتيريا *شيجيلا سوني* تظهر بشكل وردي نتيجة تخميرها المتأخر لسكر اللاكتوز وسكر السكروز.

الدراسات الوبائية:

تم رصد العديد من الجائحات نتيجة الإصابة بالبكتيريا *شيجيلا* وأغلبيتها ناتجة من تناول الأطعمة الملوثة كالأسماك ومن البيانات المتوفرة تم رصد حوالي 10648 حالة إصابة من خلال 72 جائحة سُجلت في أمريكا وذلك خلال الفترة ما بين سنة 1961 – 1975 وتعتبر البكتيريا *شيجيلا ديسينتري* المسبب الرئيسي للأوبئة في وسط أمريكا وبنغلاديش وشرق أفريقيا. أما البكتيريا *شيجيلا سوني* فهي أكثر انتشاراً في شمال أفريقيا يليها في ذلك البكتيريا *شيجيلا فليكسنيري*.

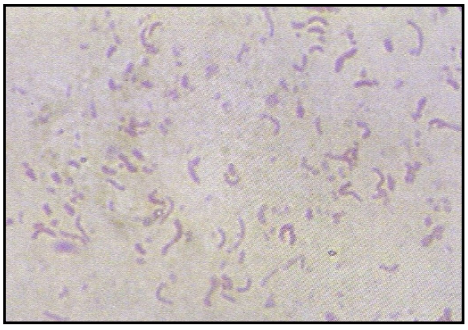


أوساط غذائية مختلفة لتنمية البكتيريا *شيجيلا*

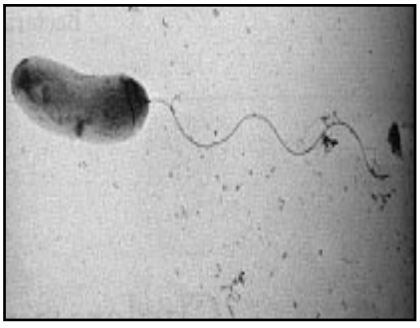
في سنة 1992 تم تسجيل عدد 17000 حالة إصابة إلا أن عدد الحالات المسجلة انخفض بعد ذلك حتى وصلت الحالات إلى 4550 حالة سنة 1995 وفي جائحة سُجلت سنة 1966 في أسكتلندة أصيب فيها عدد 2000 حالة بالبكتيريا *شيجيلا سوني* نتيجة تعطل محطة معالجة المياه، وفي أمريكا خلال الفترة من سنة 1961 – 1975 تم رصد 38 جائحة نتيجة تلوث المياه.

فيبريو كوليرا Vibrio cholerae

البكتيريا *فيبريو* عبارة عن خلايا بكتيرية عصوية الشكل قصيرة يبلغ حجمها حوالي 0.5 ميكرومتر طولاً وبعرض حوالي 1.3 – 3.0 ميكرومتر وهي سالبة لصبغة غرام وغالباً ماتتواجد الخلايا على هيئة منحنية أو واوية الشكل وهذه البكتيريا لاتكون أبواغاً ولاتكون حافظة كما أنها لاهوائية اختيارياً وتعطي نتيجة موجبة التفاعل لاختبار الكاتالاز واختبار الحركة حيث تتحرك بواسطة سوط واحد يتواجد على أحد أقطاب الخلية وعند تنميتها في وسط غذائي سائل تتميز حركتها بأنها على هيئة وثبات مفاجئة كما أن أغلب أنواعها تكون موجبة التفاعل لاختبار الأوكسيداز كما لها القدرة على اختزال النترات إلى نيترايت.



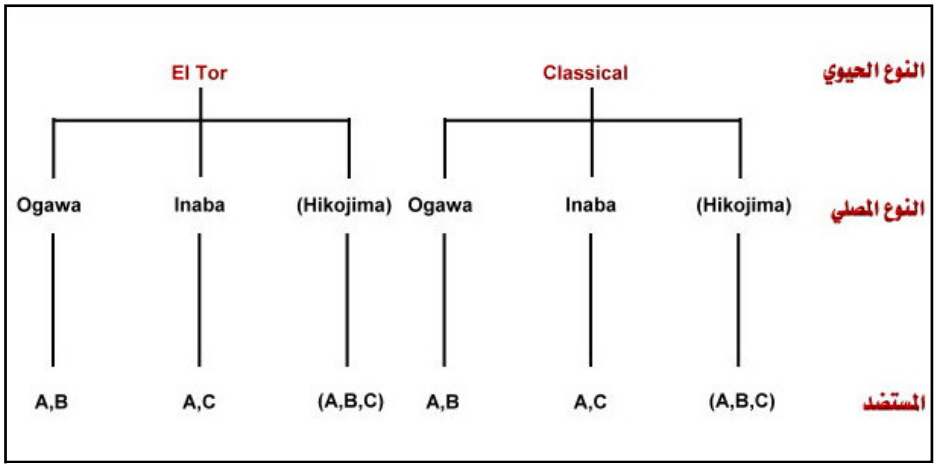
صبغة غرام تظهر خلايا البكتيريا *فيبريو فولنيفيكس*



البكتيريا *فيبريو* ويظهر السوط على أحد الأقطاب

تعتبر الجنس *فيبريو كوليرا V. cholerae* من أهم أجناس البكتيريا *فيبريو* ويتراوح حجم المستعمرة البكتيرية ما بين 0.5 – 0.8 ميكرومتر طولاً وحوالي 1.5 – 1.8 ميكرومتر عرضاً وهي المسببة لمرض الكوليرا. وحتى وقتنا الحاضر تم تصنيفها إلى حوالي 206 نوع وذلك حسب المجموعة المصلية (O serogroup) في البداية تم تقسيمها إلى سلالتين وهما سلالة (O1) وسلالة (non O1) وهناك حديثاً سلالة أخرى وهي (O139).

تتكون سلالة (O1) من نوعين (biotypes) يعرفان بالنوع (classical) والنوع (El Tor) وهناك تقسيم داخلي لهذين النوعين بحيث يتم تقسيمها إلى ثلاث أنواع مصلية (serotypes) تعرف بـــ Inaba، Ogawa و Hikojima وهذا النوع الثالث يعتبر ناذر التواجد ويعتبر النوع classical biotype المسئول عن الأوبئة الست الأولى المتوطنة في العالم بينما الوباء المتوطن السابع كان المسبب له النوع El Tor biotype. في سنة 1993 تفشى وباء الكوليرا وكان يُعتقد أن الكائن المسبب من المجموعة non-O1 إلا أن الدراسات أظهرت أنه من المجموعة الجديدة O139.



تصنيف مستضدات البكتيريا *فيبريو كوليرا* مجموعة O1

هناك أنواع اخرى من البكتيريا *فيبريو* مثل *فيبريو باراهيموليتيكس* *V. parahaemolyticus* المسؤولة عن إحداث الإصابة عند تناول الأطعمة الملوثة في جنوب – شرق أسيا وخاصة في اليابان. بينما الأنواع الأخرى التي قد تصيب الإنسان تعرف بالبكتيريا *فيبريو الجينوليتيكس* *V. alginolyticus* وهي محبة للملوحة وتعرف بالنوع biotype 2 من البكتيريا *فيبريو باراهيموليتيكس* والبكتيريا *فيبريو فولنيفيكس* *V. vulnificus* التي تعتبر بكتيريا غازية وغالباً ما يتم عزلها من الأشخاص الذين يشتكون من خلل في الجهاز المناعي وغالباً مايصابون بها نتيجة تناولهم أطعمة بحرية ملوثة. وهناك أنواع أخرى من البكتيريا *فيبريو* مثل: البكتيريا *فيبريو دامسيلا* *V. damsela* التي

تسبب التهاب الجروح والبكتيريا *فيبريو هوليسا* *V. hollisae* المسببة للإسهال والبكتيريا *فيبريو ميميكس* *V. mimicus* المسؤولة عن التهاب الأمعاء كما أن البكتيريا *فيبريو فلوفياليس* *V. fluvialis* مسئولة عن إحداث الإسهال والحمى.

تواجدها في البيئة:

يختلف تحديد تواجدها في المياه خلال فصول السنة حسب النوع فنجد أن سلالات (O1) المفرزة للذيفان (Cholera toxin) لها القدرة على البقاء لعدة سنوات في البيئات المائية الملوثة وذلك نتيجة تكوينها للغشاء الحيوي (Biofilm) بينما سلالات (O1) غير المفرزة للذيفان تتواجد بصورة أكبر في البيئات المائية ويعتقد أن البكتيريا *فيبريو كوليرا* O1 تمر بمرحلة سكون لمواجهة الظروف البيئية غير الملائمة مثل نقص العناصر الغذائية وارتفاع تركيز الملوحة في الوسط أو انخفاض درجة الحرارة كما لوحظ تواجدها مع العديد من الكائنات المائية مثل البكتيريا الطحلبية والدياتومات.

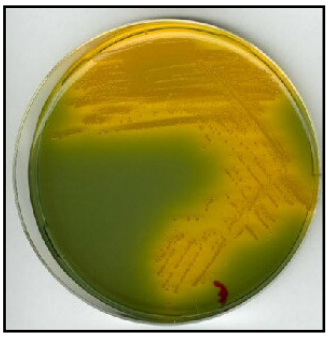
تعتبر المياه غير المعالجة أو المعالجة بطريقة غير جيدة مصدراً هاماً لتفشي الإصابات بهذه البكتيريا فهي لها القدرة على البقاء لفترات أطول في البيئة من مجموعة البكتيريا الغائطية فقد تم عزلها من المياه السطحية ووُجد أن لها القدرة على البقاء في هذه الظروف لمدة 13 يوم كما لها القدرة على البقاء في البيئة البحرية لمدة طويلة وخاصة عند ارتفاع درجة حرارة المياه وتوفر العناصر الغذائية اللازمة.

طريقة الكشف:

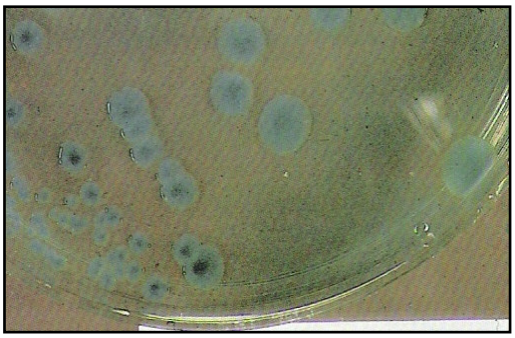
يجب أن يتم نقل العينات البيئية التي يُشك في احتوائها على البكتيريا *فيبريو كوليرا* في درجة حرارة مابين 4 – 10 درجات مئوية في وعاء معقم وأن يتم تحليل العينة في غضون 6 ساعات ولايمكن عزل البكتيريا *فيبيريو* باستعمال الأوساط الغذائية التقليدية فعند التعامل مع العينات البيئية وخاصة عينة المياه يتم في البداية تنمية هذه البكتيريا في الوسط الغذائي Alkaline peptone water وذلك لغرض الإغناء كما أن هناك أوساط أخرى قد يُستعان بها لهذا الغرض مثل: Blood–alkaline peptone water أو الوسط

الغذائي Egg –alkaline peptone water. بعد مرحلة الإغناء يتم تلقيح العينة في الوسط الغذائي Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar (TCBS) والذي يعتبر وسطاً غذائياً انتقائياً يثبط نمو البكتيريا الموجبة لصبغة غرام البكتيريا *سيدوموناس* والبكتيريا القولونية وكذلك البكتيريا *ايروموناس* كما يمكن استعمال الوسط الغذائي Taurocholate-tellurite gelatin agar عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18 – 24 ساعة بالاضافة إلى ذلك يمكن استعمال أوساط غذائية انتقائية وتفريقية أخرى مثل: Thiosulphate chloride iodide agar أو الوسط الغذائي Polymyxin mannose tellurite agar.

بعد انقضاء فترة الحضانة باستعمال الوسط الغذائي (TCBS) يمكن التعرف على السلالات التي بإمكانها تخمير سكر السكروز بظهور مستعمرات بكتيرية صفراء اللون مما يدل على احتمالية وجود البكتيريا *فيبريو كوليرا* أوالبكتيريا *فيبريو الجينوليتيكس* أوالبكتيريا *فيبريو فلوفياليس V. fluvialis* كما أن المستعمرات التي تُعطي لوناً أخضرَ نتيجة عدم قدرتها على تخمير سكر السكروز قد تكون البكتيريا *فيبريو باراهيموليتيكس* أوالبكتيريا *فيبريو فالنيفيكس* أو البكتيريا *فيبريو ميميكس* ويتم إجراء الاختبارات الكيموحيوية للتعرف على البكتيريا المعزولة وعند التعرف على البكتيريا *فيبريو كوليرا* من الضروري إجراء اختبار التجلط Agglutination test لتحديد ما إذا كانت من النوع O1 أو النوع O139.

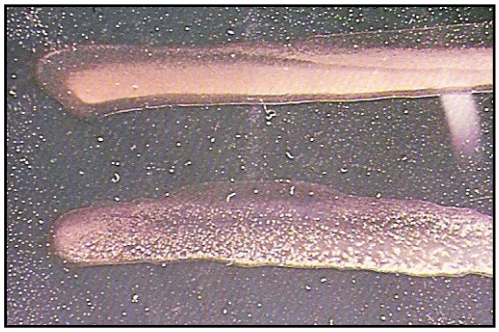


مستعمرات البكتيريا *فيبريو كوليرا* النامية على الوسط الغذائي *TCBS*



مستعمرات البكتيريا *فيبريوباراهيموليتيكس* النامية على الوسط الغذائي *TCBS*

عند استعمال الوسط الغذائي أجار الدم فإن أغلب مستعمرات البكتيريا *فيبريو* النامية ستُظهر إحلال لكريات الدم الحمراء من النوع بيتا (إحلال كلي) ويفضل في ذلك استعمال دم الخراف للتمييز بين نوعي البكتيريا *فيبريو كوليرا* O1 حيث أن النوع Classic biotype ليس له القدرة على إحلال كريات الدم الحمراء بينما النوع El Tor biotype قادر على إحلال كريات الدم الحمراء وكذلك البكتيريا *فيبريو كوليرا* non O1 لها القدرة على إحلال كريات الدم الحمراء كما يمكن استعمال تقنية التفاعل التسلسلي للبوليمرات (PCR) للتعرف على البكتيريا *فيبريو كوليرا*.



عدم وجود تجلط = *Classic biotype*

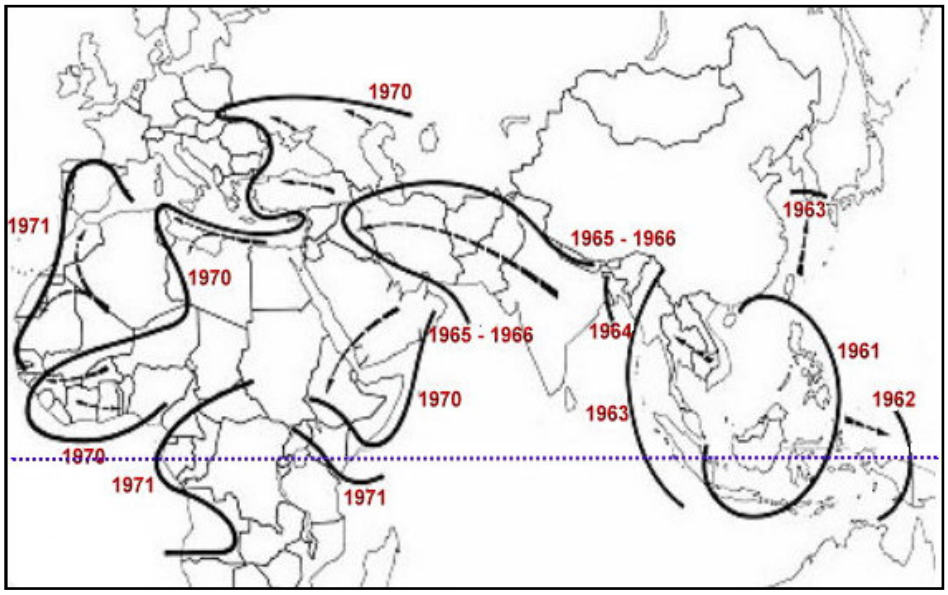
وجود تجلط = *El Tor biotype*

النتيجة السالبة (الأعلى) والموجبة (الأسفل) لاختبار التجلط

الدراسات الوبائية:

تعتبر الأطعمة الملوثة بالبكتيريا *فيبريو كوليرا* الوسيلة الأساسية لإحداث الجائحة وأغلب حالات الإصابة بهذه البكتيريا في أمريكا يحدث نتيجة تناول أطعمة بحرية ملوثة بهذه البكتيريا ولم يتم طهيها بطريقة جيدة مثل الأصداف والمحار كما أن المياه الملوثة تلعب دوراً هاماً ورئيسياً في تفشي الأوبئة خاصة في الدول النامية وذلك لغياب عمليات التطهير أو نتيجة لتلوث المياه بعد معالجتها ويكون المصدر الوحيد لتواجد هذه البكتيريا في البيئة براز شخص مصاب بمرض الكوليرا أو شخص حامل للمرض وهناك عدة دراسات أظهرت أن هذه البكتيريا متواجدة بصورة طبيعية في البيئة المائية ويتفشي مرض الكوليرا بصورة كبيرة في المجتمعات الفقيرة حيث تفتقر هذه المجتمعات لقواعد النظافة الشخصية وعدم التزامهم بالعادات الصحية ومن هنا فإن لتحسين شبكات معالجة وتصريف مياه

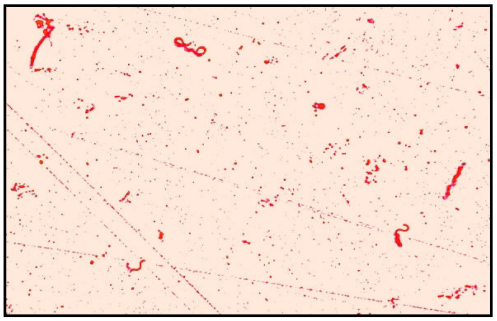
الصرف الصحي والتوعية الصحية بأهمية العادات الصحية ومعالجة مياه الشرب دوراً هاماً في الحد من تفشي مرض الكوليرا.



خريطة جغرافية توضح جائحات الكوليرا خلال الفترة ما بين سنة 1961 – 1971

كامبيلوباكتير Campylobacter

وهي عبارة عن عصيات لولبية أو منحنية سالبة لصبغة غرام (المستعمرات البكتيرية غير الجديدة تكون خلاياها على هيئة كريات وذلك نتيجة تعرضها للأكسجين وهذه المستعمرات لا يمكن أن تنمو من جديد) يتراوح حجمها مابين 0.2 – 0.4 ميكرومتر عرضاً و 0.5 – 5 ميكرومتر طولا، غير مكونة للأبواغ وهي موجبة التفاعل لاختبار الاوكسيداز واختبار الكاتالاز وسالبة التفاعل لاختبار اليورياز وهي بكتيريا متحركة بواسطة سوط يتواجد على أحد أو كلا قطبي الخلية البكتيرية بخلاف الجنس *كامبيلوباكتير جراسيليز Campylobacter gracilis* الذي يكون سالب التفاعل لاختبار الأوكسيداز ولايمتلك أسواط.



صبغة غرام يظهر خلايا البكتيريا *كامبيلوباكتير*

تعتبر البكتيريا *كامبيلوباكتير* محبة للهواء جزئياً 'microaerophilic' فهي لها القدرة على تحمل وجود نسبة قليلة من الأكسجين وتحتاج عند نموها إلى حوالي 3 – 5% من غاز ثاني أكسيد الكربون وحوالي 3 – 15% من غاز الأكسجين ودرجة الحرارة المفضلة حوالي 42 درجة مئوية.

ويُعتبر الجنس البكتيري *كامبيلوباكتير جيجوناي C. jejuni* و*كامبيلوباكتير كولاي C. coli* من أهم أنواع هذه البكتيريا وهي ممرضة للإنسان وتتواجد في مياه الشرب بالاضافة للجنس البكتيري *كامبيلوباكتير أبساليسز C. upsaliensis* وتصنف هذه المجموعة على أنها محبة للحرارة thermophilic.

تواجدها في البيئة:

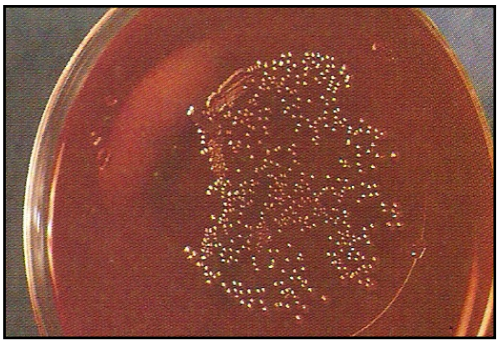
هذه البكتيريا شائعة التواجد في الطبيعة حيث تم عزلها من البيئات المائية المختلفة (مياه عذبة ومالحة) كما تتواجد بأعداد كبيرة في مياه الصرف الصحي وهي تتواجد بأعداد قليلة في المياه السطحية مقارنة بأعدادها في مياه الصرف الصحي أما في المياه الجوفية فلهذه البكتيريا القدرة على البقاء لعدة أسابيع عند درجة حرارة 4 درجات مئوية ويُعتبر الجنس البكتيري *كامبيلوباكتير جيجوناي* أكثرهم تواجداً في البيئات المائية مقارنة بالأنواع الأخرى من البكتيريا *كامبيلوباكتير كولاي* والبكتيريا *كامبيلوباكتير لاري C. lari*.

لايُعرف حتى الآن دور هذه البكتيريا في احداث الإصابات عند البشر كنتيجة لتواجدها في المياه نظراً لعدم معرفة طريقة انتقالها للإنسان وأيضاً لعدم توفر معلومات كافية حول مدى بقائها في مختلف البيئات، حيث اظهرت بعض الدراسات قدرة هذه البكتيريا على البقاء فقط لعدة ساعات في الظروف البيئية غير الملائمة وذلك نتيجة لتغير درجات الحرارة، ومن خلال الدراسات المعملية تبين أنها قادرة على البقاء لفترات طويلة في درجات الحرارة المنخفضة والتي قد تدوم لعدة أيام (عند درجة حرارة 4 درجات مئوية) كما أن تواجدها يزداد في وجود أجناس بكتيرية أخرى في ما يعرف بالغشاء الحيوي، كما أن بعض الأبحاث أظهرت أن للبكتيريا *كامبيلوباكتير* القدرة على البقاء في البيئات المائية لفترات طويلة تتراوح من عدة أسابيع إلى عدة أشهر عند درجة حرارة أقل من 15 درجة مئوية كما تأكد عدم وجودها في المياه المعالجة وإذا ما تم تحديد وجودها في المياه المعالجة بالكلور فهذا دليل على تلوث المياه بعد عملية التطهير أو عدم كفاءة عملية المعالجة.

طريقة الكشف:

هناك العديد من الأوساط الغذائية التي يمكن استعمالها لعزل هذه البكتيريا بالرغم من أن أغلبها لا تُجدي عند استعمالها في تحليل المياه. وفي خلال ثمانينات القرن الماضي تم الاعتماد على استعمال الوسط الغذائي حساء بريستون Preston broth الذي يحتوي

على دم محلل والمضاد الحيوي ترايميتوبريم Ttimethoprim والمضاد الحيوي ريفامبيسين Rifampicin والمضاد الحيوي بوليميكسين ب Polymyxin B وكذلك المضاد الحيوي أمفوتيراسين ب Amphoteracin B مع اضافة مركب يعرف بـــ FBP والمكون من (Ferrous sulphat، Sodium metabisulphite و Sodium pyruvate).



مستعمرات البكتيريا *كامبيلوباكتير* نامية على الوسط الغذائي *Brucella* agar

مستعمرات البكتيريا *كامبيلوباكتير* نامية على الوسط الغذائي Blood agar

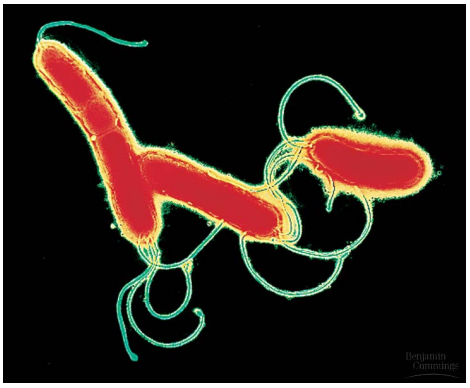
وليتم عزل البكتيريا *كامبيلوباكتير جيجوناي* والبكتيريا *كامبيلوباكتير كولاي* من البيئات المائية يتطلب الأمر ترشيح العينة عبر مرشح غشائي ذي مسامات بقطر 0.22 ميكرومتر ويتم بعد عملية الترشيح وضع المرشح الغشائي على وسط غذائي سائل غير انتقائي يحتوي على مركب الـــ FBP مضافاً إليه عدة مضادات حيوية وتحضينه في درجة حرارة 42 درجة مئوية لمدة 4 ساعات وبعض الدراسات أوصت بأن تستمر فترة الحضانة لمدة 24 ساعة أخرى ليتم بعد ذلك تلقيح الوسط الغذائي السائل في الوسط الغذائي الصلب أجار بريستون في ظروف بيئية قليلة التهوئة وتحضينها لمدة 48 ساعة بعد ذلك يتم إجراء الاختبارات اللازمة.

الدراسات الوبائية:

يعتقد أن المياه الجوفية تتلوث بالبكتيريا *كامبيلوباكتير* نتيجة لوجود المخلفات الحيوانية وتوفر طبقات الأرض السفلى الظروف البيئية الملائمة لنمو هذه البكتيريا وبقائها ويزداد معدل انتشار الجائحات الناتجة من هذه البكتيريا بمعدل تناول المياه الملوثة أو غير المعالجة ففي بريطانيا تعتبر هذه البكتيريا المصدر الرئيسي للجائحات الناتجة جرَّاء تناول المياه الملوثة وغير المعالجة بطريقة جيدة كما تعتبر البكتيريا *كامبيلوباكتير جيجوناي* HS50 PT35 المسبب الرئيسي للجائحات الناتجة من استعمال إمدادات المياه الخاصة وهي نادراً ما يتم عزلها وفي كندا تعتبر البكتيريا *كامبيلوباكتر* المسبب الرئيسي لالتهاب الأمعاء. وفي أغلب الدول الأوروبية تعتبر من الأجناس البكتيرية التي تلعب دوراً هاماً وأساسي في إحداث الإصابات عبر تناول المياه الملوثة ففي إحدى الجائحات التي ظهرت في السويد أصيب فيها أكثر من 6000 شخص ويُقدر عدد المصابين بالتهاب الأمعاء بحوالي 60 – 100 حالة/100000 شخص في كل سنة وفي بريطانيا تسجل أكثر من 550000 حالة إصابة بهذه البكتيريا وفي أمريكا تسجل حوالي 2.4 مليون حالة سنوياً إلا أنه وحتى الآن لم يُحدد مدى إمكانية تواجد هذه البكتيريا في شبكات مياه الشرب.

هيليكوباكتير بايلوري Helicobacter pylori

شكل الخلايا البكتيرية إما منحني أو واوي أو عصوي أو على هيئة جناح النورس أو على هيئة الحرف اللاتيني **U** أو كروية الشكل ففي الظروف غير الملائمة قد يتحول شكل الخلايا من الشكل الواوي والعصوي إلى الشكل الكروي وهو الشكل الذي تكون فيه البكتيريا متواجدة ولايمكن تنميتها وهو وسيلة للبقاء في الكائنات الدقيقة التي لاتكون أبواغاً وبمجرد أن تتحسن الظروف البيئية تعود من جديد لنشاطها الحيوي، ويتراوح حجمها مابين 0.6 ميكرومتر عرضاً ومابين 2 – 5 ميكرومتر طولاً وهي سالبة لصبغة غرام ومتحركة نظراً لاحتوائها على 5 – 6 أسواط تتواجد على أحد أقطاب الخلية.



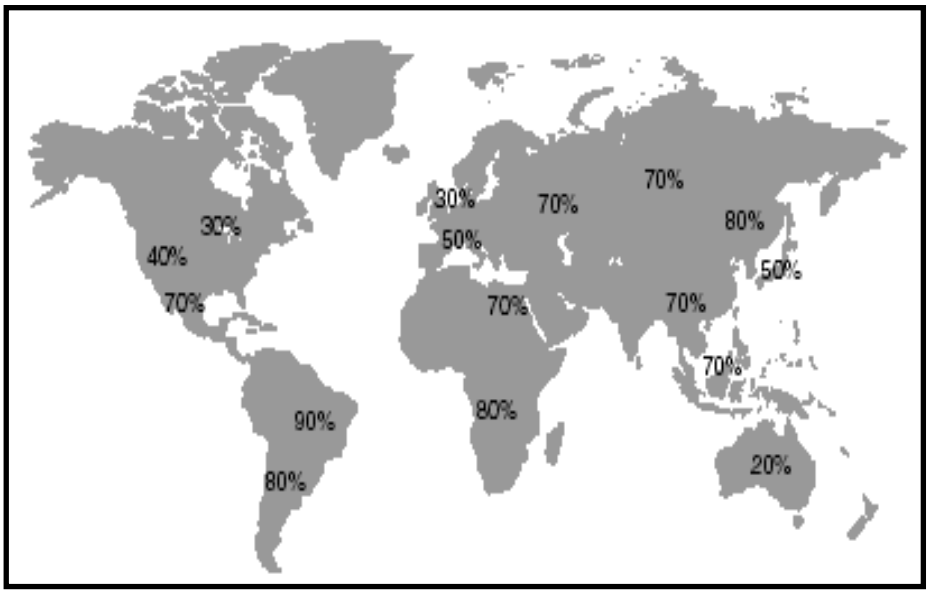
خلايا البكتيريا *هيليكوباكتر بايلوري* تُظهر الأسواط على أحد أقطابها

تعطي البكتيريا *هيليكوباكتر بايلوري* نتيجة موجبة التفاعل لاختبار اليورياز وكذلك اختبار الأوكسيداز ونتيجة سالبة التفاعل لاختبار تحلل الـ indoxyl acetate وتحلل الـ hippurate ومن المعروف أنها من مجموعة البكتيريا الممرضة التي تتوطن في الغشاء المخاطي للمعدة في حوالي 50% من البشر.

تواجدها في البيئة:

تنقسم هذه البكتيريا إلى مجموعتين إحداهما تستوطن الغشاء المخاطي للمعدة والمجموعة الأخرى تستوطن الغشاء المخاطي للأمعاء في كلٍ من الإنسان والحيوان إلا أن

بعض الأنواع التي تستوطن الأمعاء لها القدرة على التواجد في الغشاء المخاطي للمعدة عندما يكون هناك خللاً في إفراز الحمض.



خريطة جغرافية لانتشار البكتيريا *هيليكوباكتير بايلوري* في العالم

التوزيع الجغرافي لهذه البكتيريا يرتبط بمدى جودة المياه وكانت هذه البكتيريا السبب في حوالي 30% من أصل 272 جائحة حدثت مابين سنة 1971 و1994 وذلك نتيجة استهلاك مياه ملوثة بهذه البكتيريا وقد تدخل هذه البكتيريا إلى شبكة التوزيع من خلال الثقوب والارتداد العكسي أو الوصلات المتقاطعة أو أثناء عمليات الصيانة التي لايراعى فيها احتياطات الوقاية من التلوث العرضي ولوحظ أن الضغط غير المنتظم للمياه في شبكات التوزيع يتسبب في تسرب حوالي 10 –20% من إجمالي المياه المنتجة مما يسمح لهذه البكتيريا بالوصول إلى داخل الشبكة وإحداث التلوث ويمكن لمنظومة الصرف الصحي المتواجدة على بعد 18 بوصة من شبكات إمداد مياه الشرب أن تكون مصدر البكتيريا الملوثة كما أنها تنتشر من خلال الغائط الذي يحتوي على هذه البكتيريا وتلعب الحرارة دوراً كبيراً في قدرة هذه البكتيريا على البقاء في المياه حيث لوحظ أنها قادرة على البقاء لفترات طويلة تتراوح ما بين 48 ساعة و2– إلى 30 يوم وذلك في درجات الحرارة

المنخفضة مما يجعلها قادرة على إحداث الجائحات كما تبين إمكانية التخلص منها عبر عمليات المعالجة الاعتيادية مع العلم بأنها أكثر قدرة على مقاومة الكلور من البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* والبكتيريا *كامبيلوباكتير جيجوناي* حيث تبين من خلال إحدى الدراسات قدرتها على مقاومة تركيز 0.2 مليغرام من الكلور الحر لمدة دقيقة وذلك أكثر من البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* والبكتيريا *كامبيلوباكتير جيجوناي* وكذلك الحال عند المعالجة باستعمال غاز الأوزون ومن هنا نجد إمكانية تواجد هذه البكتيريا في شبكات المياه غير المعالجة بطريقة جيدة في الوقت الذي تُظهر فيه الاختبارات الروتينية خلو المياه من البكتيريا الدالة على وجود التلوث الغائطي ونظراً لصعوبة تنمية هذه البكتيريا معملياً فلم يتم تسجيل الحالات التي يعتقد أنها المسبب الرئيسي لها حيث يعتبر تناول المياه الملوثة من أسباب حدوث الجائحات ومن المعروف أن البكتيريا *هيليكوباكتير بايلوري* تستوطن الغشاء المخاطي لحوالي نصف عدد السكان ولايعرف عائل آخر لهذه البكتيريا لذلك فإن جميع الدراسات السابقة كانت تهتم بها من الناحية الإكلينيكية فقط إلا أن هناك بعض البيانات الحديثة حول تواجدها في البيئات المائية وطرق التخلص منها مع العلم بأنها لاتتواجد في المياه بصورة كبيرة مقارنة بالأجناس البكتيرية الأخرى إلا أنها قادرة على البقاء عند توفر الظروف البيئية الملائمة لمدة 12 ساعة وهذا الفترة كافية لإحداث الجائحة في الدول النامية على وجه الخصوص، كما أظهرت الأبحاث قدرة هذه البكتيريا على البقاء داخل الغشاء الحيوي لمدة تصل إلى 8 أيام. من هنا نجد أنه من الممكن أن يعمل الغشاء الحيوي كمستودع لهذه البكتيريا خارج جسم الإنسان.

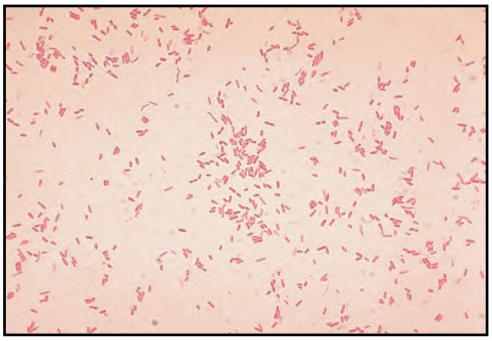
طريقة الكشف:

تم التركيز فقط على كيفية عزل هذه البكتيريا من العينات الإكلينيكية فهي المسبب الرئيسي لالتهاب الأمعاء ولم يتم التطرق للعينات البيئية وذلك لقلة المعلومات حول تواجدها في البيئة وتعتبر خزعة المعدة Gastric biopsy العينة المثالية لعزل البكتيريا *هيليكوباكتير بايلوري* من الشخص المصاب بحيث يتم نقلها في خلال ساعتين لزراعتها على الوسط الغذائي المناسب ومن الأوساط الغذائية التي يمكن استعمالها للنقل على سبيل

المثال *brucella* broth، Cysteine، Normal saline، Glucose، Milk، Stuart's medium، Semi-solid agar، Brain-heart infusion broth، brain-heart infusion broth وحديثاً تم استعمال الوسط الغذائي Cysteine-Albimi medium الذي يحتوي على 20% جليسيرول. ولعزل هذه البكتيريا يمكن استعمال أوساط غذائية غير انتقائية مثل Chocolate agar، Brain-heart infusion، *Brucella* agar مضافاً اليه 5 – 7% دم حصان كما يمكن استعمال أوساط غذائية انتقائية مثل Dent's، Glupczynski's Brussels charcoal medium، Skirrow's *campylobacter* medium مع توفير ظروف بيئية قليلة الاكسجين في درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية لتظهر المستعمرات البكتيرية بعد أكثر من 3 – 5 أيام من التحضين. ونظراً لتميز الشكل الظاهري للمستعمرات يتم صبغها بصبغة غرام وإجراء اختبارات كيموحيوية بسيطة كاختبار الكاتالاز واختبار الأوكسيداز وكذلك اختبار اليورياز التي بدورها ستُعطي نتيجة تفاعل موجبة.

إيروموناس: Aeromonas

وهي عبارة عن عصيات يتراوح حجمها مابين 0.3 – 1.0 ميكرميتر وهي سالبة لصبغة غرام وغير مكونة للأبواغ وتعطي نتيجة موجبة عند إجراء اختبار الأوكسيداز وهي اختيارية التهوية وتتواجد بصورة كبيرة في خزانات المياه العذبة والتربة كما تتواجد البكتيريا الممرضة في بيئة المياه البحرية. وينقسم هذا الجنس البكتيري إلى مجموعتين تعرفان بالمجموعة المتحركة المحبة للبرودة وهي ممرضة للأسماك والمجموعة الأخرى غير متحركة ومحبة للحرارة المعتدلة وهي تفضل النمو في درجات حرارة مابين 15 – 38 درجة مئوية مثل الجنس البكتيري *إيروموناس هيدروفيلا* والجنس البكتيري *إيروموناس كافيا* وكذلك *الجنس البكتيري إيروموناس سوبريا* وهذه الأجناس ممرضة للإنسان ولها أهميتها في الصناعات الغذائية.



إيروموناس هيدروفيلا

تواجدها في البيئة:

تتواجد هذه البكتيريا بصورة كبيرة في البيئات المائية، ففي خلال الفصول الباردة من السنة تتواجد بأعداد قليلة نسبياً وتزداد أعدادها بصورة كبيرة خلال الفصول الدافئة من السنة كما تتواجد في مياه الصرف الصحي بأعداد كبيرة على مدار السنة ويختلف معدل تواجدها حسب المتغيرات البيئية، ففي الظروف البيئية الاعتيادية تتواجد هذه البكتيريا بمعدل أكثر من 10^8 وحدة تكوين المستعمرات في كل مليلتر من الحمأة وبمعدل 1 – 10^2 وحدة تكوين المستعمرات في كل مليلتر في البرك وخزانات المياه وبمعدل 10^2 – 10^7

وحدة تكوين المستعمرات في مياه الصرف الصحي وبمعدل 10^4 وحدة تكوين المستعمرات في كل مليلتر في مياه الأنهار وبمعدل 1 – 10^2 وحدة تكوين المستعمرات في كل مليلتر في مياه الشرب وبمعدل 1 – 10 وحدة تكوين المستعمرات في كل مليلتر في المياه الجوفية ويعتبر الجنس البكتيري *ايروموناس كافيا* أكثرهم شيوعاً في مياه الصرف الصحي وهذه المياه غالباً ماتستعمل في ري المحاصيل الزراعية كما يتم تصريفها في البحار مما يجعل من المفيد استعمالها في معرفة مدى تلوث مياه الشرب بمياه الصرف الصحي ومن الملاحظ أن الجنس البكتيري *ايروموناس هيدروفيلا* والجنس *ايروموناس سوبريا* أكثر سُمية من الجنس *ايروموناس كافيا*.

يعتبر الجنس البكتيري *ايروموناس هيدروفيلا* والجنس *ايروموناس كافيا* من أكثر أنواع هذه البكتيريا شيوعاً في بيئات المياه السطحية، أما في المياه الجوفية العميقة فنجدها بأعداد قليلة حوالي 35 وحدة تكوين المستعمرات في كل 100 مليلتر.

بصورة عامة فإن هذه البكتيريا تتأثر بوجود الكلور والكلورامين أكثر من بقية أفراد العائلة المعوية، ومن خلال الدراسات التي أجريت اتضح قدرة الجنس البكتيري *ايروموناس هيدروفيلا* المتواجد في الغشاء الحيوي على مقاومة تركيز 0.3 مليغرام لكل لتر من محلول الكلورامين الأحادي كما تبين قدرته على البقاء في وجود 0.6 مليغرام من محلول الكلورامين الأحادي.

طرق الكشف عنها:

حتى الوقت الحاضر لاتوجد دلائل مراقبة جودة أمريكية تحد من تواجد هذه البكتيريا في المياه وقد بدأ مؤخراً في أوربا التفكير في إعداد دلائل مراقبة جودة خاصة بوجود الجنس البكتيري *ايروموناس* في مياه الشرب بحيث لا يتجاوز عددها 20 وحدة تكوين المستعمرات في كل 100 مليلتر وذلك بعد عملية المعالجة وأن لايزيد العدد عن 200 وحدة تكوين المستعمرات في كل 100 مليلتر في مياه شبكة التوزيع.

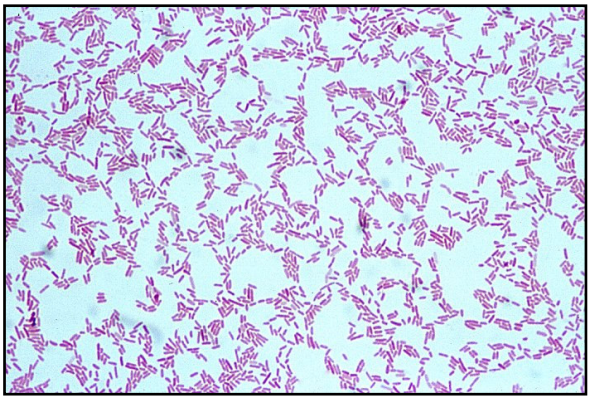
يمكن استخدام طريقة الترشيح الغشائي لعدّ هذه البكتيريا وذلك باستعمال الوسط الغذائي Ampicillin–dextrin agar (ADA) كما يمكن استعمال الوسط الغذائي *Aeromonas* medium Ryan's حيث تحتوي هذه الأوساط الغذائية على مواد تشجع نمو هذه البكتيريا إن تواجدت بأعداد قليلة حيث ان هذه البكتيريا تتأثر سلباً بوجود تركيز 10 مليغرام/لتر من مادة النحاس عليه يجب اضافة المركب التالي (Sodium ethylenediamine tetraacetate و$EDTA\ Na_2$) بمقدار 50 مليغرام لكل 100 مليلتر من العينة عند الأعتيان من مصادر مياه يُستعمل فيها أنابيب نحاسية لإمداد المياه كما هو الحال في المباني السكنية كما أثبت تحفيز النمو باستعمال Alkaline peptone water قبل تنميتها في الوسط الغذائي الاختياري لعينة المياه وأعطى نتيجة جيدة للكشف عن وجود هذه البكتيريا في المياه كما أن هناك العديد من الأوساط الغذائية التي يمكن استعمالها للكشف عنها في البيئات المائية مثل الوسط الغذائي*Aeromonas* agar m- ،Starch-ampicillin agar ،Pril–xylose–ampicillin agar، والوسط الغذائي GAP-10C agar. وحيث أن المتطلبات الأساسية للنمو غير معقدة فإنه بالإمكان عزل هذه البكتيريا باستعمال أوساط غذائية مختلفة، ومن المعروف قدرة أغلب سلالات هذا الجنس البكتيري على تخمير سكر السكروز وسكر اللاكتوز مما يجعل من الصعب التعرف عليها باستعمال الوسط الغذائي Mac-Conkey، Hektoen enteric، Xylose-lysin desoxycholate agar حيث أن شكل هذه المستعمرات البكتيرية يشبه البكتيريا القولونية غير الممرضة.

الدراسات الوبائية:

العديد من الدراسات الوبائية أظهرت أن الإنسان يكتسب هذه البكتيريا نتيجة تناوله المياه غير المعالجة وأن دور هذه البكتيريا في إحداث الإصابات مايزال قيد النقاش مع العلم بأن هذه البكتيريا تُعزل بشكل كبير من البيئات المائية ولها دور رئيسي في إحداث الإسهال في العديد من الحالات مع العلم بأن أغلب سلالات هذه البكتيريا تفرز ذيفانات ذات خصائص سامة.

سيدوموناس Pseudomonas

وهي عبارة عن بكتيريا عصوية هوائية سالبة لصبغة غرام غير مكونة للأبواغ ونتيجة التفاعل لاختبار الأوكسيداز والكاتالاز موجبة وهي متحركة بواسطة أسواط (سوط أو اثنين) تتواجد على قطبي الخلية البكتيرية ويعتبر الجنس *سيدوموناس ايروجينوزا* *Pseudomonas aeruginosa* من أهم الأجناس البكتيرية من الناحية الصحية وذلك من أصل 200 نوع من هذه البكتيريا ويُفرز هذا الجنس صبغتين قابلتين للذوبان وهما صبغة Pyocyanin الذي يُكسبها اللون الأزرق عند تنميتها في المعمل وصبغة Pyoverdin الذي يكسبها اللون الأصفر المخضر وهذه الصبغة تفرز بكثرة في الوسط الغذائي الذي يحتوي على مقدار قليل من الحديد وهناك نوعان آخران من الصبغات يفرزهم الجنس البكتيري *سيدوموناس ايروجينوزا* وهما صبغة Pyorubrin الذي يُكسبها اللون الأحمر وصبغة Melanin الذي يكسبها اللون البني ومن المعروف قدرة هذه البكتيريا على مقاومة المضادات الحيوية.

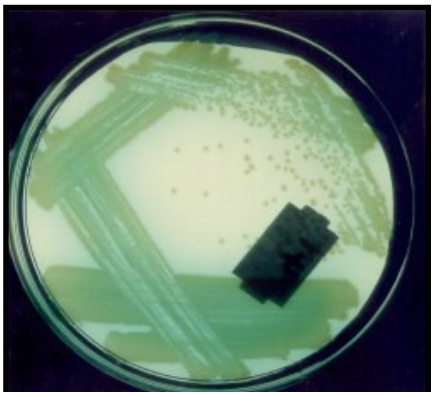


خلايا البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*

تواجدها في البيئة:

نظراً لتواجدها في المياه فهي مسئولة عن حوالي 10% من إصابات عدوى المستشفيات حيث تم عزل أنواع كثيرة من البكتيريا *سيدوموناس* من المياه بالاضافة إلى الجنس البكتيري *سيدوموناس ايروجينوزا* مثل: الجنس البكتيري *سيدوموناس فلوريسنس*

Pseudomonas fluorescens والجنس البكتيري *سيدوموناس الكاليجينز* *Pseudomonas alcaligenes* والجنس البكتيري *سيدوموناس ميندوسينا* *Pseudomonas mendocina* والجنس البكتيري *سيدوموناس بيوتيدا* *Pseudomonas putida* والجنس البكتيري *سيدوموناس سيباشيا* *Pseudomonas cepacia* والجنس البكتيري *سيدوموناس آللي* *Pseudomonas allei* والجنس البكتيري *سيدوموناس مالتوفيلا* *Pseudomonas maltophila* والجنس البكتيري *سيدوموناس تيستوستيروني* *Pseudomonas testosteroni* والجنس البكتيري *سيدوموناس فيسكولاريس* *Pseudomonas vescularis* والجنس البكتيري *سيدوموناس فلافا* *Pseudomonas flava* والجنس البكتيري *سيدوموناس سيدوفلافا* *Pseudomonas pseudoflava* والجنس البكتيري *سيدوموناس باللليروني* *Pseudomonas palleroni*، *سيدوموناس رودوس* *Pseudomonas rhodos* والجنس البكتيري *سيدوموناس إكينويدس* *Pseudomonas echinoids* والجنس البكتيري *سيدوموناس راديورا* *radiora Pseudomonas* وكذلك الجنس البكتيري *سيدوموناس ميزوفيليكا* *Pseudomonas mesophilica*. وتلعب البكتيريا *سيدوموناس* دوراً كبيراً في إحداث الإصابات في مياه الترفيه الملوثة وغالباً ماتتواجد البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا* في المياه الملوثة بالملوثات الغائطية مثل المياه السطحية حيث أنها تتواجد بأعداد كبيرة في الفضلات الآدمية للأشخاص البالغين الأصحاء ووجودها في المياه دليل على عدم كفاءة عملية المعالجة.



اللون الأخضر للبكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*

طريقة الكشف:

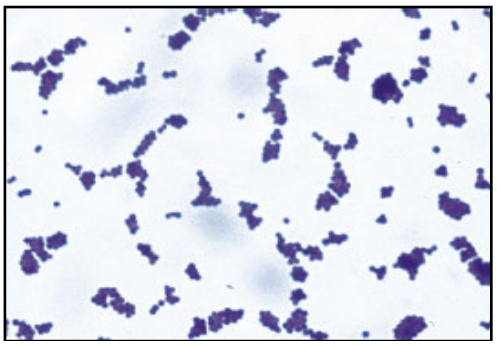
للبكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا* القدرة على النمو في العديد من الأوساط الغذائية التي تستعمل في الاختبارات الروتينية ولعزلها من عينات التربة أو المياه يتم استعمال وسط غذائي انتقائي يحتوي على مادة الـــ acetamide كمصدر للكربون ويتم استعمال الاختبارات الكيموحيوية للتعرف على البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا* المعزولة ويكون حجم مستعمراتها المعزولة من عينات المياه أو التربة صغيرة وخشنة بالمقارنة بمستعمرات البكتيريا المعزولة من العينات السريرية التي غالباً ما تكون تكون ملساء.

ستافيلوكوكس Staphylococcus

وهي عبارة عن بكتيريا كروية الشكل موجبة لصبغة غرام تتواجد خلاياها على هيئة كريات منفردة أوثنائيات أومتجمعة على هيئة عنقودية كما يمكن أن تتواجد على هيئة سلاسل قصيرة وأغلب أنواعها غير متحركة وتعطي نتيجة موجبة لاختبار تفاعل الكاتالاز ولها القدرة على تخمير سكر الجلوكوز وهناك حوالي 32 نوع ومن أهم الأجناس المعروفة الجنس البكتيري *ستافيلوكوكس اوريوس Staphylococcus aureus* والذي يُعطي نتيجة موجبة لاختبار تفاعل التجلط Coagulase test وتظهر المستعمرات النامية بلون أصفر أو برتقالي بعد مضي 2 –3 أيام من التحضين، بعض السلالات لها القدرة على تكوين الحافظة أو تكوين طبقة لزجة تساعدها على مقاومة مضادات البكتيريا وأغلب أنواعها لاهوائية اختيارياً، إلا أن اغلب السلالات تُفضل النمو في الظروف الهوائية ولهذه البكتيريا القدرة على التواجد في مياه الشرب كما لها القدرة على التواجد في وجود تركيز 10% من كلوريد الصوديوم وتقاوم الاختلاف في درجات الحرارة العالية وللبكتيريا *ستافيلوكوكس* القدرة على تخمير المواد الكربوهيدراتية للحصول على الكربون والطاقة ومن هذه السكريات على سبيل المثال: سكر الجلوكوز وسكر المانوز وسكر الجلوكوزأماين وسكر الفركتوز وسكر اللاكتوز وسكر الجالاكتوز وسكر المانيتول وبيتا– جالاكتوسايدات.

تُعتبر الأجناس *ستافيلوكوكس اوريوس* والجنس البكتيري *ستافيلوكوكس ابيبيدرميديس S. epidermidis* والجنس البكتيري *ستافيلوكوكس سابروفيتيكيس S. saprophyticus* من أهم الأجناس البكتيرية الانتهازية الممرضة وهي غالباً ما تسبب التهابات الجلد والالتهابات المصاحبة لعمليات الغسيل الكلوي كما تعتبر البكتيريا *ستافيلوكوكس اوريوس* المسؤولة عن الإسهال العنيف الذي يصاحبه القيء كنتيجة لتأثير الذيفان المعوي enterotoxin الذي تفرزه عندما تتواجد في الطعام وهو مايُعرف بالتسمم الغذائي كما للبكتيريا *ستافيلوكوكس اوريوس* علاقة مباشرة بالمياه وتصيب كل من له علاقة بالتعامل مع المياه كغاسلي الأواني وأخصائيي العلاج بالمياه وكذلك أطباء الأسنان

ويحمل حوالي 50% من المواليد البكتيريا *ستافيلوكوكس اوريوس* في الأنف بمعدل حوالي 200 – 400 خلية/ مليلتر وأن وجود عدة مئات منها في المياه كفيل بإحداث الإصابة في الأشخاص المتعاملين مع المياه عبر الجروح أو الخدوش المتواجدة على أياديهم.



خلايا ستافيلوكوكس اوريوس

تواجدها في البيئة:

تتواجد هذه البكتيريا في براز حوالي 31 – 59% من الأشخاص الأصحاء حيث تتواجد بتركيز يصل إلى $10^2 - 10^4$ / غرام وتتواجد في الإخراجات الآدمية والأمعاء وكذلك الجهاز التناسلي والبولي للعائل كما يمكن لهذه البكتيريا التواجد بأعداد قليلة في الهواء والغبار والتربة وكذلك المياه بالاضافة إلى ذلك فهي تتواجد على الأسطح الصلبة والحشرات والنباتات وفي الأماكن التي تتواجد فيها الثدييات والطيور ويمكن لهذه البكتيريا إحداث إصابات في الأذن والعيون جرَّاء الإستحمام بالمياه الملوثة أو إحداث الإصابة جرَّاء استعمال المياه الملوثة لإعداد الأطعمة كغسل الخضراوات. وليس من الغريب أن تكون من أكثر أعداد البكتيريا التي ينشرها السباحون في أحواض السباحة حيث تتواجد البكتيريا *ستافيلوكوكس اوريوس* في مصادر المياه الخاصة بتركيزات عالية تصل إلى حوالي 400 خلية/مليلتر، بالتالي فإن هذه المياه تلعب دوراً هاماً في إحداث الإصابة، ويُعتبر الجنس البكتيري *ستافيلوكوكس اوريوس* بكتيريا انتهازية ممرضة فلم يتم تسجيل أي جائحة ناتجة من الإصابة بالجنس البكتيري *ستافيلوكوكس اوريوس* إلا أن هناك العديد من حالات الإصابة التي تم توثيقها ويمكن للبكتيريا *ستافيلوكوكس* البقاء لمدة 20 – 30 يوم في درجة

حرارة 20 درجة مئوية وفي وجود كمية قليلة من المواد العضوية إلا أن النمو في البيئة المائية يُعتبر بطيئاً في درجات حرارة اقل من 20 درجة مئوية.

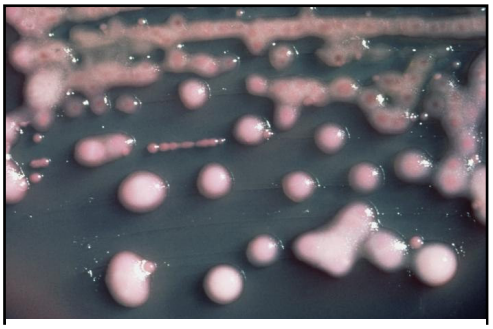
طريقة الكشف:

يمكن عزل البكتيريا *ستافيلوكوكس* باستعمال طريقة عد الطبق لتحليل مياه شبكة التوزيع وليس هناك وسط غذائي محدد يُنصح باستعماله لعزلها من المياه إلا انه يمكن استعمال الوسط الغذائي M-*Staphylococcus* broth الذي أعطى نتائج جيدة عند استعمال طريقة العدد الأكثر احتمالاً المحوَّرة ويتم التأكيد على الأنابيب التي تُظهر عكارة على أنها تحتوي على البكتيريا *ستافيلوكوكس* بتنميتها في الوسط الغذائي Lipoviettin-salt mannitol agar أو استعمال الوسط الغذائي Baird-Parker agar عند استعمال طريقة الترشيح الغشائي ليتم بعد ذلك إجراء الاختبارات الكيموحيوية اللازمة للتعريف، ومن أكثر الأوساط الغذائية المعروفة لعزل هذه البكتيريا على سبيل المثال الوسط الغذائي Lipoviettin-salt mannitol agar والوسط الغذائي Mannitol-salt agar والوسط الغذائي Lipase-salt-mannitol agar والوسط الغذائي Phenylethyl alcohol agar والوسط الغذائي Columbia colistin-nalidixic acid (CNA) agar والوسط الغذائي Baird-Parker agar base المضاف إليه Egg yolk tellurite enrichment حيث تقوم هذه الأوساط الغذائية بتثبيط نمو البكتيريا السالبة لصبغة غرام وتسمح فقط بنمو البكتيريا *ستافيلوكوكس* وبعض الأنواع الأخرى من البكتيريا الموجبة لصبغة غرام ويتم استعمال الوسط الغذائي Schleifer-Krämer agar كوسط غذائي انتقائي لعزل وعدّ البكتيريا *ستافيلوكوكس* من عينات الأغذية والعينات الأخرى الملوثة بدرجة عالية وتحضين هذه الأوساط الغذائية في درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية لمدة 48 – 72 ساعة لتظهر المستعمرات البكتيرية، وهناك عدة أنواع من البكتيريا *ستافيلوكوكس* لها القدرة على النمو بكثافة في الظروف البيئية اللاهوائية على الوسط الغذائي الشبه صلب Brewer's thioglycollate medium وذلك في خلال 24 – 72 ساعة عند درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية مع العلم بأن جميع أنواع البكتيريا *ستافيلوكوكس* تنمو بشكل جيد على

الوسط الغذائي Tryptic soy agar باضافة أو بدون اضافة دم كما أن الوسط الغذائي Brain-heart infusion agar والوسط الغذائي Nutrient agar يساعدان على نمو البكتيريا *ستافيلوكوكس*.

كليبسيلا Klebsiella

يُعتبر هذا الجنس البكتيري أحد أهم الأنواع البكتيريا القولونية وهي عبارة عن خلايا عصوية لاهوائية اختيارياً وليس لها القدرة على النمو في الظروف البيئية اللاهوائية ويتراوح طولها حوالي 1–2 ميكرومتر وعرضها حوالي 0.5 – 0.8 ميكرومتر، كما لها القدرة على تخمير سكر اللاكتوز وهي بكتيريا غير متحركة، هناك عدة سلالات من هذه البكتيريا تحتوي على أهذاب ولهذه البكتيريا القدرة على النمو في درجات حرارة متفاوتة تتراوح مابين 12 – 43 درجة مئوية وتتأثر عند تعريضها للحرارة الرطبة عند درجة حرارة 55 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة وعند توفر الظروف البيئية الملائمة فهي تكون حافظة جيلاتينية وهذه من صفات البكتيريا *كليبسيلا نيومونيا Klebsiella pneumoniae*.
هناك 5 أنواع من أجناس هذه البكتيريا لها أهمية من الناحية الصحية للإنسان وهم : الجنس البكتيري *كليبسيلا نيومونيا* والجنس البكتيري *كليبسيلا أوكسيتوكا K. oxytoca* والجنس البكتيري *كليبسيلا رينوسكليروماتيس K. rhinoscleromatis* والجنس البكتيري *كليبسيلا بلانتيكيولا K. planticola* وكذلك الجنس *كليبسيلا اوزائينا K. ozaenae* واغلب سلالات هذه البكتيريا مصدرها البيئة وغير ممرضة.



كليبسيلا نيومونيا

تواجدها في البيئة:

يتضمن الجنس البكتيري *كليبسيلا* على 7 أنواع معروفة وحوالي 72 نوعاً مصلياً وقد كانت تعرف بإسم Friedlander's bacillus والتي أصبحت تسمى فيما بعد بالبكتيريا

كليبسيلا نيومونيا وبعض السلالات تُظهر تفاعلات غير متوقعة، كأن يكون لها القدرة على تخمير سكر الجلوكوز في درجة حرارة 5 درجات مئوية وكذلك القدره على تخمير سكر اللاكتوز عند درجة حرارة 44.5 درجة مئوية، وهي غالباً ما تكون من المصدر الغائطي وحوالي 60 – 85% من الجنس البكتيري *كليبسيلا* من مصدر غائطي وهي تتواجد بنسبة حوالي 30 – 40% من أمعاء الحيوانات ذوات الدم الحار كما أن الجنس البكتيري *كليبسيلا بلانتيكولا K. planticola* والجنس *كليبسيلا تيرريجينا K. terrigena* يعتبران من مصدر بيئي ويتواجدان في الفواكه والخضراوات ومنتجات الحليب والأنسجة الداخلية والخارجية للأشجار وأجنة البذور والقش وكذلك القطن.

تحتوي المياه السطحية والمياه الجوفية غير المحمية على الجنس البكتيري *كليبسيلا* والتي غالباً ما تكون من مصدر بيئي أو غائطي وذلك نتيجة لجريان مياه الأمطار بعد تساقطها في الأماكن التي تتواجد فيها هذه البكتيريا وتبين في إحدى الدراسات البحثية أن لهذه البكتيريا القدرة على البقاء في المياه المعقمة لمدة تصل إلى 20 يوماً.

الدراسات الوبائية:

غالباً ما تنتقل هذه البكتيريا من خلال التعامل مع المياه عند الغسيل أوعند إعداد الطعام وتنتقل من شخص لآخر عند عدم الاهتمام بالنظافة الشخصية خاصة في المستشفيات ومراكز رعاية العجزة كما أن إستنشاق رذاذ الماء الملوث يعتبر وسيلة هامة لانتقال هذه البكتيريا ولم تسجل أي جائحة بسبب تواجد هذه البكتيريا في إمدادات مياه الشرب العامة وأن أغلب الحالات المرضية التي سُجِلت لم يكن المسبب فيها البكتيريا ذات المصدر الغائطي وتتراوح الجرعة الممرضة للبكتيريا المعزولة من البيئة أو من العينات الإكلينيكية ما بين $3.5 \text{ X } 10$ و $7.9 \text{ X } 10^5$ خلية/لتر بالتالي فإن تناول مقدار 100 مليلتر من المياه الملوثة (ما يعادل كوب من الماء) يحتوي على $3.5 \text{ X } 10$ من البكتيريا *كليبسيلا* في كل مليلتر كافٍ لإحداث المرض للأشخاص المعرضين ويمكن التخلص من

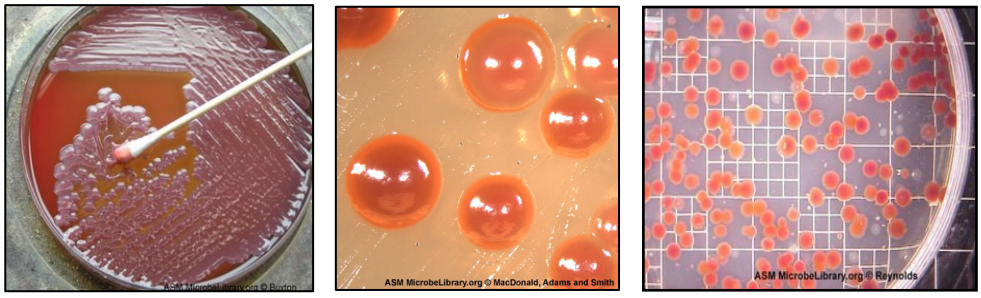
هذه البكتيريا في الأنابيب بالتطهير إلا أن الأجناس البكتيرية التي تمتلك الحافظة قادرة على مقاومة عمليات التطهير.

طريقة الكشف:

يتم استعمال الوسط الغذائي M-Endo agar لعزل هذه البكتيريا من المياه كما يمكن استعمال أوساط غذائية أخرى مثل الوسط الغذائي M-Kleb agar الذي يُستعمل في طريقة الترشيح الغشائي حيث تظهر المستعمرات البكتيرية بلون يتراوح من أزرق داكن إلى اللون الرمادي الداكن.

سيرراتيا Serratia

وهي عبارة عن بكتيريا عصو – كروية صغيرة الحجم سالبة لصبغة غرام ومتحركة وقد تكون هوائية أو لاهوائية اختيارياً وتعطي نتيجة موجبة لاختبار تفاعل الكاتالاز والسيترات والـــVP وكذلك ONPG كما تعطي نتيجة سالبة لاختبار تفاعل الأوكسيداز وهذه البكتيريا لاتكون الحافظة في الظروف الطبيعية ولوحظ أنها تكون الحافظة عند تم تنميتها في وسط غذائي يحتوي على النيتروجين والفوسفات عند توفر الظروف الهوائية الجيدة ولهذه البكتيريا القدرة على تخمير الكربوهيدرات مثل سكر المانيتول mannitol وسكر تريهالوز trehalose منتجة غازاً وينتج الجنس البكتيري *سيرراتيا مارسيسنس* *Serratia marcescens* عند تنميته في درجة حرارة ما بين 25 – 30 درجة مئوية صبغة حمراء غير قابلة للانتشار تدل على وجود هذه البكتيريا ومن الشائع عزل سلالات غير منتجة لهذه الصبغة من العينات البيئية والسريرية ومن الأنواع الأخرى التي يمكن عزلها من العينات البيئية الجنس البكتيري *سيرراتيا ليكويفاسينس* *S. Liquefaciens* والجنس البكتيري *سيرراتيا اودوريفيرا* *S. odorifera* .



مستعمرات البكتيريا *سيرراتيا* وخلاياها المصبوغة

الدراسات الوبائية:

تعتبر الأجناس *سيرراتيا مارسيسنس* والجنس البكتيري *سيرراتيا اودوريفيرا* والجنس البكتيري *سيرراتيا رابيدائي* *S. rubidaea* والجنس البكتيري *سيرراتيا ليكويفاسينس* من الأجناس البكتيرية الانتهازية الممرضة التي قد تسبب عدوى المستشفيات.

تواجدها في البيئة:

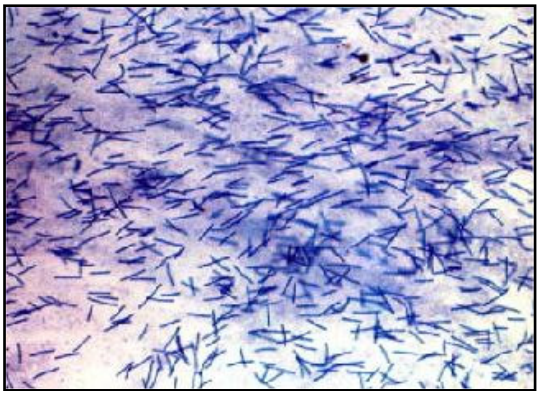
تتواجد هذه البكتيريا في البيئة بصورة كبيرة حيث يمكن أن تتواجد في المياه السطحية والجوفية والتربة والنباتات المتحللة والحشرات واللحوم المتحللة وكذلك الحليب الفاسد وتنتقل بواسطة المياه الملوثة أو نتيجة التلامس المباشر بين الأشخاص ويمكن لهذه البكتيريا أن تتواجد في المياه المعالجة والمياه المعبأة كما يمكن ان تتواجد في مياه النوافير وآلات تصنيع الثلج ووحدات توفير الرطوبة وكذلك أجهزة الغسيل الكلوي ولهذه البكتيريا القدرة على التواجد في مياه الصنابير لمدة تصل حتى 100 يوم وفي مياه الآبار الملوثة تتواجد لمدة أطول من ذلك بينما في المياه المقطرة فلها القدرة على التواجد إلى حوالي 48 يوم وذلك في درجة حرارة الغرفة ويكون معدل تواجدها في المياه أقل من 100 مستعمرة لكل 1 مليلتر وذلك في عدم تكوّن الغشاء الحيوي.

طريقة الكشف:

يمكن استعمال الوسط الغذائيR2A agar عند درجة حرارة 20 – 30 درجة مئوية وذلك باستعمال طريقة الترشيح الغشائي أوطريقة التوزيع على الطبق وتكون مستعمراتها متجانسة خلال اليوم الأول والثاني ثم تصبح المستعمرة النامية محدبة الشكل ملونة مع وجود لون معتم في وسط المستعمرة مع نهايات غير منتظمة ومسننة واللون الأحمر للمستعمرة يكون نتيجة تكوينها للصبغة Prodigiosin.

فلافوباكتيريوم Flavobacterium

وهي عبارة عن بكتيريا عصوية هوائية سالبة لصبغة غرام وهي غير متحركة ونتيجة التفاعل لاختبار الأوكسيداز موجبة وليس لها القدرة على تخمير الكربوهيدرات كما أنها لاتؤكسد سكر الجلوكوز وعند تنميتها في درجة حرارة 37 درجة مئوية تظهر المستعمرات بلون اصفر أو برتقالي أو أحمر بني ويعتبر الجنس *فلافوباكتيريوم مينينجوسيبتيكوم Flavobacterium meningosepticum* من أهم أجناسها، وهذا الجنس يتواجد في البيئات الرطبة وخاصة التربة كما أنه من الشائع عزلها من رذاذ الماء وهناك حوالي 40 – 70 نوعاً من هذه البكتيريا كما إن هذا الجنس ينقسم إلى ثلاث مجاميع طبيعية وتمثل المجموعة الأولى الأنواع التي لها القدرة على تكسير السكريات ونتيجة التفاعل لاختبار الإندول موجبة أما المجموعة الثانية فهي تمثل الأنواع غير القادرة على تكسير السكريات ونتيجة التفاعل لاختبار الإندول سالبة أما المجموعة الثالثة فهي التي لها القدرة على تكسير السكريات أما نتيجة التفاعل لاختبار الإندول فهي سالبة.



فلافوباكتيريوم مينينجوسيبتيكوم

تواجدها في البيئة:

تتواجد هذه البكتيريا في التربة ومياه الشرب ومياه الصرف الصحي والنباتات ومنتجات الحليب وتعتبر التربة والمياه من أهم البيئات التي تتواجد فيها هذه البكتيريا مع العلم بوجود بعض الأنواع التي لها القدرة على مقاومة الكلور ويمكن للمياه الراكدة في

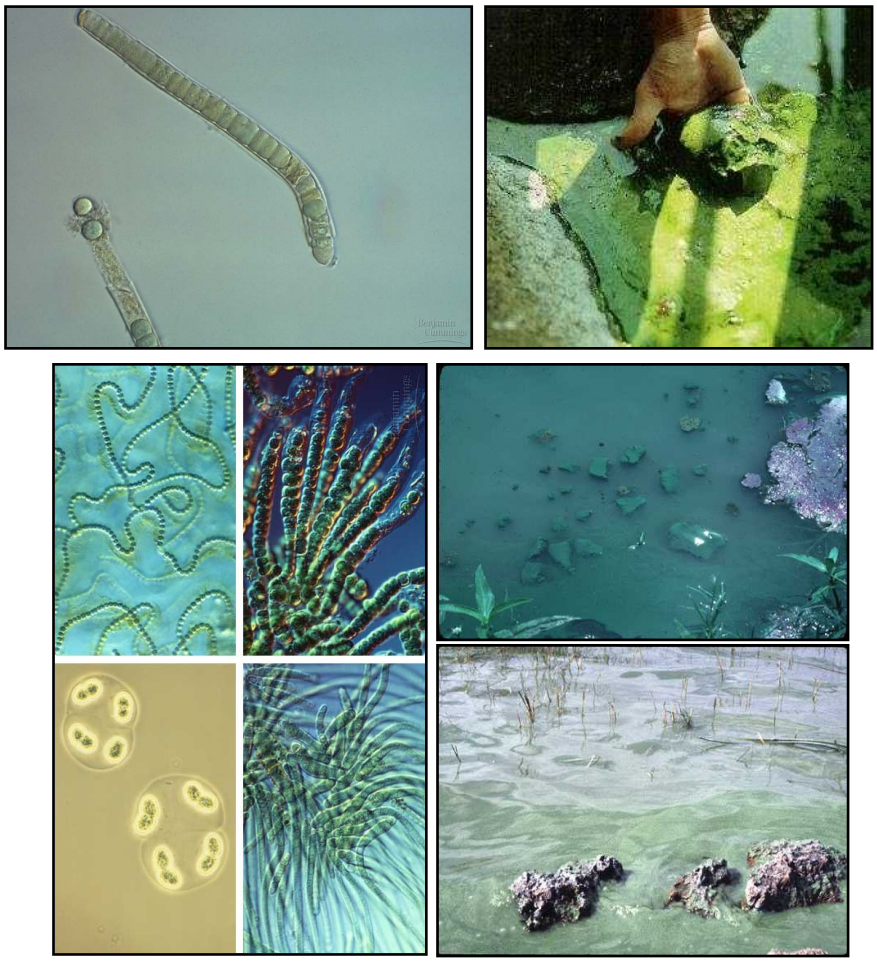
أنابيب الأبنية السكنية أن تساعد هذه البكتيريا على الالتصاق بأنابيب المياه وهذا الأمر شائع في أنابيب شبكات توزيع المياه في المستشفيات وتصل هذه البكتيريا إلى مياه الشرب من خلال توصيل بعض التوصيلات الملوثة بشبكة إمداد المياه، من هنا فإن السبيل لهذه البكتيريا للانتقال يكون عبر الفم وتلامس الجسم بالمياه كما ثبت انتقالها من شخص لآخر في المستشفيات ومن خلال الدراسات تبين أن عدم وجود الكلور الحر ودرجة حرارة المياه التي تزيد عن 15 درجة مئوية وتراكم العناصر الغذائية في الترسبات المتواجدة في الأنابيب وكذلك ركود المياه يساعد على عودة نمو هذه البكتيريا في مياه الشرب.

طريقة الكشف:

يمكن الكشف عن هذه البكتيريا في المياه بواسطة طريقة التوزيع على الطبق R2A spread plates وذلك بتحضين الأطباق في درجة حرارة 22 و 28 درجة مئوية لمدة لاتقل عن 7 أيام.

البكتيريا الطحلبية *Cyanobacteria*

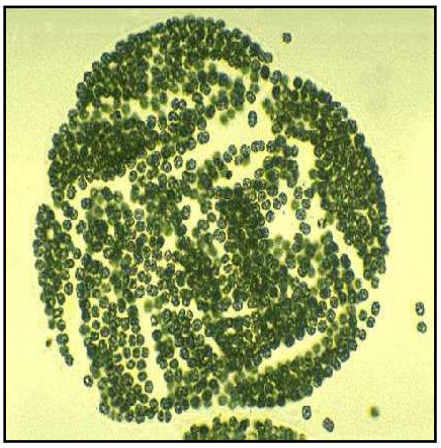
وهي عبارة عن بكتيريا سالبة لصبغة غرام كانت تعرف بالطحالب الزرقاء المخضرة Blue green algae ولها القدرة على تثبيت النيتروجين في غياب الضوء ويتراوح حجمها ما بين 1 ميكرومتر للخلايا الأحادية و30 ميكروميتر للأنواع ذات الخلايا المتعددة وقد يصل عددها في المياه خلال الأشهر الدافئة من السنة خاصة فصل الصيف إلى أكثر من 500 خلية في كل مليلتر وتقوم هذه البكتيريا بتكوين تكتلات طحلبية سامة Algal blooms خاصة في البرك وخزانات المياه وتصنف على أنها من مجموعة البكتيريا ذاتية التغذية ضوئياً lithoautotrophic.



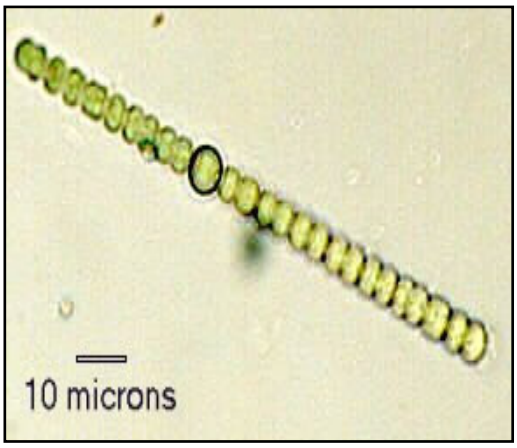
التكتلات الطحلبية وأنواع مختلفة من البكتيريا الطحلبية

تواجدها في البيئة:

تتواجد هذه البكتيريا بكثرة في أغلب دول العالم: مثل دول قارة أفريقيا وأوروبا وأمريكا وأسيا وأستراليا، وتعتبر 75% من هذه التكتلات الطحلبية المتواجدة في بريطانيا سامة ومما يساعدها على التواجد في مختلف البيئات هو عدم اعتمادها على مصدر محدد للحصول على الكربون لذلك فهي تتواجد بصورة كبيرة في البيئات المائية كالمياه العذبة ومياه البحار كما لها القدرة على التواجد في التربة ولاتصنف أغلب أنواعها على أنها بكتيريا ممرضة إلا أن بعض الأنواع التي تعيش في المياه مثل *أنابئينا* Anabaena وكذلك *مايكروسيستس* *Microcystis* لها القدرة على إنتاج ذيفان سام في المياه يعرف بـــ saxitoxin like ويؤثر هذا الذيفان على الجهاز العصبي للحيوانات الأليفة ولا يؤثر على الإنسان.



مايكروسيستس



أنابئينا

إن ارتفاع درجة حرارة المياه والتركيز العالي للنيتروجين غير العضوي والفوسفور يشجع هذه البكتيريا على التواجد كما أن قدرتها على تثبيت النيتروجين يجعلها قادرة على البقاء لفترات طويلة ومما يجعل من الصعب التخلص من أخطارها أن الذيفان الذي تفرزه في المياه يحافظ على فعاليته لعدة أيام حتى بعد التخلص من الخلايا البكتيرية

بمعالجتها بالكلور وكبريتات النحاس، ويمكن التخلص من الذيفان باستعمال تقنية حبيبات الكربون النشطة (GAC).

طريقة الكشف:

يمكن التعرف على الأنواع المختلفة من هذه البكتيريا بالفحص المجهري المباشر الذي يُجرى للتكتلات الطحلبية وفي الغالب يمكن التمييز بين الأنواع السامة من الأنواع غير السامة كما يمكن عدَّها تقريبياً باستعمال المجهر الضوئي ولتنمية هذه البكتيريا يتم مزج عينة المياه باستعمال الحبيبات الزجاجية أو باستعمال الموجات فوق الصوتية وذلك لتكسير الخيوط الرفيعة للبكتيريا الخيطية قبل تنميتها على الوسط الغذائي وهناك العديد من الأوساط الغذائية التي يمكن استعمالها مثل الوسط الغذائي D-medium والوسط الغذائي ASM-1، BG-11 وكذلك الوسط الغذائي WC ويتم التحضين في درجة حرارة 25 درجة مئوية مع التعريض المباشر لأشعة الضوء الفلورسنتي الأبيض وهناك عدة طرق لتحديد وجود ذيفان هذه البكتيريا في المياه كاستعمال تقنية الكروماتوغرافيا (HPLC) أو (GC).

الدراسات الوبائية:

هناك العديد من التقارير التي تظهر تسمم قطعان الماشية والحيوانات الأليفة وغير الأليفة جراء تناولها المياه الملوثة بالتكتلات الطحلبية ولم يتم تسجيل حالات مشابهه في الإنسان وتم تسجيل جائحة التهاب كبدي أصاب حوالي 139 طفل و 10 أشخاص بالغين في أستراليا بعد تناولهم مياهاً من مصدر يحتوي على كميات كبيرة من التكتلات الطحلبية وظهرت هذه الجائحة بعد خمسة أيام من معالجة المياه باستعمال كبريتات النحاس للقضاء على الطحالب النامية كما أن هناك عدة تقارير تفيد بوجود جائحات لمرضى الغسيل الكلوي فعلى سبيل المثال في أمريكا تم رصد جائحة في وحدة غسيل الكلى نتيجة لاحتواء مصدر مياه الشرب على تركيز عالٍ من الذيفان الداخلي endotoxin الناتج من وجود كميات هائلة من التكتلات الطحلبية في المصدر قبل إجراء معالجة للمياه كما تم رصد

جائحة التهاب الكبد في إحدى وحدات غسيل الكلى في وسط البرازيل سنة 1996 أصيب فيها حوالي 130 مريض يترددون على هذه الوحدة توفى منهم 50 شخصاً أصيبوا بفشل كلوي بعد أن اعتلت صحة 116 شخص في هذه الجائحة تم عزل البكتيريا *مايكروسيستس* من عينات المياه المستعملة في غسيل الكلى، كما تم عزلها من عينات للمرضى المصابين حيث تبين أن المياه لم تتم معالجتها.

حددت منظمة الصحة العالمية حداً أعلى لوجود البكتيريا *مايكروسيستس* في مياه الشرب بمقدار 1 ميكروغرام في كل لتر وفي المقابل فإن المواصفات الكندية تسمح فقط بوجود 0.5 ميكروغرام في كل لتر.

ليجيونيلا Legionella

وهي عبارة عن عصيات هوائية سالبة لصبغة الغرام ولاتكوِّن أبواغاً ويبلغ عرضها حوالي 0.3 – 0.9 ميكرون وطولها حوالي 1.5 – 2.0 ميكرون وغالباً ما تتواجد أجناس هذا النوع البكتيري على هيئة عصيات مكورة عند الفحص المجهري المباشر للعينات السريرية وتكون متفاوتة الأطوال بعد تلقيحها في الوسط الغذائي المناسب وقد تكون خيطية طويلة وقد يصل طولها إلى أكثر من 20 ميكرون. يتم صبغها باستعمال أحد الطرق التالية: Diff-Quik أو Giemsa أو Gram-Weigert. يعتبر اكتشاف البكتيريا *ليجيونيلا* من التطورات التي حدثت في علم البكتيريا حيث أن تواجد أعداد كبيرة من هذه البكتيريا في البيئة المائية التي يتعامل معها الإنسان بطريقة مباشرة قد يؤدي لاحتمالية تفشي وباء يعرف بمرض المحاربين القدامى الذي قد يتفشى في المستشفيات والفنادق والمنتجعات وغيرها مما تطلب ضرورة اعتماد طرق كشف معملية جديدة أكثر دقة وحساسية من الطرق التقليدية حيث أن سرعة الكشف عن البكتيريا الممرضة يمَكِن من السيطرة على تفشي المرض قبل استفحاله.

في سنة 1976 انتشر وباء الالتهاب الرئوي وسط مجموعة من المحاربين القدامى كانوا مجتمعين في احتفال تكريمي لهم في ولاية فيلادلفيا وسمى هذا الوباء بمرض المحاربين القدامى (مرض الفيلق) Legionnaires حيث بلغ عدد الحالات المصابة 182 حالة توفى منهم 29 حالة ومع بداية عام 1977 أستطاع الدكتور جوزيف ماكداد التابع لمركز مكافحة الأمراض السارية CDC عزل الكائن المسبب وبذلك أضيفت عائلة جديدة لعلم البكتيريا وهي عائلة Legionellaceae وفي سنة 1979 قام مجموعة من العلماء من بينهم الدكتور ماكداد بوضع تصنيف لأجناس البكتيريا التي تصنف تحت هذه العائلة وكان من بينهم الجنس البكتيري *ليجيونيلا نيموفيلا Legionella pneumophila* المسببة للوباء سالف الذكر وحالياً يبلغ عدد الأجناس التي صُنفت تحت هذه العائلة حوالي 41 جنس يتم عزلهم من عينات إكلينيكية وعينات بيئية حيث لهذه البكتيريا القدرة على

التواجد في البيئات المائية والبيئات الرطبة والنمو في درجات الحرارة المختلفة (0 – 63 درجة مئوية) كما تفضل النمو في معدل الأس الهيدروجيني مابين (5 – 8.5).

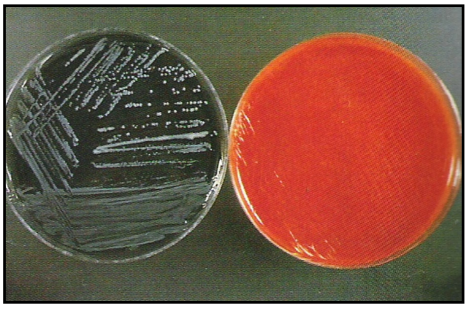
خلايا البكتيريا *ليجيونيلا*

جدول يوضح تأثير درجات الحرارة على البكتيريا *ليجيونيلا*

درجة الحرارة	التأثير المتوقع
20 درجة مئوية	تتواجد البكتيريا في حالة سكون
35 - 46 درجة مئوية	درجة الحرارة المثلى للنمو
أكثر من 50 درجة مئوية	تقضي على 90 % من المستعمرات البكتيرية في خلال دقيقتين
60 درجة مئوية	تقضي على 90 % من المستعمرات البكتيرية في خلال دقيقتين
70 درجة مئوية	تقضي على كل المستعمرات البكتيرية في وقت قصير

تحتاج هذه البكتيريا لتنميتها معملياً لوسط غذائي يحتوي على الحمض الأميني L-Cysteine وأملاح الحديد وهذا ما يتوفر في الوسط الغذائي Buffered charcoal

yeast extract agar (BCYEa) ولايمكن تنميتها على الوسط الغذائي أجار الدم أو أي نوع آخر من الأوساط الغذائية التقليدية التي تستعمل لعزل البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز التنفسي.

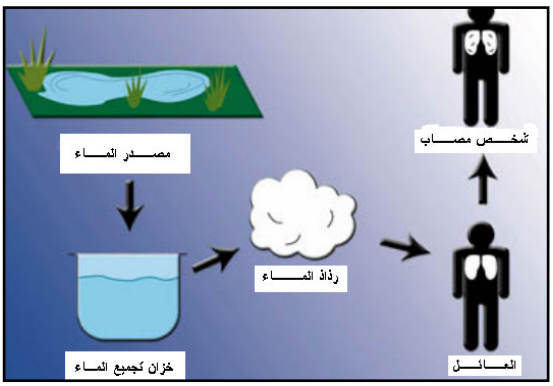


النمو البكتيري على الطبق BCYEa وانعدام النمو على الطبق B.A

نمو المستعمرات البكتيرية على طبق (BCYEa) مع عدم نموها على طبق أجار الدم يُعطي نتيجة افتراضية على وجود أحد أنواع البكتيريا *ليجيونيلا* مما يساعد في حالات تشخيص الإصابة بالالتهاب الرئوي ويشاركها في هذه الخاصية البكتيريا *فرانشيسيلا* *Francisella* إلا أن الفارق بينهم أن للبكتيريا *ليجيونيلا* القدرة على تخمير سكر اللاكتوز كما أن اختبار تحلل هيبورات الصوديم قد يُعطى نتيجة افتراضية على وجود النوع *ليجيونيلا نيموفيلا* في العينات الإكلينيكية وهذا مايُميزها عن الأنواع البكتيرية الأخرى لنفس الجنس.

حوالي 50 % من حالات الإصابة بهذه البكتيريا تظهر عليها أعراض الالتهاب الرئوي والبعض الآخر يصاب بحمى تشبه الإصابة بالأنفلونزا ويسمى Pontiac fever وتعتمد هذه البكتيريا في تكاثرها على تواجد كائنات دقيقة أخرى في الوسط البيئي الذي تنمو فيه حيث أظهرت الدراسات أن هذا النوع من البكتيريا يمكنها أن تبقى لفترات طويلة عند تنميتها في مياه معقمة دون أن تتضاعف عددياً كما لوحظ أنها تتضاعف عند تواجد الطحالب ويتوقف تضاعفها عند التخلص من هذه الطحالب وبإمكان هذه البكتيريا النمو في البيئة المائية بإعتمادها على الجراثيم البكتيرية المتواجدة في الغشاء الحيوي الذي يوفر العناصر الغذائية اللازمة للنمو ويحميها من الظروف الخارجية بما في ذلك عمليات

التطهير وحيث أن اختبارات الكشف عن وجود هذه البكتيريا لايعد من الاختبارات الروتينية فإن تواجدها غالباً مايحدد فقط بعد ظهور الإصابات وإن تواجد البكتيريا *ليجيونيلا* الشائع في المياه كفلورة طبيعية يجعل من غير المجدي اعتماد اختبارات الكشف عنها كاختبار روتيني لتحديد وجودها حيث أن النتيجة الموجبة لاتعنى بالضرورة احتمالية حدوث الإصابة وبالتالي فإنها ستكون نتيجة مضلّلة مما سينتج عن ذلك اتخاذ إجراءات تصحيحية مكلفة من الناحية المادية كما أن النتيجة السالبة المضللة لاتعنى بالضرورة خلو هذه المياه من التلوث وبالتالي فإنها قد تؤدى إلى الآمان في حين أن المياه ملوثة، كما أن المستعمرات البكتيرية لهذه البكتيريا قد لاتظهر عند تنمية النوع الممرض من هذه البكتيريا في الوسط الغذائي المتعارف عليه.



مصدر العدوى

تعتبر المياه ضرورية لدعم الحياة ولكنها قد تكون مهددة لهذه الحياة وذلك عند تلوثها بالبكتيريا *ليجيونيلا نيموفيلا* حيث أن هذه الجراثيم يمكن أن تنمو في الأنابيب غير النظيفة والمياه الراكدة عند درجة حرارة مابين 25 – 55 درجة مئوية وعند استنشاق رذاذ هذه المياه الملوثة قد يؤدى ذلك إلى مرض الفيلق الخطير.

الدراسات الوبائية:

تم تحديد وجود إصابات بهذه البكتيريا في شمال وجنوب أمريكا وأستراليا ونيوزلندا ومعظم دول أوروبا وكذلك أفريقيا، وبالرغم من أن هذه البكتيريا منتشرة بشكل كبير جغرافياً إلا أن أغلب هذه الإصابات تم تحديدها والكشف عليها في الدول المتقدمة

حيث تتواجد أنظمة تدوير المياه (recirculating water system) بشكل أكثر مما في الدول النامية أو قد يعود ذلك لقلة المعلومات حول تواجد هذه البكتيريا في الدول النامية وذلك لعدم وجود قاعدة بيانات في هذه الدول.

إن تعرض الإنسان مباشرةً للمصادر الملوثة بهذا النوع من البكتيريا قد يؤدى إلى حدوث الإصابة وأن حالات تفشى المرض التي ظهرت كانت نتيجة للتعرض للمياه الملوثة كأبراج التبريد أو أي من مكونات شبكة توزيع المياه وتُعتبر أبراج تبريد المياه عن طريق أنظمة تكييف الهواء من أهم مصادر حدوث الإصابات حيث ينتج عن ذلك حدوث إصابات كثيرة من الناحية العددية في فترة زمنية قصيرة ومن الناذر حدوث الإصابة نتيجة التعرض لمياه شبكات التوزيع أو غلايات المياه.

في إحدى الدراسات التي أجريت سنة 1988 تم تجميع عدة الآف عينة من مصادر مختلفة وكانت نسب تواجد هذا النوع من البكتيريا في هذه العينات كالتالي:

- **أبـــراج التبريد** **% 6.26**
- **شبكات توزيع مياه الشرب** **% 7.01**
- **غلايـــــات المياه** **% 12.03**

طرق معالجة المياه الملوثة بالبكتيريا *ليجيونيلا*:

هناك عدة طرق للتخلص من هذه البكتيريا في شبكات توزيع المياه وهي كالتالي:

- التطهير بالتسخين Thermal Disinfection :

تعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق استعمالاً في المستشفيات والفنادق والمباني الكبرى حيث يتم من خلالها تسخين المياه إلى درجة حرارة 70 درجة مئوية كما يتم تسخين جميع مكونات شبكة التوزيع بما في ذلك الصنابير لمدة 30 دقيقة وهذه الطريقة تستعمل عند تفشى المرض وهى تعتبر حل مؤقت ولاتقضى على التلوث بصورة نهائية.

- المعالجة بتركيز عالٍ من الكلور Hyperchlorination :

تعتمد هذه الطريقة على استعمال تركيز عالٍ من مادة الكلور بحيث يتراوح زمن التعريض مابين 60 – 120 دقيقة وهي طريقة مكلفة من الناحية المادية وتؤدى لتآكل الأنابيب مع مرور الزمن ومن عيوب هذه الطريقة أيضاً أن التوقف المفاجئ لعملية الكلورة لفترة زمنية بسيطة يؤدي إلى عودة نمو هذه البكتيريا كما أن عملية الكلورة تؤدِّي إلى ارتفاع تركيز مركبات (Trihalomethanes) الغير مرغوب فيها في المياه نتيجة لارتفاع تركيز الكلور عن 4 مليغرام/لتر مما سيؤدي إلى حدوث مشاكل صحية للمستهلك.

- التأين باستعمال النحاس والفضة Copper-Silver Ionization :

تؤدي هذه المعالجة إلى تحلل البروتين مما يسبب في تحلل الخلية البكتيرية وموتها وهذه الطريقة أقل كلفة من الطريقة السابقة ومن عيوبها تكوُّن راسب على الإلكترود مما يقلل من كفاءة هذا الجهاز وإن وجود تركيز عالٍ من النحاس والفضة في المياه يؤدى إلى إسوداد لون المياه.

- الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet Light :

تقوم هذه الأشعة بالتخلص من هذه البكتيريا بالتأثير على تصنيع الحمض النووي الدنا DNA ومن عيوب هذه الطريقة الحاجة إلى الصيانة المستمرة للمصباح حتى لاتتكون ترسبات تغطى المصباح.

- الأوزون Ozone :

من عيوب هذه الطريقة تحلل غاز الأوزون بسرعة والتكلفة المادية العالية.

طريقة الكشف:

من المعلوم أن تواجد أعداد كبيرة من البكتيريا *ليجيونيلا نيموفيلا* في المصادر المائية الطبيعية والاصطناعية يؤدى إلى حدوث الإصابات ومن هذه الإصابات على سبيل

المثال ما يُعرف بعدوى المستشفيات مما تطلب ضرورة التفكير في إيجاد اختبارات سريعة تُمكن من معرفة مدى تواجد هذه البكتيريا على أن تكون أكثر دقة وذات حساسية عالية وغير مكلفة من الناحية المادية ففي دراسة قام بها (Priscilla Declerck وآخرون سنة 2006) تم فيها استعمال تقنية التفاعل المتسلسل لإنزيم البوليمر cPCR لعينات من مياه أبراج التبريد ومياه الصنابير لُقحت مسبقاً بالبكتيريا *ليجيونيلا* وتم مقارنتها بالطريقة التقليدية أوضحت النتائج دقة وسرعة وحساسية طريقة الكشف باستعمال cPCR مما وعد بظهور طريقة جديدة توفر الوقت والجهد لمعرفة مدى تواجد هذا النوع من البكتيريا في البيئات المائية المختلفة وتساهم في الحد من انتشار المرض.

وفي دراسة أخرى أجريت سنة 1998 قام بها (Weir SC وآخرون) تم استعمال تقنية PCR لتحديد مدى تواجد الأنواع المختلفة للبكتيريا الممرضة التي يصعب عزلها وتحديد وجودها بالطرق التقليدية من بينهم البكتيريا *ليجيونيلا* في هذه الطريقة تم الكشف عن وجود هذه البكتيريا في خلال 6 ساعات بينما باستعمال الطريقة التقليدية تم تحديد وجود هذه البكتيريا بعد 12 يوماً وكما هو معروف فإن عامل الزمن مهم جداً في الحد من انتشار الأمراض من هنا فإنه من الأجدى إدخال هذه التقنية في إجراء اختبارات الكشف عن هذه البكتيريا الممرضة.

أركوباتير Arcobacter

وهي عصيات سالبة لصبغة غرام غير مكونة للأبواغ وحجمها حوالي 1 – 3 ميكرومتر طولاً و 0.2 – 0.9 عرضاً ومن أنواعها البكتيريا *أركوباكتير باتزليري* *Arcobacter butzleri* ويتراوح شكلها من عصيات منحنية إلى عصيات على هيئة الحرف اللاتيني **S** وبأبعاد مابين 0.2 – 0.4 ميكرومتر عرضاً 1 – 3 ميكرومتر طولاً وتعطي نتيجة موجبة لاختبار الكاتالاز وقد تكون نتيجة التفاعل ضعيفة وتتحرك هذه البكتيريا بواسطة سوط يتواجد على أحد أقطابها وبحركة على هيئة وثبات لولبية مفاجئة ولهذه البكتيريا القدرة على النمو في درجات حرارة متفاوتة من حوالي 15 درجة مئوية وحتى 42 درجة مئوية وتعتبر محبة للهواء جزئياً micro-aerophilic ولكنها لاتحتاج لوجود الهيدروجين لنموها ولها القدرة على تحمل الظروف الهوائية عند درجة حرارة 30 درجة مئوية.

تواجدها في البيئة:

تتواجد البكتيريا *أركوباكتير باتزليري* في مياه الشرب ومياه الصرف الصحي وأظهرت بعض الدراسات الدور الهام الذي تلعبه هذه البكتيريا في إحداث الإصابات عند الإنسان وتتأثر هذه البكتيريا بالمعالجة بغاز الأوزون أو باستعمال الكلور.

طرق الكشف عنها:

يتطلب العزل الأولي لهذه البكتيريا خطوتين تبدآن بتحفيز حركتها وذلك بتنميتها في وسط غذائي شبه صلب عند درجة حرارة 30 درجة مئوية ثم يلي ذلك تنميتها في الوسط الغذائي آجار الدم الذي يحتوي على المضاد الحيوي كاربينسيللين carbenicillin وقد يتم استعمال مضادات حيوية أخرى مثل المضاد الحيوي بيبراسيللين piperacillin أو المضاد الحيوي سيفوبيرازون cefoperazone أو المضاد الحيوي ترايميتوبريم trimethoprim أوالمضاد الحيوي سايكلوهيكسامايد cycloheximide بحيث يتم اضافة

المضاد الحيوي للوسط الغذائي حساء موليير – هينتون Mueller Hinton broth المضاف إليه 0.25 % آجاروز agarose وهو مايعرف بالوسط الغذائي الإنتقائي لهذه البكتيريا Selective Medium *Arcobacter* ليتم بعد ذلك عزل المستعمرات البكتيرية المتحركة من مناطق الحركة Swarming zones والتي تُشكل مسافة 30 – 40 ميلليمتراً من سطح الوسط الغذائي كما يمكن استعمال الوسط الغذائي Campy-CVA لعزل هذه البكتيريا.

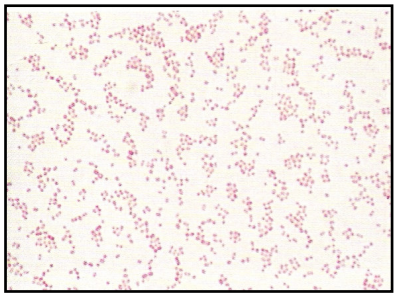
الشكل الظاهري للمستعمرات البكتيرية النامية على الوسط الغذائي آجار الدم بعد 24 ساعة من الحضانة في درجة حرارة 37 درجة مئوية يكون على هيئة مستعمرات ملساء ومسطحة ومائية القوام ويتراوح لونها من البني الفاتح الشفاف translucent beige إلى الأصفر كما أن شكلها الظاهري يشبه إلى حد كبير مستعمرات البكتيريا *كامبيلوباكتير*.

الدراسات الوبائية:

لم يتم حتى الآن معرفة طريقة إصابة الإنسان بهذه البكتيريا ولكن من المرجح أن تكون الإصابة ناتجة من تناول المياه الملوثة وفي العديد من الدراسات التي أجريت تم عزل هذه البكتيريا من شبكات مياه الشرب والأنهار ومياه الصرف الصحي ولم يتم تصنيفها على أنها بكتيريا ممرضة حتى الآن.

أسينيتوباكتير: Acinetobacter

وهي عبارة عن عصيات قصيرة الشكل سالبة لصبغة غرام مع أنها متغيرة الاستجابة لهذه الصبغة'Gramvariable' وتحتاج إلى ظروف بيئية هوائية لنموها وهي مكونة للحافظة ولاتكون أبواغاً ويتراوح قطرها مابين 1 – 1.5 ميكرومتر وطولها حوالي 1.5 – 2.5 ميكرومتر، وقد تظهر علي هيئة خلايا كروية بطول 1.0 – 1.5 ميكرومتر وقطرها 0.6–0.8 ميكرومتر وذلك خلال طور السكون وتعطي نتيجة موجبة عند إجراء اختبار الكاتالاز ونتيجة سالبة لاختبار الأوكسيداز وهي متحركة بحركة مرتعشة ولها القدرة على النمو في درجات حرارة مختلفة.



مستعمرات *أسينيتوباكتر* نامية على MacConkey agar

تواجدها في البيئة:

تعيش هذه البكتيريا بصفة مترممة وتواجدها شائع في البيئة حيث يمكن عزلها من مصادر مختلفة مثل التربة ومياه البحار والمياه العذبة ومياه الصرف الصحي وكذلك

الأغذية الملوثة وغالباً مايتم عزلها من حبيبات الكربون النشط والمرشحات الرملية كما تتواجد في الغشاء الحيوي وفي نقاط استهلاك المياه مما يدل على دورها الهام في نقل الأمراض عند استعمال المياه الملوثة وتتواجد هذه البكتيريا في المياه الجوفية بأعداد كبيرة حيث تتواجد بحوالي عدد 8 وحدة تكوين المستعمرات في كل 100 مليلتر وبعض الدراسات التي أجريت أظهرت أنها تشكل حوالي 54% من إجمالي المستعمرات البكتيرية المعزولة عند استعمال طريقة عد الطبق لعينات المياه الجوفية كما يتم عزلها بصورة كبيرة من مياه الشرب وأظهرت العديد من الدراسات التي أجريت على مياه شبكات التوزيع وجود هذه المستعمرات البكتيرية بنسبة تتجاوز 5% من إجمالي المستعمرات المعزولة وتبين من خلال بعض الدراسات قدرة هذه البكتيريا على مقاومة الكلور والكلورامين وكذلك ثاني أكسيد الكلور مع التأكيد بأنه لا ينصح باستعمالها كمؤشر على تلوث المياه.

طرق الكشف عنها:

من الممكن عزل هذه المستعمرات البكتيرية باستعمال الأوساط الغذائية التقليدية دون أي إضافات خاصة ويُمكن استعمال الوسط الغذائي Eosin-Methylene Blue Agar لعزلها من البيئات المائية ولضمان عزلها يتم اضافة 20 مليلتر من Acetate-mineral medium لـــ 5 مليلتر من عينة الماء مع توفير ظروف هوائية أثناء التحضين عند درجة حرارة 30 درجة مئوية أو في درجة حرارة الغرفة ويكون الشكل الظاهري للمستعمرات البكتيرية عند تنميتها على الوسط الغذائي الأجار المغذي ملساء وقد تظهر لزجة الشكل وذات لون يتراوح من أصفر باهت إلى الأبيض الرمادي بقطر حوالي 1 – 2 مليمتر.

الدراسات الوبائية:

في إحدى الدراسات تم رصد العديد من الإصابات في أقسام مختلفة من المستشفيات كأقسام جراحة الأعصاب والحروق وحجرات العناية الفائقة كما أظهرت بعض الدراسات الدور الهام لمنظومات تكييف الهواء ومنظومات توفير الرطوبة في نشر

الإصابات داخل الأقسام المختلفة في المستشفيات ولم يتم تسجيل إصابات بهذه الجراثيم البكتيرية عند استعمال المياه المعالجة.

تعتمد الاختبارات الدورية لمراقبة جودة المياه على تحديد وجود مجموعة من الجراثيم البكتيرية للدلالة على احتمالية وجود الجراثيم الممرضة وتُعرف بالجراثيم الدالة Indicator microorganisms وكان العالم موسيل Mossel قد أطلق عليها هذا الاسم في سنة 1978 وفي سنة 1991 تبنى العالم وايت Waite هذا التعريف ومن الجدير بالذكر أنه قد تتواجد هذه الجراثيم في غياب الجراثيم الممرضة والعكس كذلك صحيح، بمعنى آخر ليس هناك علاقة قوية مباشرة تربط تواجد عدة أنواع من الجراثيم الدالة ووجود البكتيريا المعوية الممرضة ولتوضيح مفهوم مصطلح مجموعة البكتيريا الدالة تم تقسيمها كالتالي:

الجراثيم الدالة العامة General (process) microbial indicators

وهي مجموعة من الجراثيم تدل على كفاءة عملية ما كاستعمال اختبار العدد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية ووجود البكتيريا القولونية الكلية لتحديد كفاءة عملية المعالجة باستعمال الكلور.

الجراثيم الغائطية الدالة Faecal indicators

وهي مجموعة من الجراثيم تدل على وجود تلوث غائطي كوجود البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة (*إيشيريشيا كولاي*) حيث أن وجودها ينبه إلى احتمالية تواجد الجراثيم الممرضة.

الجراثيم المرجعية النموذجية Index organisms and model organisms

وهي عبارة عن مجموعة من الجراثيم الدالة على وجود البكتيريا الممرضة حيث أن وجود البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* قد يؤشر على وجود البكتيريا *سالمونيلا* ووجود مايعرف باللاقمات الفيروسية F-RNA coliphages يُعبر عن وجود الفيروسات المعوية.

بصورة عامة ليس هناك كائن دقيق محدد يمكن استعماله كدليل قاطع على وجود تلوث، ويمكن استعمال مجموعة من الجراثيم تحمل صفات مختلفة كاستعمال البكتيريا *إنتيروكوكاي* بدلاً من البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* لتقييم جودة مياه الترفيه.

مواصفات البكتيريا المؤشرة والدالة على التلوث

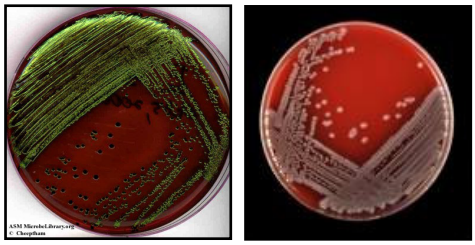
- لاتتواجد في المياه غير الملوثة وتتواجد حالما يظهر مصدر التلوث.
- لاتتواجد في البيئة بشكل طبيعي.
- تتواجد بأعداد أكثر من أعداد البكتيريا الممرضة.
- تتأثر بالظروف البيئية وعمليات المعالجة بنفس الكيفية التي تتأثر بها البكتيريا الممرضة.
- سهلة العزل والتعريف وكذلك العد.
- اختبار تحديد وجودها يجب أن يكون غير مكلف من الناحية المادية.
- لاتكون بكتيريا ممرضة تجنباً لإصابة القائمين على التحليل للإصابة العرضية.

وفيما يلي أهم الجراثيم التي تستعمل في اختبارات التحليل الجرثومي:

1- *إيشيريشيا كولاي*

اليمين: الوسط الغذائي ***Blood agar***

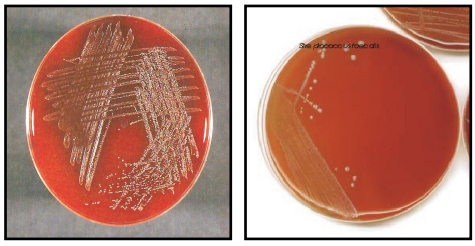
اليسار: الوسط الغذائي ***EMB***

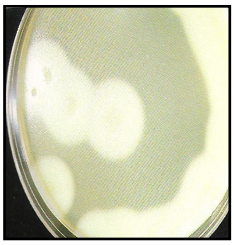


2- *ستريبتوكوكس فائيكاليس*

اليمين: الوسط الغذائي ***Blood agar***

اليسار: الوسط الغذائي ***Blood agar***





3- *كلوستريديوم بيرفرينجنز*

اليمين: الوسط الغذائي ***Egg yolk agar***

اليسار: الوسط الغذائي ***Blood agar***

تتواجد هذه البكتيريا بأعداد كبيرة في الفضلات الآدمية والحيوانية وهي في حد ذاتها ليست ممرضة فيما عدا بعض أنواع البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* ووجودها دليل على تلوث المياه بالفضلات الآدمية أو الحيوانية مما يدل على احتمالية وجود الجراثيم الممرضة وفي ذات الوقت عدم وجودها دليلاً غير كاف على خلو المياه من البكتيريا الممرضة كما يجب عدم الاكتفاء بتحديد وجود هذه البكتيريا بل من المفيد جداً عدُّهَا فكلما زاد العدد زادت احتمالية الإصابة ودلَّ ذلك على أن التلوث حديث ووجب اتخاذ الإحتياطات الفورية اللازمة كما يجب عدم الاكتراث لوجود عدد قليل من البكتيريا في المياه غير المعالجة بالكلور حيث أنها قد تكون من مصدر حيواني وغير ممرضة.

الجائحات الناتجة من استهلاك المياه الملوثة

أغلب الجائحات التي حدثت في العالم لم يتم توثيقها، وتُعتبر أمريكا وبريطانيا من أكثر الدول توثيقاً لحالات الأوبئة، حيث يتم إصدار التقارير الدورية التي توضح الجائحات الناتجة من جراء استهلاك المياه الملوثة.

عدد الجائحات التي حدتث في أمريكا خلال سنة (1991 – 1998)

الكائن الدقيق المسبب	عدد الجائحات التي تم توثيقها	عدد الحالات التي أصيبت
البكتيريا *كامبيلوباكتير*	443	8
الإلتهاب المعوي مجهول الكائن المسبب	81	2
Enterohaemorrhagic *E. coli*	14	1
البكتيريا *كامبيلوباكتير* والطفيل *كريبتوسبوريديوم*	43	1
الإجمالي	**581**	**12**

عدد الجائحات التي حدتث في بريطانيا خلال سنة (1991 – 2000)

الكائن الدقيق المسبب	عدد الجائحات التي تم توثيقها	عدد الحالات التي أصيبت
الإلتهاب المعوي مجهول الكائن المسبب	48	14829
البكتيريا كامبيلوباكتير	3	223
Salmonella typhimurium	1	625
Non-O1 *Vibrio cholerae*	1	11
E. coli O157	5	199
Shigella sonnei	7	572
Shigella flexneri	1	33
Plesiomonas shigelloides	1	60
الإجمالي	**67**	**16552**

البكتيريا المؤشرة على وجود التلوث

- مجموعة البكتيريا القولونية The coliform group

بدأ التعرف على وجود بعض أنواعها في الفضلات الآدمية سنة 1880 بواسطة العالم Von Fritsch إلا أن استخدامها في تقييم جودة المياه تم بواسطة العالم Percy والعالم Grace Frankland وذلك سنة 1885 في مدينة لندن كما تم التعرف في تلك السنة على البكتيريا *Bacillus coli* والتي تغير اسمها فيما بعد (سنة 1919) وأصبحت تعرف بالبكتيريا *ايشيريشيا كولاي*، وتتألف هذه المجموعة من أجناس بكتيرية ذات صفات مشتركة لها القدرة على النمو في درجة حرارة 37 درجة مئوية كما تضم أيضاً البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة والتي لها القدرة على النمو في درجة حرارة 44 درجة مئوية وهي متمثلة في الجنس البكتيري *ايشيريشيا كولاي* الذي يعتبر غائطي المصدر وإن تواجد أي جنس من أجناس البكتيريا القولونية في المياه المعالجة يتطلب اتخاذ الإجراءات الوقائية والتصحيحية السريعة ومعرفة مصدر هذه الجراثيم حيث أن وجودها دليل جيد على عدم كفاءة عملية المعالجة وبالتالي احتمالية احتواء المياه المعالجة على الجراثيم الممرضة.

- البكتيريا القولونية الكلية (Total coliforms)

يُطلق هذا المصطلح على مجموعة كبيرة من البكتيريا العصوية السالبة لصبغة غرام وغير مكونة للأبواغ ونظراً لإحتوائها على إنزيم بيتا جالاكتوسايداز (β–galactosidase) فهي لها القدرة على تخمير سكر اللاكتوز في درجة حرارة تتراوح مابين 35 – 37 درجة مئوية منتجة حمض وغاز في خلال 24 – 48 ساعة وتضم هذه المجموعة الأجناس البكتيرية التالية:

* *ايشيريشيا* * *سيتروباكتير* * *انتيروباكتر* * *كليبسيللا*

ونظراً لتواجد أجناس من هذه المجموعة البكتيرية كفلورا طبيعية في البيئات المختلفة فإن تحديد تواجدها في المياه المعالجة مع غياب الجراثيم البكتيرية الدالة على

تلوث المياه بالمخلفات الآدمية والحيوانية يعتبر أمراً مسموحاً به على أن لايتجاوز ذلك نسبة 5% من إجمالي العينات التي أخذت من نفس المصدر وهي مؤشر جيد على تحديد كفاءة عملية المعالجة ومن مميزات هذه المجموعة البكتيرية سهولة الكشف عنها واختبارات الكشف عنها غير مكلفة من الناحية المادية.

- البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة (البكتيريا القولونية الغائطية)

Thermotolerant coliforms (fecal coliforms)

كان المتخصصين في التحليل الجرثومي للمياه يُطلقون مصطلح مجموعة البكتيريا القولونية الغائطية على هذه المجموعة البكتيرية إلا أن هذا المصطلح غير صحيح، ويُعتبر مصطلح البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة هو المصطلح الأنسب، وتتصف هذه المجموعة البكتيرية بقدرتها على تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج حمض وغاز عند تنميتها في درجة حرارة 44 أو 44.5 درجة مئوية ويمثلها الجنس البكتيري *ايشيريشيا* وبصورة أقل تواجداً بعض أنواع الجنس البكتيري *كليبسيللا* والجنس البكتيري *سيتروباكتير* والجنس البكتيري *انتيروباكتر*، ويُعتبر الجنس البكتيري *ايشيريشيا كولاي* الوحيد من مصدر غائطي (حيث تتواجد بتركيز 10^9/غرام من الغائط الآدمي) ومن النادر إن لم ينعدم تواجدها في البيئات المائية أو التربة، ويجب الأخذ في الاعتبار تواجد بعض أجناس البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة (عدا الجنس البكتيري *ايشيريشيا كولاي*) في البيئات الغنية بالمواد العضوية مثل مياه تصريف المنشآت الصناعية أو المياه المحتوية على النباتات المتحللة وبالتالي فإن ذلك لايدل على تلوث المياه بالمخلفات الآدمية أو الحيوانية إلا أن وجودها في المياه المعالجة دليل على عدم كفاءة عملية المعالجة.

يُعتبر تحديد وجود هذه المجموعة في المياه أفضل دليل على تلوث هذه المياه بالمخلفات الآدمية ويُنصح باستعمال هذه المجموعة البكتيرية في الاختبارات الدورية لمراقبة جودة المياه كما أن عدم وجودها لايدل بصورة قطعية على عدم وجود الجراثيم الممرضة في عينة المياه، ومن مميزات هذه المجموعة البكتيرية سهولة الكشف عليها. هناك عدة طرق معتمدة عالمياً تستعمل للكشف عنها على سبيل المثال (: ISO 9308-1

ISO 9308-2) وهذه الاختبارات يمكن إجراؤها في أي معمل يحتوي على الأجهزة الأساسية للتحليل الجرثومي للمياه كما أن اختبارات الكشف عنها غير مكلفة من الناحية المادية.

– مجموعة البكتيريا *إنتيروكوكاي* والبكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية

Enterococci and fecal *Streptococci*

وهي عبارة عن مجموعة من البكتيريا موجبة لصبغة غرام كروية الشكل تتواجد على هيئة سلاسل وتتواجد بصورة دائمة في المخلفات الآدمية والحيوانية وتحتوي على مستضدات Lancefield المجموعة D وهناك أجناس بكتيرية تقع ضمن هذه المجموعة البكتيرية الغائطية قادرة على النمو في وجود كلوريد الصوديوم والوسط القلوي وتُصنف تحت الجنس *إنتيروكوكس Enterococcus* وهي غالباً ما تكون من مصدر غائطي آدمي من هنا فإن وجود هذا النوع من الجراثيم البكتيرية في المياه دليل على تلوثها بمياه الصرف الصحي. وتمتاز هذه البكتيريا بقدرتها على مقاومة الظروف غير الملائمة والجفاف وقدرتها على مقاومة تأثير الكلور أكثر من مجموعة البكتيريا القولونية والبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة. من هنا فإنه من المفيد الكشف عن وجود هذه البكتيريا في غياب وجود مجموعة البكتيريا القولونية والبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة، وهذا قد يحدث عندما يكون مصدر التلوث بعيداً (مسافة وزمناً) عن نقطة أخذ العينة كما يدل تواجد هذه المجموعة البكتيرية على عدم كفاءة عملية المعالجة المُتَبَعَة ويُنصح بضرورة إجراء اختبارات الكشف عن هذه البكتيريا عند الانتهاء من أعمال صيانة شبكات توزيع المياه وكذلك عند اضافة خطوط جديدة لشبكة توزيع المياه أو عند الشك في تلوث المياه، وهناك مجموعة متنوعة من الأوساط الغذائية تستعمل لتنمية هذه المجموعة البكتيرية معملياً وهي على سبيل المثال: الوسط الغذائي Azide dextrose broth الذي يحتوي على Sodium azide أو الوسط الغذائي m-*Enterococcus* agar أو الوسط الغذائي Bile aesculin agar ويتم تنميتها في درجة حرارة تتراوح ما بين 37 و 44 درجة مئوية لينتج عن ذلك استهلاك للصبغة الموجودة في الوسط الغذائي (والتي غالباً ماتكون مركبات تحتوي على

Tetrazolium) أو ينتج عن ذلك تحلل الأسكولين Aesculin. في بعض الأحيان قد تعطي الاختبارات الدورية المُتبعة في الكشف عن التلوث نتيجة مُضلِلة من هنا فإنه من الضروري البحث عن اختبارات إضافية أكثر دقة. أغلب أنواع البكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية قادرة على النمو في درجة حرارة 45 درجة مئوية وفي وجود 6.5% كلوريد الصوديوم وعند معدل الأس الهيدروجيني 9.6 – 10 تعتبر من الجنس *إنتيروكوكس* وهي كذلك قادرة على النمو في درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة وقادرة على اختزال 0.1% من الميثيلين الأزرق وتعتبر البكتيريا *إنتيروكوكاي* من أهم أنواع البكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية التي لها القدرة على النمو في الظروف سالفة الذكر كما أنها قادرة على إحلال المركب 4-methlumbelliferyl-β-D-glucoside في وجود اسيتات الثاليوم (thallium acetate) و nalidixic acid و 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride الذي يُختزل إلى (Red formazan).

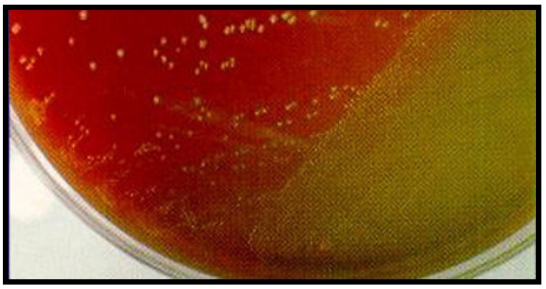
صفات البكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية

- تتواجد بأعداد كبيرة في الفضلات الآدمية وفضلات الحيوانات ذوات الدم الحار.
- تتواجد في مياه الصرف الصحي والمياه الملوثة.
- لاتُعد من الفلورة الطبيعية للمياه أوالبيئة.
- لايمكنها أن تتضاعف عددياً في البيئة.

نسبة تواجد البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة بالنسبة للبكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية:

إذا كان نسبة تواجد البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة بالنسبة للبكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية 4 أو أكثر فذلك دليل كافٍ على تلوث المياه بالفضلات الآدمية، أما إذا كانت النسبة تساوي 2 أو أقل فإن ذلك دليل على التلوث بالفضلات الحيوانية، مع العلم بأن هناك عدة عوامل تؤثر على استعمال هذه الطريقة في تحديد مصدر التلوث منها أن

مجموعة البكتيريا القولونية ليس لها القدرة على البقاء لفترة طويلة في البيئة وكذلك عدم وجود الوسط الغذائي الذي بإمكانه تحديد العدد بدقة، من هنا يمكن استعمال هذه الطريقة لتقييم التلوث الحديث المنشأ فقط.



مستعمرات البكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية النامية على طبق آجار الدم

– البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز* والكلوستريديا المختزلة للكبريت

Clostridium perfringens and Sulphite- reducing clostridia

تتصف البكتيريا الكلوستريديا المختزلة للكبريت بأنها بكتيريا لاهوائية إجبارياً ومكونة للأبواغ ويتواجد الجنس *كلوستريديوم بيرفرينجنز* في حوالي 13 – 35% من الفضلات الآدمية مع العلم بأنها تتواجد بعدد أقل من عدد البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* وغالباً ماتتواجد هذه البكتيريا في فضلات الحيوانات ذوات الدم الحار وقد تتواجد الأنواع الأخرى من البكتيريا *كلوستريديا* في بيئات مختلفة مثل التربة أو الأنابيب الصدئة.

من المعلوم أن ابواغ هذه البكتيريا لها القدرة على البقاء لفترات زمنية طويلة جداً كما أنها قادرة على مقاومة تأثير المُطهرات التي تُستعمل لتطهير المياه، ولاتعتبر هذه البكتيريا مؤشراً كافياً على وجود التلوث حيث أن تحديد وجودها قد يستمر حتى بعد انقضاء زمن طويل من حدوث التلوث (بمعنى آخر، المياه خالية من التلوث الجرثومي) أو قد يكون التلوث في مكان بعيد عن نقطة أخذ العينة وهذا نلاحظه عند الكشف عن وجود هذه البكتيريا في المياه الجوفية مع عدم الكشف عن وجود كلاً من البكتيريا *إيشيريشيا*

كولاي والبكتيريا *ستربيتوكوكس* ويدل وجود البكتيريا *كلوستريديا* على عدم كفاءة عملية المعالجة.

يُعتبر وجود البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* والبكتيريا *إنتيروكوكاي* في المياه الدافئة دليلاً على وجود التلوث الغائطي بينما في مياه المناطق الاستوائية* فإن البكتيريا القولونية والبكتيريا *إنتيروكوكاي* لهما القدرة على النمو كفلورة طبيعية في هذه المياه بالتالي فإنه يمكن استعمال البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز* كدليل على التلوث الغائطي.

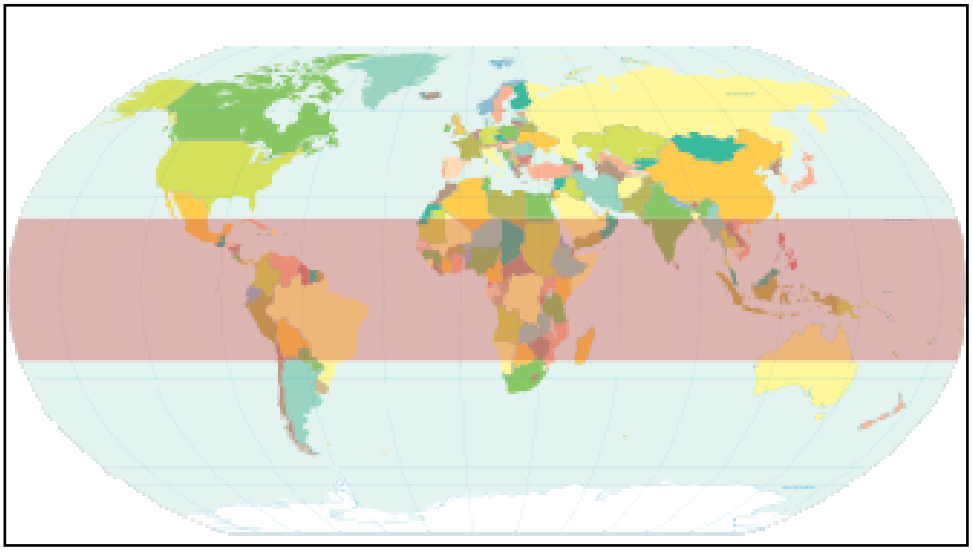
الرموز القياسية العالمية لاختبارات الكشف عن البكتيريا

البكتيريا المراد عزلها	رمز الاختبار	البكتيريا المراد عزلها	رمز الاختبار
البكتيريا القولونية، البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة والبكتيريا *ايشيريشيا كولاي*	**[ISO 9308-1]**	البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*	**[ISO 8360-1]**
البكتيريا القولونية، البكتيريا القولونية المقاومة للحرارة والبكتيريا *ايشيريشيا كولاي*	**[ISO 9308-2]**	البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*	**[ISO 8360-2]**
إنتيروكوكاي الغائطية	**[ISO 7899-1]**	البكتيريا *ليجيونيلا*	**ISO 11731-1**
إنتيروكوكاي الغائطية	**[ISO 7899-2]**	البكتيريا *ليجيونيلا*	**(ISO\DIS 11731-2)**
أبواغ البكتيريا المختزلة للكبريت	**[ISO 6461-1]**	البكتيريا *سالمونيلا*	**[ISO 6430]**
أبواغ البكتيريا المختزلة للكبريت	**[ISO 6461-1]**	البكتيريا غير ذاتية التغذية	**ISO 6222**

جدول يوضح بعض الأمراض التي قد تنتقل عن طريق تناول المياه الملوثة

الكائن الدقيق الممرض		المرض الذي يسببه
البكتيريا	بعض أنواع البكتيريا *ايشيريشيا كولاي*	الإلتهاب المعوي
	بعض أجناس البكتيريا *ليبتوسبيرا*	داء ليبتوسبيرا
	سالمونيللا تايفي	حمى التيفود
	بعض أجناس البكتيريا *سالمونيللا*	داء سالمونيللا
	بعض أجناس البكتيريا *شيجيللا*	الزحار العصوي
	فيبريو كوليرا	الكوليرا
البروتوزوا	*بالانتيديوم كولاي*	داء بالانتيديوم
	كريبتوسبوريديوم بارفوم	داء كريبتوسبوريديوم
	إنتاأميبا هيستوليتيكا	الزحار الأميبي
	جيارديا لامبليا	داء جيارديا
الديدان	*أسكاريس لامبريكويدس*	داء أسكاريس
	تائينيا سوليوم	داء تائينيا
	ترايكوريس ترايكيورا	داء ترايكوريس
الفيروسات	72 نوع من الفيروسات المعوية	التهاب السحايا والإلتهاب المعوي
	فيروس التهاب الكبد الوبائي	التهاب الكبد الوبائي
	عامل نورواك	الالتهاب المعوي
	روتافيروس	الالتهاب المعوي

* تعرف المناطق الاستوائية بأنها المنطقة الجغرافية الواقعة مابين مدار السرطان شـــمالاً عند خط 23°26' (23.4°) ومدار الجدي جنوباً عند خط 23°26' (23.4°) كما هو موضح في الخريطة وهي غالباً ماتكون شديدة الحرارة .



خريطة جغرافية توضح المناطق الإستوائية (المنطقة المضللة باللون الأحمر)

أعدّت منظمة الصحة العالمية دلائل لوصف نوعية المياه الملائمة للشرب (الماء الشروب) في كل الظروف وحيث أن الماء ضروري للبقاء على قيد الحياة فلابد من توفيره حتى ولو لم تكن نوعيته مقبولة تماماً وقد يُؤدِّى اختيار معايير بالغة الصرامة إلى الحد من توفير المياه التي تطابق هذه المعايير وهذا أمر يجب مراعاته بصفة خاصة في المناطق التي تعانى من نقص المياه بيد أنه يجب أن لايُسمح للرغبة في التيسير بأن تهدد صحة المستهلكين.

إن احتمال التلوث الجرثومي وعواقبه الكامِنة هي من الخطورة بحيث يجب أن تكون لمكافحته الأهمية القصوى فعلى سبيل المثال، قد يرفِض المستهلك مياه الشرب عالية الجودة من الناحية الجرثومية إذا كانت مرتفعة الملوحة وذلك لرداءة طعمها ويُفضِل عليها المياه التي يستطيبها أكثر ولو كانت مرفوضة من الناحية الجرثومية، كذلك هناك اختلافات واسعة بين مختلف المناطق والبلدان في بعض العوامل مثل كمية المياه المستهلكة يوميا.

مفهوم المستهلك عن جودة مياه الشرب

يعتمد المستهلك عند تقييمه لنوعية مياه الشرب على حواسه الخاصة فقد تؤثر مقومات الماء على مظهره الخارجي أو رائحته أو طعمه، والمستهلك يُقيم مدى جودة الماء أساساً على هذه المعايير. فهو يعتبر الماء الشديد العكر، الواضح اللون، الكريه الطعم، ماءاً خطراً ويرفض استهلاكه. إلا أن عليه أن لايعتمد كلياً على حواسه في الحكم على مدى جودة المياه، فعدم وجود أية آثار محسوسة مُنَفِرة لايضمن سلامة الماء للشرب. وإن الغاية من دلائل جودة مياه الشرب هي حماية الصحة العامة وبالتالي التخلص من مقومات الماء المعروفة بخطورتها على صحة المجتمع أو التقليل منها إلى أدنى حد.

الأولويات المتعلقة بجودة المياه

للنوعية الجرثومية لمياه الشرب أهمية قُصوى ولايجوز التساهل بقبول حل وسط لمجرد توفير ماء مستطاب ومقبول من الناحية الجمالية.

طبيعة القيمة الدليلة

أ- تمثل القيمة الدليلة مستوى (تركيزاً أو رقماً) لمقوِّم يكفل وجود ماء مستطاب جمالياً ولا ينتج عنه أي خطر على صحة المستهلك.

ب- إن الماء الجيد كما تحدده دلائل جودة مياه الشرب هو أن يكون مناسباً للاستهلاك البشرى، ولكل الأغراض المنزلية المعتادة بما في ذلك النظافة الشخصية.

جـ - إذا زاد معدل قيمة دليلة معينة فيجب أن يعتبر هذا دافعاً إلى:

1- تحرِّي السبب بهدف اتخاذ الإجراء الإصلاحي والوقائي.

2 - استشارة السلطات المسؤولة عن الصحة العامة لإبداء المشورة.

د- رغم أن القيمة الدليلة تصف جودة المياه المقبولة للاستهلاك مدى الحياة، فإن ذلك لايعنى ضِمناً أن من الجائز أن تتدنى نوعية المياه إلى المستوى الموصى به، بل يجب بذل الجهود المستمرة للحفاظ على جودة مياه الشرب عند أعلى مستوى ممكن.

هـ- تم حساب القيمة الدليلة المذكورة لحماية الصحة على أساس الاستهلاك مدى الحياة. وقد يمكن السماح بالتعريض مدة قصيرة لمستويات أعلى من المقومات ولكن يجب أن تُقيَّم كل حالة على حدة.

و- إن الارتفاع عن القيمة الدليلة لأمد قصير لايعنى بالضرورة أن الماء غير صالح للاستعمال.

وعند حدوث تجاوز لقيمة دليلة ما، فإنه يوصى باستشارة الهيئات التي تقوم بالتحري حتى تشير بالتصرف المناسب مع مراعاة مدخول المادة المعينة من موارد أخرى خلاف مياه الشرب واحتمالات الآثار المُؤذية، وإمكانية اتخاذ التدابير الإصلاحية والوقائية، وما إلى ذلك من عوامل.

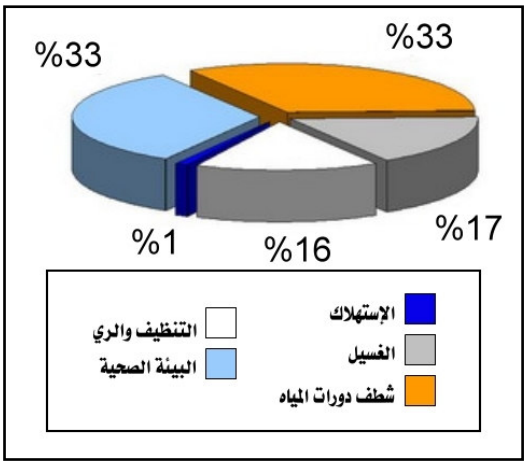
ز- عند إعداد معايير وطنية لمياه الشرب على أساس هذه الدلائل، يجب أن تُؤخذ في الاعتبار مجموعة متنوعة من الظروف المحلية الجغرافية والاجتماعية والاقتصادية والغذائية والصناعية التي قد تؤدِّي إلى وضع معايير وطنية تختلف بدرجة ملموسة عن القيم الدليلة.

أولويات الرصد

يجب أن يكون إنشاء مختبرات فحص مياه الشرب أمراً له الأولوية العليا بين مهام السلطات المسؤولة عن توفير مياه الشرب المأمونة، ونظراً لأن مياه الشرب يمكن أن تَنْقل عدداً من الأمراض المعدية الخطيرة فإن مستوى النوعية الجرثومية للماء أمرُ بالغ الأهمية ويجب إعطاء مراقبة الجراثيم المؤشرة مثل البكتيريا المقاومة للحرارة والبكتيريا القولونية الأولوية القصوى.

تعريف المياه الصالحة للشرب Potable water

حسب تعريف منظمة الصحة العالمية فهو الماء الصالح للاستهلاك الآدمي والاستعمال الحضري مُتضمناً النظافة الشخصية وإعداد الطعام ويجب أن يكون بمواصفات تسمح باستهلاكه مدى الحياة. وبعبارة أبسط فهو الماء عديم الطعم وعديم اللون وعديم الرائحة والخالي من الملوثات الجرثومية والكيميائية والإشعاعية الضارة.



نوعية ونسب استهلاك المياه

تعريف المياه غير الصالحة للشرب Non-potable Water

وهي المياه غير الصالحة لاستهلاك الآدمي والاستعمال الحضري فهي لا تتوفر فيها المواصفات الخاصة بالمياه الصالحة للشرب فقد تحتوي على جراثيم ضارة بالصحة أو معلقات أو كيماويات أو مواد مشعة.

تعريف المياه الملوثة Polluted Water

وهي المياه الملوثة بالمواد الضارة، كالجراثيم الممرضة والكيماويات والمواد الإشعاعية لذلك فهي غير صالحة للشرب لأنها قد تعرض صحة الإنسان للخطر كما قد تسبب أضراراً كبيرة للحيوان والأحياء المائية وتلوث التربة أيضاً.

تعريف مياه الصرف الصحى Sewage Water

وهي المياه الملوثة بمخلفات المنازل والمزارع والمصانع وتسمى مخلفات الصرف الصحى وهى شديدة الخطورة لإحتوائها على الجراثيم الممرضة والكيماويات الخطرة وما إلى ذلك من المواد السامة التي تهدد الصحة العامة.

الأعتيان (Water sampling)

الهدف من عمليات التقصي هو تقييم جودة مصادر إمدادات المياه ونقاط الاستهلاك فيجب أن يتم الأعتيان من هذين المصدرين وإن أي اختلاف في نوعية المياه في هاتين النقطتين يفيد في كيفية تطبيق عمليات المعالجة ويجب أن تؤخذ العينات من نقاط تمثل نوعية مصدر المياه ومحطات معالجة المياه وأماكن تخزين المياه وشبكة توزيع المياه وكذلك نقاط استهلاك المياه، وبالتالي فإن اختيار نقاط الأعتيان تختلف حسب الظروف المتاحة ويجب أن تتصف نقاط الأعتيان بتمثيلها لنوعية المصادر المختلفة للمياه قبل وصولها للمستهلك ويُمكّن الأعتيان العشوائي زيادة احتمالية رصد التلوث إلا أنها لا تفيد في رصد التغيرات التي قد تحدث بمرور الوقت ويجب أن يتم وضع نظام رصد عبر نقاط أعتيان ثابتة.

يتم استعمال قنينات زجاجية قابلة للتعقيم ذات سعة لاتقل عن 200 مليلتر ويجب أن تكون محكمة الإغلاق وأن تغطى السدادة بورق ألمونيوم أو ورق مقوى على سبيل المثال لمنع تلوثها من الخارج كما يجب عدم فتح القنينة بعد تعقيمها إلاّ عند أخذ العينة، وفي حال التعامل مع مياه معالجة بالكلور يجب اضافة 0.1 – 0.2 مليلتر من محلول ثيوسلفات الصوديوم ليُبطل مفعول التأثير الضار للكلور على البكتيريا المتواجدة في العينة.

يجب تجنب حدوث التلوث العرضي الناتج من عدم الحرص على اتباع الطرق العلمية السليمة عند الأعتيان والذي سيؤدِّى إلى الحصول على نتائج غير مفيدة ولتجنب حدوث تغير في المحتوى البكتيري أثناء النقل يجب أن تُحفظ العينة في حافظة باردة مُظلِمة تحتوي على مكعبات ثلج وذلك لضمان سرعة توفير ظروف مناسبة بحيث تكون درجة الحرارة ما بين 4– 8 درجات مئوية مع تجنب تجميدها وفي حال عدم وجود الثلج يجب أن تصل العينة إلى المعمل في خلال ساعتين فقط. كما يجب إجراء التحليل اللازم للعينة بأسرع ما يمكن بحيث لاتزيد الفترة ما بين الأعتيان وإجراء التحليل على 6 ساعات وكحد أقصى 24 ساعة وإذا لم يكن بالإمكان تطبيق الشروط العلمية لوصول العينة إلى

المعمل عندها يجب التخلص من العينة وعدم التعامل معها، كما يجب تنظيف حافظة نقل العينات قبل عملية الأعتيان التالية تجنباً لاحتمالية تلوث العينات الجديدة.

صورة حافظة تجميع العينات وألواح التبريد

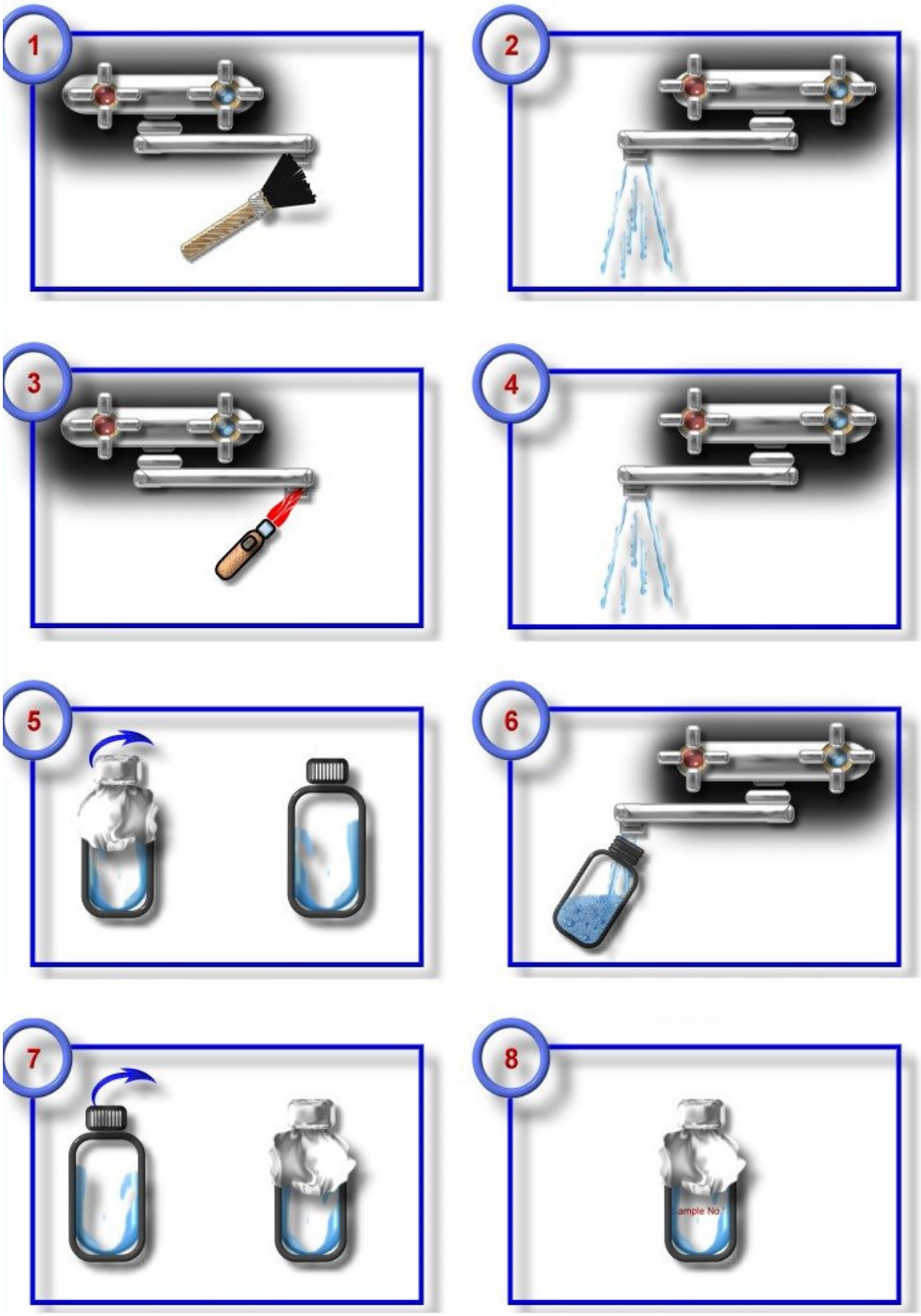
تختلف مصادر تجميع العينات حسب نوعية نقاط التجميع، وذلك كما هو موضح في النقاط التالية:

1- الأعتيان من صنبور أو فوهة مضخة

- نظف الصنبور وأفصل أي أجزاء ملحقة به.
- أدر الصنبور إلى أقصاه وأترك الماء يتدفق لمدة دقيقة أو دقيقتين.
- عقّم فوهة الصنبور لمدة دقيقة باستخدام لهب.
- أدِر مفتاح الصنبور وأترك الماء يتدفق لمدة دقيقة أو دقيقتين بمعدل تدفق معتدل لتبريد الفوهة.
- أنزع ورق الألمونيوم من على السدادة ثم أفتح القنينة.
- بينما أنت ممسك بغطاء القنينة والغطاء الواقي متجهين لأسفل (وذلك لمنع دخول الغبار الذي قد يكون ملوثاً) ضع القنينة فوراً تحت الماء المتدفق وأملأها مع مراعاة ترك حيز من الهواء لتتمكن من رجها قبل البدء في التحليل.

- ضع السدادة في القنينة، وغطها بورق الألمونيوم.

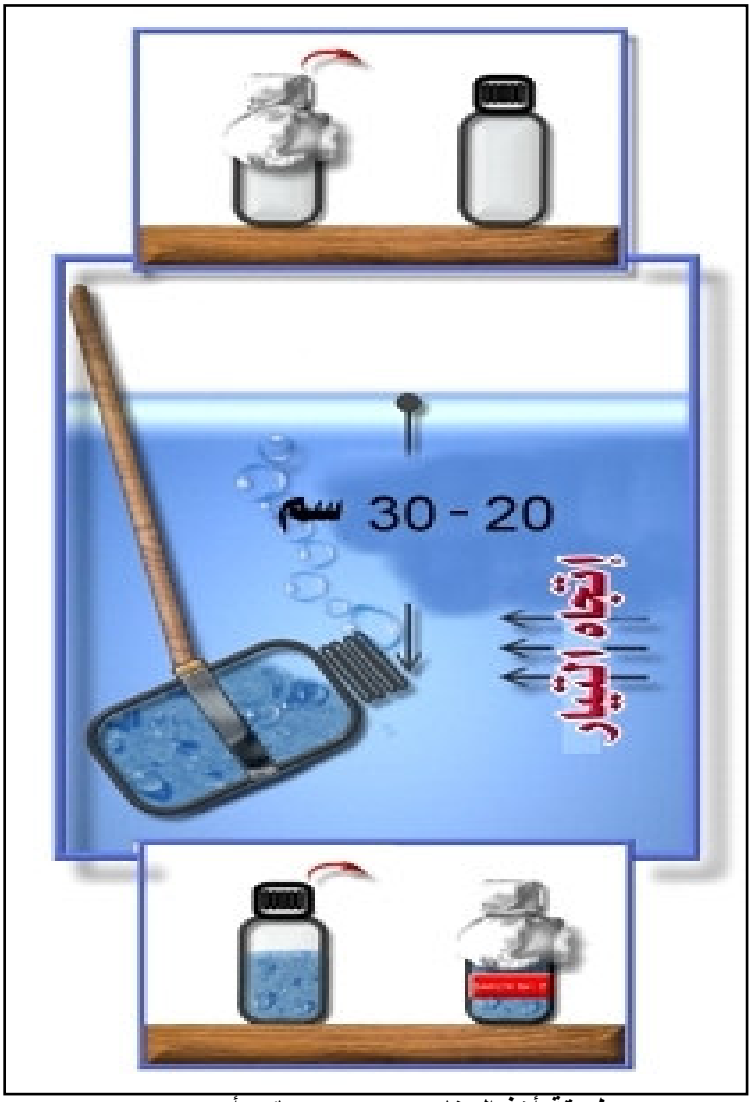
- رقّم العينة وأرسلها إلى المعمل بأسرع ما يمكن مع التأكد من حفظها جيداً أثناء النقل.



طريقة أخذ العينات من الصنبور

2- الأعتيان من مجرى مائي أو صهريج

- أمسك القنينة من جزئها السفلى واغمرها في الماء بوضع مائل إلى عمق يتراوح مابين 20 – 30 سم تقريباً موجِّهاً فتحتها قليلاً لأعلى، وفي حالة وجود تيار تُوَجَه فتحة القنينة مقابل التيار، وبعد أن تمتليء القنينة تُسد وتغطى ويتم نقلها حسب الطريقة المنصوص عليها.



طريقة أخذ العينات من مجرى مائي أو صهريج

3- الأعتيان من آبار محفورة

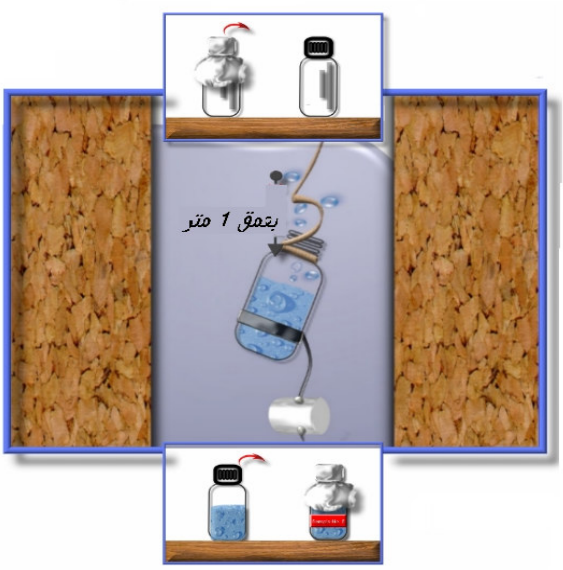
- أربط ثِــقلاً ذا حجم يناسب حجم القنينة بواسطة حبل بطول مناسب ثم افتح القنينة.

- دلِّ القنينة وهي مُثقلة بالحجر وأنزلها ببطء ولاتدع القنينة تلامس جوانب البئر.

- اغمر القنينة كلها في الماء وأنزلها إلى قاع البئر ما أمكن ذلك.

- عند امتلاء القنينة لف الحبل حول العصا لسحب القنينة ولاتترك القنينة ممتلئة تماماً وقم بسكب قليلٍ من الماء لتترك حيزاً للهواء.

- سد القنينة و غطها بورق ألمونيوم وأرسلها إلى المختبر بأسرع مايمكن.



طريقة أخذ العينات من الآبار المحفورة

المعلومات الواجب توافرها مع العينة المأخوذة

- الرقم الرمزي للعينة.
- دواعي التحليل (ما إذا كانت عينة للتحليل الروتيني أو لغرض آخر).
- مصدر العينة (بئر، عين، صنبور،.....إلخ).
- نوعية معالجة المصدر (ترشيح، كلورة،.....إلخ).
- حدد عمق البئر، هل هو مغطى جيداً وتاريخ إنشاءه.
- إذا كانت العينة مأخوذة من عين، حدد ما إذا كانت العينة مأخوذة من العين مباشرة أو من نقطة تجميع.
- إذا كانت العينة مأخوذة من مجرى مائي أو نهر حدد العمق الذي أُخذت منه العينة وما إذا كانت قد أخذت من وسط أو طرف المجرى ومعدل منسوب الماء (ما إذا كان طبيعياً أم لا) وهل هناك فيضان أو أمطار غزيرة.
- إذا كانت العينة مأخوذة من بحيرة أو صهريج حدد المكان بدقة وكذلك العمق الذي أُخِذت منه.
- حدد درجة حرارة المصدر المائي.
- حدد أي مصدر محتمل للتلوث في المنطقة، والمسافة التي تبعده عن نقطة الأعتيان.
- تاريخ ووقت تجميع العينة وإرسالها.
- حدد ما إذا كانت هناك حالات إصابة يُعتقد أنها ناتجة من استهلاك المياه (كوجود حالات اسهال).

التاريخ : / / الرقم الرمزي .....

تاريخ تجميع العينة : / / 2008

ساعة التجميع : .....

جمعت بمعرفة : .....

سبب التحليل : تحليل دوري ☐ غير ذلك ☐

مصدر العينة : بئر ☐ صنبور ☐ غير ذلك ☐

طريقة حفر البئر : حفر يدوي ☐ حفر آلي ☐

عمق البئر : ☐

تاريخ حفر البئر : / /

طريقة المعالجة : كلورة ☐ غير معالجة ☐ غير ذلك ☐

وجود مصدر تلوث قريب : نعم ☐ لا ☐

المسافة بينه وبين نقطة تجميع العينة ☐

ملاحظات أخرى :

.....

.....

.....

.....

.....

.....

نموذج للبيانات المرفقة مع العينة

نموذج افتراضي لتدوين نتائج التحليل المعملي وتوثيقها

الرقم التسلسلي للعينة	تاريخ إجراء التحليل	نقطة تجميع العينة	اختبار العد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية لكل 1 ملليلتر من العينة	العدد الأكثر إحتمالاً للبكتيريا القولونية في كل 100 ملليلتر من العينة	العدد الأكثر إحتمالاً للبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة في كل 100 ملليلتر من العينة	البكتيريا *يشيريشيا كولاي*	تركيز الكلور الحر المتبقي بالمليغرام لكل لتر	درجة العكارة	معدل الأس الهيدروجيني
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									

توقيع فني التحليل ..... **توقيع مشرف المعمل .....**

الضوابط التي تحدد عدد مرات الأعتيان

عدد مرات الأعتيان يحددها مدى توفر المصدر وكلما زاد عدد العينات المُختبرة زادت فرصة الكشف والحد من انتشار الكائن الملوث للمياه وهناك نقطتان يجب أن تُؤخذ بعين الاعتبار وهما:

أولاً: تحديد التلوث بصورة منتظمة وليست عشوائية إذا ما أخذت العينات في أوقات مختلفة من اليوم وفي أيام مختلفة من الأسبوع.

ثانياً: الاختبار المتكرر باتباع طريقة بسيطة سيُعطى نتيجة أفضل من اتباع طريقة معقدة أو سلسلة من الاختبارات.

إن معدل الأعتيان من مصدر المياه الخام يعتمد على نوعية المياه وحجم المصدر وتختلف احتمالية التلوث باختلاف فصول السنة وأن معدل أخذ العينات بالنسبة للمياه المعالجة يعتمد على جودة مصدر المياه ونوعية المعالجة وأقل مايمكن هو أخذ عينة من مصدر المياه الجوفية لكل أسبوعين وعينة واحدة من مصدر المياه السطحية لكل أسبوع. ويزيد معدّل الأعتيان مع إزدياد عدد المستهلكين للماء وذلك لتجنب احتمالية إصابة عدد كبير من المستهلكين وكذلك تعقد شبكة التوزيع.

معدّل الأعتيان لمياه الشرب من شبكة التوزيع

يجب أخذ العينات في فترات عشوائية من الشهر ومن أماكن محددة، مثل محطات الضخ والخزانات المتواجدة على طول شبكة التوزيع وكذلك من الصنابير الموجودة على الخط الرئيسي الناقل للمياه إلى المنازل والمجمعات السكنية الكبيرة كالفنادق حيث هناك احتمالية إصابة عدد كبير من الأشخاص في حال حدوث تلوث الذي قد ينتج من كثرة الوصلات المتقاطعة والتدفق الإرتدادي والفيضانات وعمليات الصيانة للشبكة الرئيسية أما بالنسبة للشبكة التي تغذّى المجمعات السكنية الصغيرة فإن التحليل المتكرر في أوقات محددة سيعطى نتائج جيدة.

ليست هناك توصيات محددة لإمدادات المياه غير المنقولة بالأنابيب وغير المعالجة حيث أن احتمالية التلوث تختلف باختلاف فصول السنة وتغير الظروف المحيطة وعند أخذ العينات من مصدر معالج يجب أن يقاس تركيز المطهر المتبقي وكذلك معدل الأس الهيدروجيني أثناء الأعتيان.

معدل الأعتيان من شبكة التوزيع إعتماداً على عدد المستهلكين

عدد المستهلكين	عدد العينات شهرياً
أقل من 5000	عينة واحدة
5000 - 100 000	عينة واحدة لكل 5000 نسمة
أكثر من 100 000	عينة واحدة لكل 10000 نسمة بالاضافة إلى 10 عينات إضافية.

معدل الأعتيان من أنابيب شبكة التوزيع، مصادر الماء غير المعالج قبل التوزيع وكذلك الماء المكلور قبل التوزيع تكون كالتالي:

مياه أنابيب التوزيع

مما لا شك فيه أن جودة المياه ستتأثر في شبكة التوزيع كنتيجة طبيعية لتآكل الأنابيب الذي سيسمح للتربة الملوثة بالدخول للشبكة وكلّما زاد عدد المستهلكين للمياه زاد تعقيد الشبكة والذي بدوره سيزيد من احتمالية التلوث ومن هنا فإنه يجب أخذ عينة واحد على الأقل لكل 5000 نسمة شهرياً لتحليلها مع التركيز على أخذ عينات عشوائية بإستمرار.

الماء غير المعالج قبل دخوله شبكة التوزيع

حددت منظمة الصحة العالمية معدل الأعتيان لمراقبة جودة المياه حسب الجدول التالي:

معدل الأعتيان من نقطة قبل دخول شبكة التوزيع إعتماداً على عدد المستهلكين

عدد المستهلكين	الفترة الزمنية
أقل من 20 000	شهرياً
20 000 - 50 000	أسبوعين
50 000 - 100 000	4أيام

مصادر المياه المعالجة بالكلور

إمدادات المياه التي تُغذّى عدد كبير من المستهلكين بمايزيد عددهم على 100.000 نسمة يجب أن تتم مراقبة تركيز الكلور فيها وأن تؤخذ منها عينات يومياً للتحليل. أما إمدادات المياه التي تغذي عدد قليل من المستهلكين (أقل من 10.000 نسمة) فإنه من غير المفيد أخذ عينات أسبوعيه ويُنصح بمراقبة تركيز الكلور المتبقي على الأقل مرة واحدة يومياً.

اختيار الطريقة المناسبة للتحليل

هناك طريقتان أساسيتان لإجراء الاختبار هما طريقة الأنابيب المتعددة و طريقة الترشيح الغشائي ويعتمد اختيار الطريقة المناسبة للتحليل على عدة عوامل تحدد أي الاختبارات يمكن اعتمادها.

* المياه الخارجة من شبكة التوزيع

يجب أن تكون المياه الخارجة من شبكة التوزيع خالية من البكتيريا القولونية كما يجب أن لاتُعزل البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* من أي عينة مقدارها 100 مليلتر وأن لايتم

عزل أكثر من عدد ثلاثة من البكتيريا القولونية في عينة مقدارها 100 مليلتر ويجب أن لايتم عزل البكتيريا القولونية من عينتين متتاليتين مقدارهما 100 مليلتر من نفس النقطة التي أُخِذت منها العينة ويجب أن لاتتواجد البكتيريا القولونية في أكثر من 5% من إجمالي 50 عينه تم تحليلها في فترات محددة من السنة، وعند الكشف عن أي بكتيريا قولونية في عينة المياه فإنَّه يجب التأكد من كفاءة عملية الكلورة وأخذ عينة أخرى للتحليل من نفس المصدر للتأكد من صحة النتائج وتحديد مصدر التلوث وعندها يجب أن يتم أخذ عينات إضافية لفترة محدودة كما يجب أن يتم مراجعة النتائج بشكل دوري لمعرفة مدى مطابقة المياه للمواصفات وصلاحيتها للشرب.

*** مياه المصادر غير المزودة بأنابيب**

في المناطق التي يتعذر فيها توفير المياه للمستهلكين عبر أنابيب آمنة أو مصادر محمية فقد يتم استعمال مصادر قد تكون غير آمنه مثل الآبار المفتوحة والبحيرات مع الأخذ في الاعتبار حمايتها من التلوث الغائطي وتعتبر المياه صالحة للشرب إذا ماإحتوت هذه النوعية من المياه على أقل من 10 مستعمرات من البكتيريا القولونية في 100 مليلتر من عينة المياه. مع العلم بأن أغلب مصادر المياه غير المعالجة تحتوي على بكتيريا غائطية الجدول التالي يصنف المياه غير المعالجة حسب المحتوى الجرثومي.

مزايا طريقة الأنابيب المتعددة وطريقة الترشيح الغشائي

العامل المحدد	طريقة الأنابيب المتعددة	* طريقة الترشيح الغشائي
التكلفة المالية	تحتاج لكميات كبيرة من الأوساط الغذائية، الأدوات الزجاجية وجهاز تعقيم كبير نسبياً.	تحتاج لكمية قليلة من الأوساط الغذائية والأدوات الزجاجية، ولكن تكلفة غشاء الترشيح عالية.
دقة النتائج	غير دقيق نسبياً	أكثر دقة
سهولة التطبيق و سرعة النتائج	تحتاج إلى ما لا يقل عن 48 ساعة للتعريف الافتراضي للبكتيريا *ايشيريشيا كولاي* ثم يليها إجراء اختبارات كيموحيوية للتأكد منها ومراجعة جدول الاحتمالات لعدِّها. ولا تحتاج لأجهزة متخصصة، كما أنها لا تحتاج لمهارات خاصة للعاملين ولا يمكن تطبيقه حقلياً.	تحتاج فقط ما بين 12– 18 ساعة لتعريف البكتيريا *ايشيريشيا كولاي*. ولا تحتاج لجدول الاحتمالات لعدِّها كما يمكن تطبيقه حقلياً.

* إذا كان بالإمكان إجراء الاختبارات معملياً فإن طريقة الترشيح الغشائي هي الأفضل.

تصنيف المياه المعالجة حسب المحتوى الجرثومي

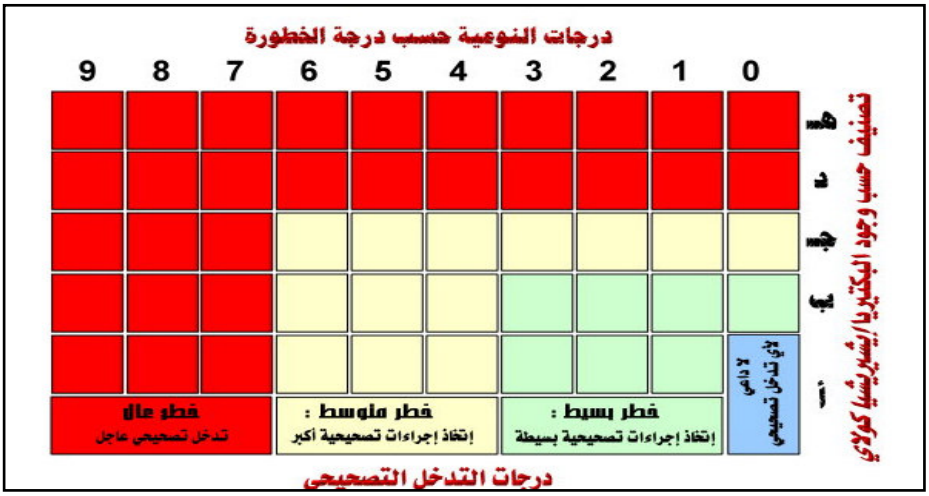
جودة المصدر	نتائج التحاليل الدورية		المسموح بها
	إيشيريشيا كولاي/ 100 مليلتر	البكتيريا القولونية / 100 مليلتر	
1- ممتازة	0	0	في جميع العينات
2- جيدة	0	3 - 1	على أن لاتعزل البكتيريا القولونية من عينات متتالية أو من أكثر من 5% من إجمالي العينات.
3- متوسطة	0	9 - 4	
4- رديئة	عدد 10 بكتيريا قولونية أو أكثر، *إيشيريشيا كولاي* أو أي بكتيريا قولونية متواجدة في عينات متتالية. أو وجود أي بكتيريا قولونية في أكثر من 5% من العينات التي يتم تحليلها.		

تصنيف المياه غير المعالجة حسب المحتوى الجرثومي

جودة المصدر	التصنيف	متوسط عدد البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* / 100 مليلتر عند 44 درجة مئوية
ممتازة	أ	0
مقبولة: ولكن المطلوب مراقبة جيدة	ب	10 – 1
غير مقبولة: تأكد من كفاءة المضخات وما إلى ذلك من معدات ثم قم بعملية التطهير للمعدات ومصدر الماء.	جـ	50 – 10
تلوث عالي: حاول البحث عن مصدر بديل، وقم بتطهير المصدر	د	أكثر من 50

* يتم اتباع هذا التصنيف إذا ما توافرت بيانات المسح الدوري كالحصول على نتائج لـ 5– 10 أسابيع.

يمكن الاعتماد على البيانات المتحصل عليها من التحليل المعملي والتفتيش الصحي في إتخاذ الإجراءات اللازمة للتدخل التصحيحي وتصنيف أولويات التدخل وذلك حسب درجة الخطورة حفاظاً على الصحة العامة ومنعاً لتفشي الوباء. كما يمكن استعمال التدرج اللوني لتقييم إمدادات المياه في الأماكن التي يتم فيها إجراء التحاليل الدورية بمعدلات متدنية مما يسمح بالإعتماد على نتائج التحاليل المتحصل عليها بالاضافة إلى نتائج التفتيش الصحي للتعرف على مسببات التلوث الخطيرة مما يتيح إمكانية اتخاذ الإجراءات التصحيحية المناسبة.



جدول لتحديد درجة الخطورة بناءاً على النوعية الجرثومية ونتائج التفتيش الصحي

معاني الرموز

الدرجة	المدلول
أ	مياه صالحة للاستهلاك الآدمي وليس هناك ضرورة لأي تدخل تصحيحي.
ب	مياه صالحة للاستهلاك الآدمي وقد تسبب بعض المخاطر بنسبة بسيطة.
جـ	مياه صالحة للاستهلاك الآدمي وقد تحتوي على بعض الملوثات الجرثومية.
د	نسبة الخطورة قد تكون غير مقبولة. ويجب اتخاذ الإجراءات التصحيحية العاجلة.
هـ	نسبة الخطورة غير مقبولة. ويجب اتخاذ أقصى الإجراءات التصحيحية.

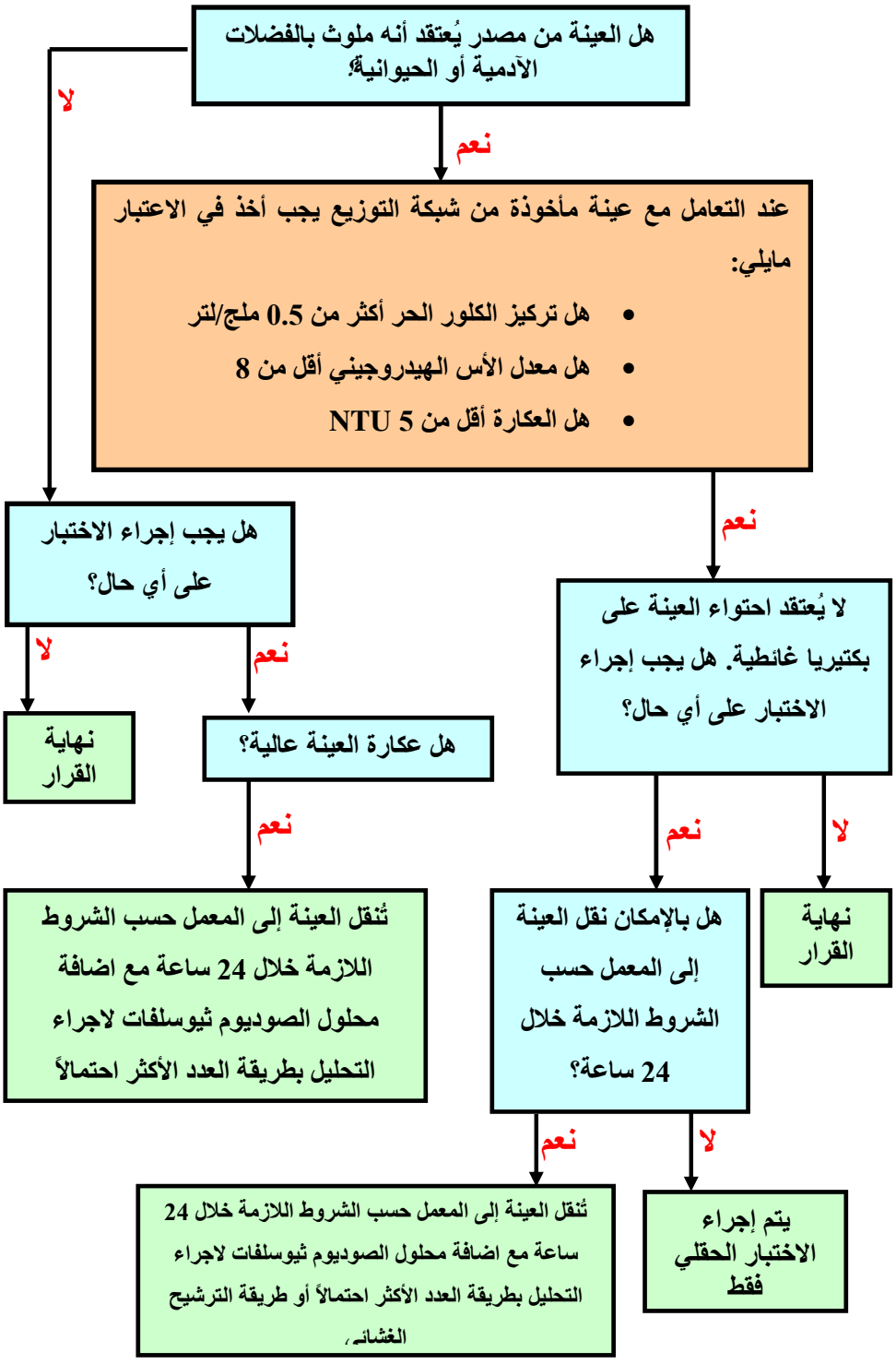
الكشف عن البكتيريا الدالّة على التلوث وكيفية عدّها

من المتوقع أن يكون عدد البكتيريا في المياه المعالجة قليلاً فيتم تحليل كمية كبيرة من المياه بغية إعطاء الفرصة للكشف عن أكثر عدد من هذه البكتيريا وهناك عدة طرق للكشف على هذه البكتيريا مثل اختبار الأنابيب المتعددة Multiple Tube Test واختبار الترشيح الغشائي Membrane filtration test واختبار وجود/عدم وجود Presence/Absence test (P/A test).

يعتمد اتخاذ القرار المناسب لإختيار نوعية الاختبار الذي يجب اتباعه على عدة اعتبارات وقد يكون من اللازم إجراء التحليل بغض النظر عن أي اعتبارات فنية. كما أنه لايُنصح بإجراء الاختبارات الروتينية إذا ماإحتوت المياه على تركيز الكلور الحر يصل إلى حوالي 0.5 مليغرام / لتر ودرجة العكارة حوالي 1 NTU ومعدل الأس الهيدروجيني أقل من 8 حيث أن هذه الظروف كفيلة بضمان خلو المياه من الملوثات الجرثومية ويكون تسلسل إتخاذ القرار المناسب كما في الشكل المرفق.

اختبار وجود/عدم وجود: (Presence/Absence test (P/A test

هذا الاختبار بسيط ويستعمل لفحص المياه ذات الجودة العالية حيث يُعتقد خلوها من البكتريا الدالة أو البكتريا المؤشرة للتلوث وهذه الطريقة تم تطبيقها بواسطة العالم كلارك Clark سنة 1968 ويفيد هذا الاختبار في تحديد مدى خلو المياه من المستعمرات القولونية كما يُستعمل عند الحاجة لتحليل عدد كبير من العينات، إلا أن هذا الاختبار غير مفيد لتحليل المياه التي يُحتمل أن تكون ملوثة بشكل كبير كالمياه السطحية والمياه غير المعالجة.



خطوات اتخاذ قرار اختيار الاختبار المناسب

ومن أهم هذه الطرق وأكثرها استعمالا : طريقة الأنابيب المتعددة وطريقة الترشيح الغشائي.

طريقة الانابيب المتعددة
(طريقة العدد الاكثر احتمالاً)

في بداية سنة 1914 تم استعمال هذه الطريقة لتقييم جودة مصادر المياه المختلفة، وتعتمد فكرة هذا الاختبار على أن لاتظهر أكثر من أنبوبة اختبار واحدة نتيجة موجبة من أصل 5 أنابيب اختبار تحتوي على مقدار 10 مل من العينة وكانت هذه الطريقة تعرف بطريقة أنابيب التخمر المتعددة وأصبحت تعرف فيما بعد بطريقة العدد الأكثر احتمالاً وهي طريقة سهلة التطبيق إلا أنها تستغرق وقتاً طويلاً للحصول على النتيجة النهائية ومن عيوبها أيضاً أن الأوساط الغذائية المستعملة قد تؤثر على دقة النتائج. تنقسم هذه الطريقة إلى ثلاث خطوات تبدأ بإجراء الاختبار الافتراضي ثم الاختبار التأكيدي وانتهاءاً بالاختبار التكميلي وتعتمد هذه الطريقة على تغير لون الوسط الغذائي السائل في وجود البكتيريا القولونية أو البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* وذلك نتيجة لتغير معدل الأس الهيدروجيني في وجود الكاشف الذي يدل على تكون الحمض نتيجة تخمر سكر اللاكتوز ووجود أنبوبة دورهام المقلوبة التي ستحتجز بدورها الغاز المتكون ليتم بعد ذلك مقارنة النتائج المتحصل عليها بالجدول الإحصائي ومعرفة العدد المحتمل للبكتيريا المتواجدة في العينة. ومن الأوساط الغذائية التي يمكن استعمالها على سبيل المثال الوسط الغذائي حساء الماكونكي الذي يحتوي على الكاشف Bromocresol Purple الذي سيغير لون الوسط الغذائي إلى الأصفر عند وجود البكتيريا القولونية أوالبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*. كما يمكن استعمال الوسط الغذائي حساء Lauryl Tryptose الذي سيظهر تكون الغاز مع عدم تغير اللون نتيجة لعدم وجود كاشف تغير الأس الهيدروجيني مما يتيح إمكانية اضافة كاشف الأندول لتعريف البكتيريا *إيشيريشيا كولاي*. ومن الأوساط الغذائية التي يُنصح باستعمالها الوسط الغذائي حساء Minerals Modified Glutamate والذي ثبت أنه يعطى نتائج أفضل للكشف على البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* من الأوساط الغذائية الأخرى سالفة الذكر ويعتمد

حجم العينة التي يتم حقنها في أنابيب الاختبار على نوعية المياه المراد تحليلها والتأكد من جودتها، كما يمكن استعمال الطريقة التي تحتوي على ثلاث أنابيب اختبار في كل مجموعة مع التأكيد على ضرورة مطابقة النتائج المتحصل عليها مع الجدول الخاص بذلك كما هو موضح في الجداول التالية:

جدول يوضح حجم العينة وذلك حسب نوعية المياه

نوعية العينة	حجم العينة (مليلتر)				
	50	10	1.0	0.1	0.01
مياه الشرب المعالجة	1	5			
مياه الشرب المعالجة جزئياً		5	5	5	
مياه الترفيه		5	5	5	
مصادر المياه المحمية		5	5	5	
المياه السطحية			5	5	5

جدول يوضح العدد الأكثر احتمالاً للمستعمرات البكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة باستعمال 3 أنابيب ذات حجم 10 ، 1 ، 0.1 مليلتر من العينة المراد تحليلها.

العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	3 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر	3 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	3 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر
أقل من 3	0	0	0
3	1	0	0
3	0	1	0
6.1	1	1	0
6.2	0	2	0
9.4	0	3	0
3.6	0	0	1
7.2	1	0	1
11	2	0	1
7.4	0	1	1
11	1	1	1
11	0	2	1
15	1	2	1
16	0	3	1
9.2	0	0	2
14	1	0	2
20	2	0	2
15	0	1	2
20	1	1	2
27	2	1	2
21	0	2	2
28	1	2	2
35	2	2	2
29	0	3	2
36	1	3	2

يتبع - جدول يوضح العدد الأكثر احتمالاً للمستعمرات البكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة باستعمال 3 أنابيب ذات حجم 10 ، 1 ، 0.1 مليلتر من العينة المراد تحليلها.

العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	3 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر	3 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	3 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر
23	0	0	3
38	1	0	3
64	2	0	3
43	0	1	3
75	1	1	3
120	2	1	3
160	3	1	3
93	0	2	3
150	1	2	3
210	2	2	3
290	3	2	3
240	0	3	3
460	1	3	3
1100	2	3	3
أكثر من1100	3	3	3

جدول يوضح العدد الأكثر احتمالاً للمستعمرات البكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة باستعمال مجموعتين ذات حجم 50 مليلتر، (5 أنابيب) 10 مليلتر من العينة المراد تحليلها.

عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		العدد الأكثر احتمالاً	95 % حدود الثقة	
1 x 50 مليلتر	5 x 10 مليلتر		الحد الأدنى	الحد الأقصى
0	0	أقل من 1		
0	1	1	0.5	4
0	2	2	0.5	6
0	3	4	0.5	11
0	4	5	1	13
0	5	7	2	17
1	0	2	0.5	6
1	1	3	0.5	9
1	2	6	1	15
1	3	9	2	21
1	4	16	4	40

- **الاختبار الافتراضي**

جهز عدد 10 أنابيب اختبار تحتوى على حجم 5 مليلتر من الوسط الغذائي أحادى التركيز وعدد 5 أنابيب اختبار تحتوى على حجم 10 مليلتر من الوسط الغذائي مضاعف التركيز مع إحتوائهم على أنابيب دورهام مقلوبة.

1- رج العينة جيداً لعدة مرات تم أنقل باستعمال الماصة الأحجام التالية: 10 مليلتر و 1.0 مليلتر و0.1 مليلتر إلى أنابيب الاختبار التي تحتوى على الوسط الغذائي وذلك حسب الترتيب التالي أنبوبة الاختبار التي تحتوى على 10 مليلتر من التركيز المضاعف، 5مليلتر من التركيز الأحادي و 5 مليلتر أخرى من التركيز الأحادي.

2- ضعهم في الحاضنة في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة من 24 إلى 48 ساعة في ظروف هوائية وذلك بعد التأكد من خلو أنابيب دورهام من فقاعات الهواء.

3- أفحص الأنابيب لمعرفة الأنابيب التي أعطت نتيجة موجبة من السالبة وعدّ هذه الأنابيب لمقارنتها بالجدول الإحصائي لتُعطى عدد البكتيريا القولونية المحتمل في كل 100 مليلتر من العينة أما الأنابيب التي لم تظهر أي تفاعل بعد 48 ساعة فهي تعتبر سالبة.

- **الاختبار التأكيدي**

بعض أجناس البكتيريا المكونة للأبواغ قد تُعطى نتيجة إيجابية مضلِلة عند إجراء الاختبار الافتراضي خاصة عند إجراء التحليل لعينة مياه معالجة بالكلور وعليه فإنه من الضروري التأكد من أن هذه البكتيريا هي البكتيريا القولونية وتحديد ما إذا كانت هي البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* وذلك بإجراء الاختبار الذي يعرف بإسم اختبار إيخمان (Eijkmam Test).

1- جهز أنابيب اختبار تحتوى على 5 – 10 مليلتر من الوسط الغذائي حساء Lauryl Tryptose أو الوسط الغذائي حساء Brilliant Green Lactose Bile Salt

تحتوى على أنبوبة دورهام مقلوبة. وأنابيب اختبار أخرى تحتوى على 5 – 10 مليلتر من ماء التريبتون.

2- قم بحضن هذه الأنابيب في الحمام المائي بدرجة حرارة 44 درجة مئوية وذلك قبل حقنها.

3- قم بحقن هذه الأنابيب بنقل قطرة من الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة في الاختبار الافتراضي و ضع أحد هذه الأنابيب في الحمام المائي بدرجة حرارة 37 درجة مئوية والأخرى عند درجة حرارة 44 درجة مئوية وضع الأنبوبة التي تحتوى على ماء التريبتون أيضاً في درجة حرارة 44 درجة مئوية وذلك بعد حقنها مع ضرورة التأكد من خلو أنابيب دورهام من فقاعات الهواء.

4- بعد 24 ساعة قم باضافة قطرة من كاشف الأندول إلى أنبوبة الاختبار التي تحتوى على ماء التريبتون ثم لاحظ تكون الحلقة الحمراء كنتيجة دالة على وجود البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* ولاحظ تكون الغاز وتغير اللون في بقية الأنابيب التي تم حضنها في درجة حرارة 44 درجة مئوية ثم قارن النتائج الموجبة والسالبة المتحصل عليها بالجدول الإحصائي لمعرفة عدد البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* في 100 مليلتر من العينة.

5- بعد 48 ساعة لاحظ تكون الغاز وتغير اللون في الأنابيب التي تم تحضينها في درجة حرارة 37 درجة مئوية.

قارن النتائج المتحصل عليها بالجدول الإحصائي لمعرفة عدد البكتيريا القولونية في 100 مليلتر من العينة.

الجدول التالي يوضح عدد البكتيريا المتواجدة في 100 مليلتر من العينة وذلك بناءاً على النتائج المتحصل عليها.

مثال

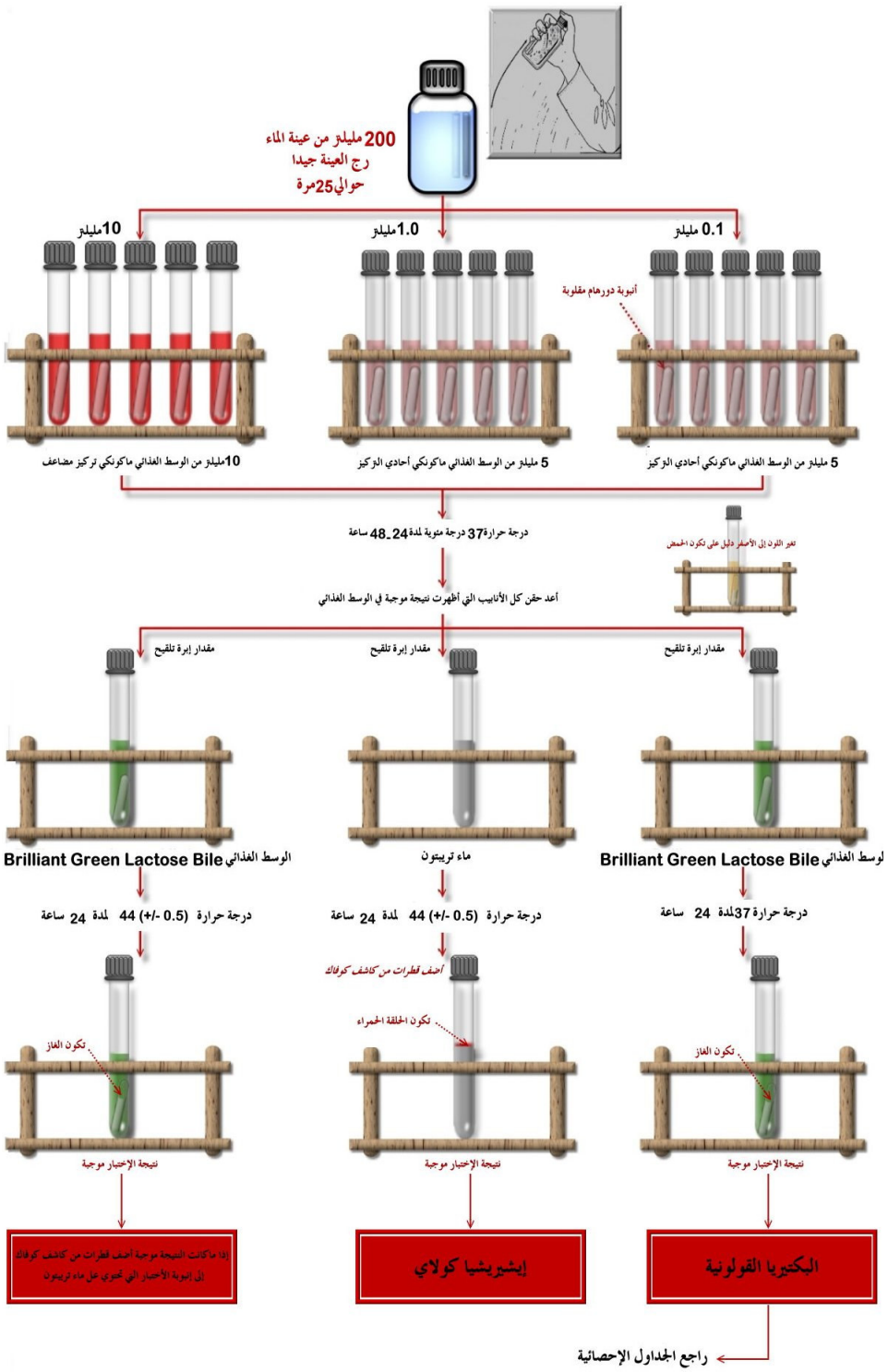
إذا كانت النتائج المتحصل عليها كالتالي:

- الأنابيب الخمسة التي تحتوى على 10 مليلتر من العينة كانت كلها موجبة.

- الأنابيب الخمسة التي تحتوى على 1 مليلتر من العينة كانت فيها أنبوبة واحدة موجبة.

- الأنابيب الخمسة التي تحتوى على 0.1 مليلتر من العينة كانت كلها سالبة.

النتيجة تكون (0 – 1 – 5). وبمراجعة الجدول الإحصائي نجد أنها تحتوى على 33 مستعمرة بكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة.



طريقة اختبار العدد الأكثر إحتمالاً

العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	5 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر
أقل من 1.8	0	0	0
1.8	1	0	0
1.8	0	1	0
3.6	1	1	0
3.7	0	2	0
5.5	1	2	0
5.6	0	3	0
2	0	0	1
4	1	0	1
6	2	0	1
4	0	1	1
6.1	1	1	1
8.1	2	1	1
6.1	0	2	1
8.2	1	2	1
8.3	0	3	1
10	1	3	1
11	0	4	1
4.5	0	0	2
6.8	1	0	2
9.1	2	0	2
6.8	0	1	2
9.2	1	1	2
12	2	1	2
9.3	0	2	2

جدول العدد الأكثر إحتمالاً لكل 100 مل باستعمال 0.1، 1.0 و 10 مليلتر من العينة

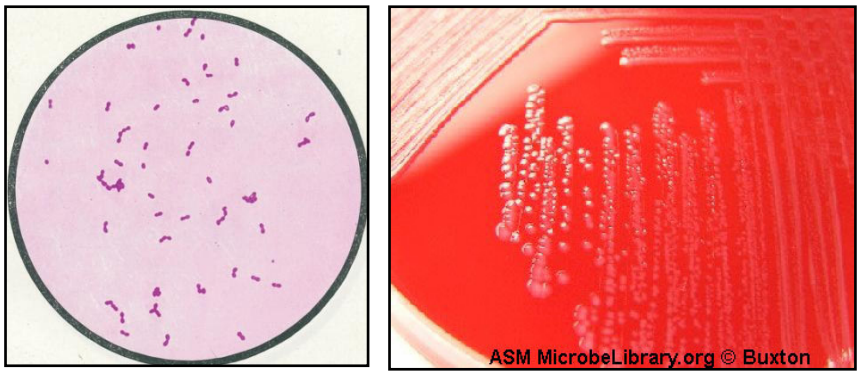
العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	5 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر
12	1	2	2
14	2	2	2
12	0	3	2
14	1	3	2
15	0	4	2
7.8	0	0	3
11	1	0	3
13	2	0	3
11	0	1	3
14	1	1	3
17	2	1	3
14	0	2	3
17	1	2	3
20	2	2	3
17	0	3	3
21	1	3	3
24	2	3	3
21	0	4	3
24	1	4	3
25	0	5	3
13	0	0	4
17	1	0	4
21	2	0	4
25	3	0	4
17	0	1	4

العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	5 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر
21	1	1	4
26	2	1	4
31	3	1	4
22	0	2	4
26	1	2	4
32	2	2	4
38	3	2	4
27	0	3	4
33	1	3	4
39	2	3	4
34	0	4	4
40	1	4	4
47	2	4	4
41	0	5	4
48	1	5	4
23	0	0	5
31	1	0	5
43	2	0	5
58	3	0	5
33	0	1	5
46	1	1	5
63	2	1	5
84	3	1	5
49	0	2	5
70	1	2	5

العدد الأكثر احتمالاً	عدد الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة أثناء الاختبار		
	5 أنابيب لحجم العينة 10 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 1.0 مليلتر	5 أنابيب لحجم العينة 0.1 مليلتر
94	2	2	5
120	3	2	5
150	4	2	5
79	0	3	5
110	1	3	5
140	2	3	5
180	3	3	5
210	4	3	5
130	0	4	5
170	1	4	5
220	2	4	5
280	3	4	5
350	4	4	5
430	5	4	5
240	0	5	5
350	1	5	5
540	2	5	5
920	3	5	5
1600	4	5	5
أكثر من 1600	5	5	5

عدّ البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية

إذا لم يكن بالإمكان الحصول على نتيجة مُرضية عند إجراء الاختبار الافتراضي والتأكيدي للبكتيريا القولونية كأن تكون نتيجة الاختبار الافتراضي موجبة ونتيجة الاختبار التأكيدي للبكتيريا *إيشيريشيا كولاي* سالبة فإن إجراء اختبار الكشف عن البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية سيُوفر دليل على أن مصدر التلوث مخلفات آدمية أو حيوانية.



ستربيتوكوكس فائيكاليس

1- ضع الأنابيب التي تحتوى على 5 مليلتر من الوسط الغذائي حساء (Glucose Azide) في حمام مائي عند درجة حرارة 44 – 45 درجة مئوية.

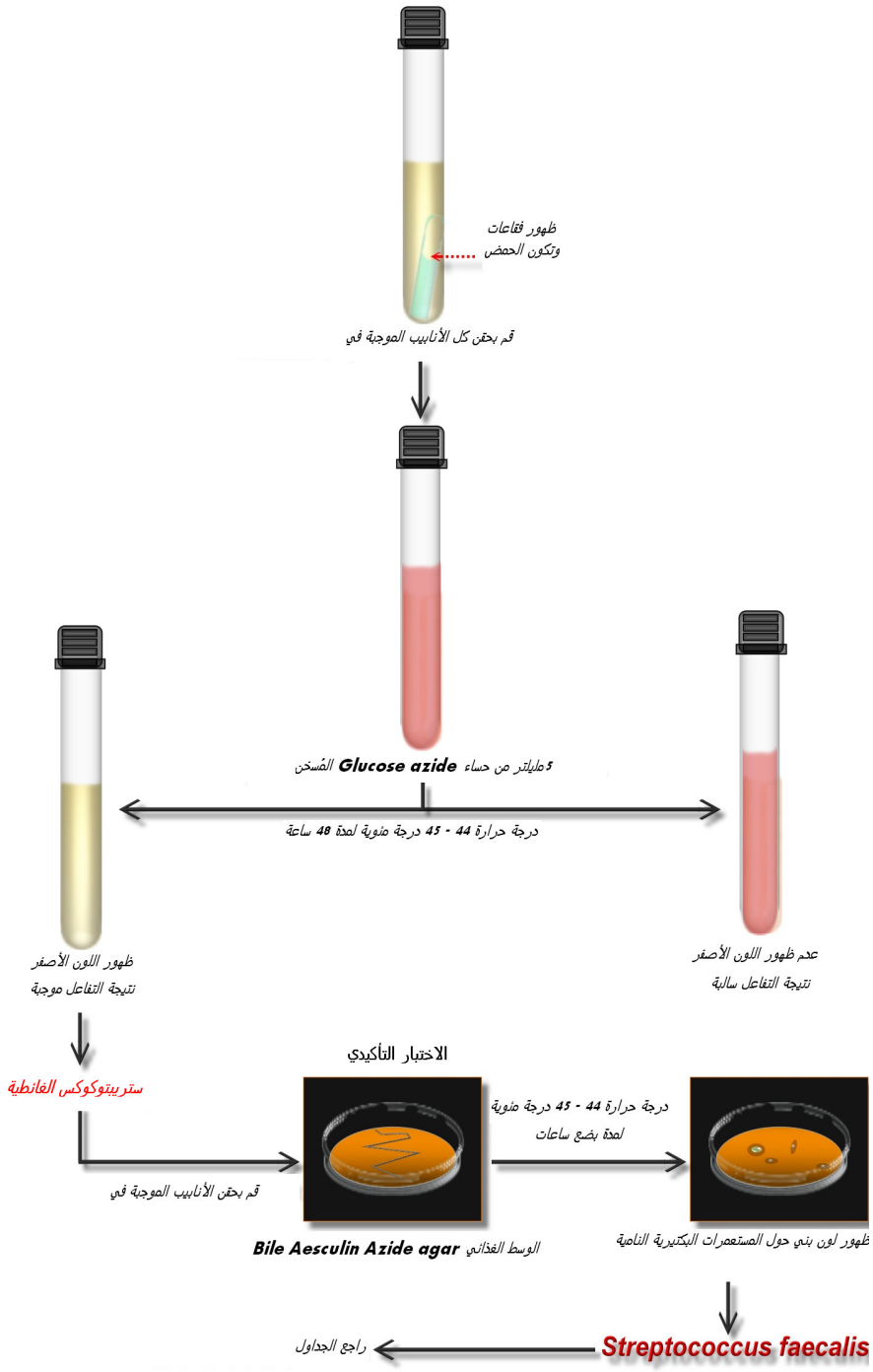
2- بعد تدفئة الأنابيب أحقنهم بكمية كبيرة من الأنابيب التي أظهرت نتيجة موجبة في الاختبار الافتراضي للبكتيريا القولونية ثم أعد حضانتهم في درجة حرارة 44 – 45 درجة مئوية.

3- بعد 48 ساعة لاحظ تغير اللون إلى الأصفر(أي تكون الحمض) في الأنابيب التي تحتوى على البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية.

4- العينات التي تغير لونها إلى الأصفر أعد زراعتها على الوسط الغذائي Bile Aesculin Azide Agar ليتم تحضينها في درجة حرارة 44 – 45 درجة مئوية لعدة ساعات للتأكد من أنها البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية.

5- لاحظ ظهور لون بنى غامق حول المستعمرات النامية الناتج من تحلل الـــ Aesculin مما يدل على وجود البكتيريا *ستربيتوكوكس فائيكاليس*.

6- راجع الجدول الإحصائي للحصول على عدد المستعمرات المتواجدة في 100 مليلتر من العينة.



طريقة عزل البكتيريا *ستربيتوكوكس فائيكاليس*

عدّ البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز*

تتواجد هذه البكتيريا عادةً في الأمعاء بأعداد أقل من أعداد البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* ولأبواغ هذه البكتيريا القدرة على البقاء في المياه لفترات أطول من خلايا البكتيريا الخضرية، ووجودها دليل على أن التلوث غير حديث المنشأ بحيث اختفت البكتيريا الخضرية التي كانت متواجدة نتيجة تأثرها بالظروف البيئية غير الملائمة أو نتيجة معالجة المياه.

كلوستريديوم بيرفرينجنز

1- سخِّن عينة المياه في درجة حرارة 75 درجة مئوية لمدة 10 دقائق للتخلص من البكتيريا الخضرية.

2- أضف 50 مليلتر من العينة بعد تسخينها إلى وعاء يحتوى على 50 مليلتر من التركيز المضاعف للوسط الغذائي Differential reinforced clostridial medium (DRCM) وأضف 10 مليلتر في كل وعاء من العينة المسخنة إلى 5 أوعية تحتوى كل منها على 10 مليلتر من الوسط الغذائي DRCM بتركيز مضاعف، وأضف 1 مليلتر في كل وعاء من العينة المسخَّنة إلى 5 أوعية تحتوى كل منها على 25 مليلتر من الوسط الغذائي DRCM بتركيز أحادى. وفي حال التعامل مع مياه يعتقد أنها ذات جودة رديئة يتم تخفيف العينة باضافة مقدار 1 مليلتر بتخفيف 1 في 10 وتخفيف 1 في 100 إلى وعاء

يحتوى على 25 مليلتر من التركيز الأحادي للوسط الغذائي DRCM مع التأكد من إحكام غلق الأنابيب ويجب مراعاة أن يكون الوعاء ممتلئاً بالكامل وإن استلزم الأمر يتم اضافة مقدار من الوسط الغذائي DRCM أحادى التركيز ليحل محل الهواء الموجود في الأوعية.

3- ضع الأوعية بعد التأكد من غلقها في كيس بلاستيكي أثناء وضعها في الحاضنة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة وذلك تجنباً لاحتمالية انفجارها.

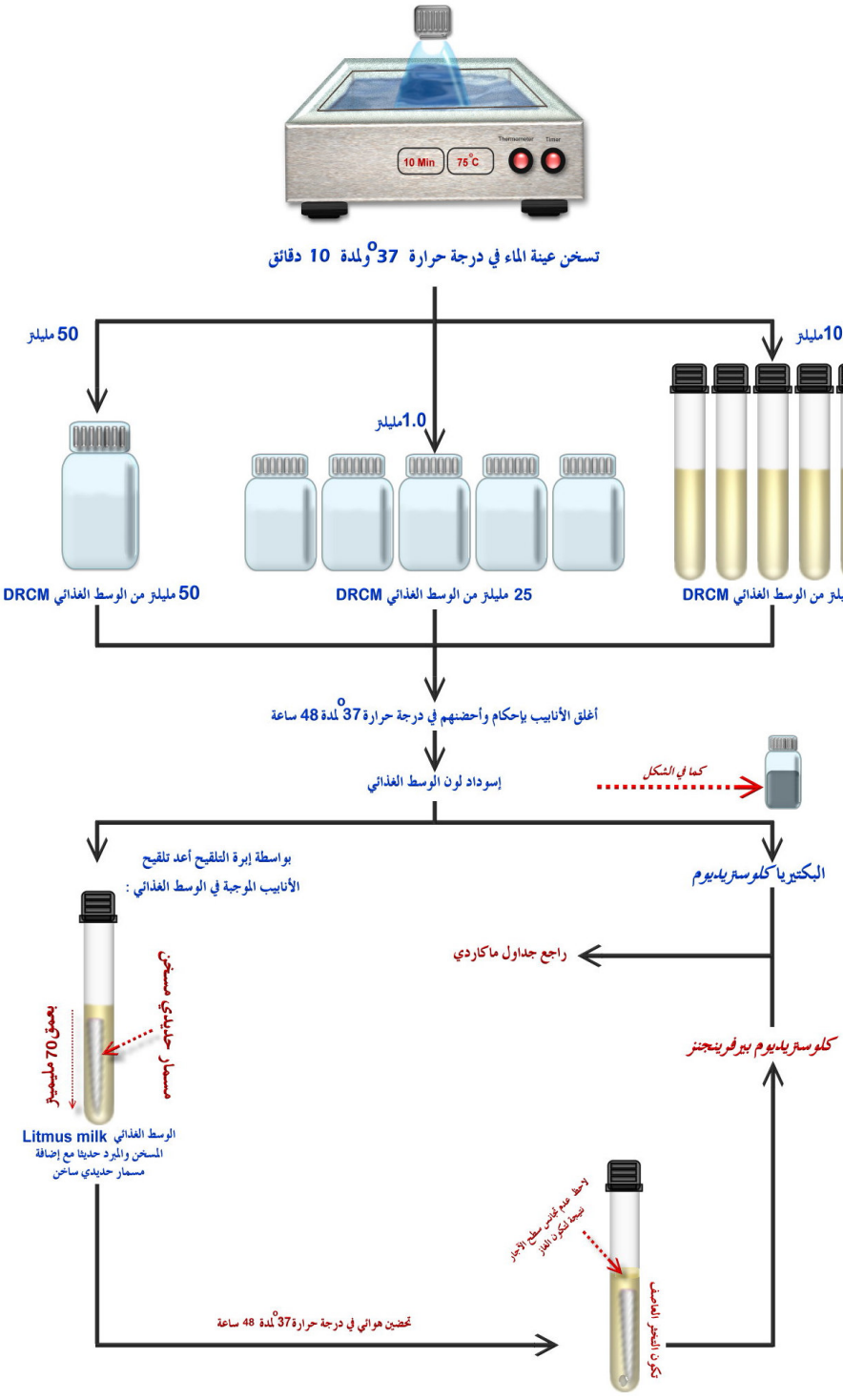
4- بعد انقضاء فترة الحضانة لاحظ تغير لون الوسط الغذائي إلى اللون الأسود والذي يدل على وجود البكتيريا *كلوستريديوم*.

5- راجع الجدول الإحصائي لمعرفة عدد المستعمرات البكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة.

6- وللتأكد من تعريف البكتيريا *كلوستريديوم* أعد زراعتها في الوسط الغذائي Litmus milk medium المُسخن حديثاً والمبرد مضافاً إليه قطعة من الحديد مسخنة لدرجة الأحمرار مباشرةً قبل إجراء الاختبار. كما يجب أن لايقل عمق الوسط الغذائي في الأنبوبة عن 70 مم ويتم تحضينها في ظروف هوائية عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة.

7- بعد 48 ساعة لاحظ تكون ما يعرف بالتخثر العاصف (Stormy Clot) الناتج من تخمر سكر اللاكتوز وهو دليل على وجود البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز*.

8- راجع الجدول الإحصائي لمعرفة عدد المستعمرات في 100 مليلتر من العينة.



طريقة عزل البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز*

طريقة الترشيح الغشائي

حتى منتصف القرن الماضي كان استعمال طريقة العدد الأكثر احتمالاً شائعة الاستعمال لعدّ البكتيريا القولونية والبكتيريا *ايشيريشيا كولاي* وهي تعتمد على تكوّن الحمض والغاز في الوسط الغذائي السائل ومقارنة النتائج بالجدول الإحصائي، وفي سنة 1943 قام العالم Mueller في ألمانيا باستعمال أغشية خاصة ووسط غذائي خاص وهو Endo-broth لتقييم جودة مياه الشرب من حيث مدى تواجد البكتيريا القولونية من عدمه وتم إعتماد هذه الطريقة كطريقة بديلة لطريقة الأنابيب المتعددة في خمسينات القرن الماضي وتبين أن الوسط الغذائي حساء اللاكتوز يحتوي على مواد إنتقائية قد لاتحفز نمو البكتيريا القولونية المعزولة من البيئة حيث أنها غالباً ماتكون مُجهدة. ومن المعروف أن الأوساط الغذائية الإصطناعية لها القدرة على عزل مقدار قليل فقط من البكتيريا المتواجدة في العينة (0.01– 1%) فتم استعمال أوساط غذائية لاتحتوي على مواد انتقائية بل تحتوي على إنزيمات خاصة لإتاحة إمكانية التعرف على البكتيريا المراد عزلها فعلى سبيل المثال فإنه ليتم عزل البكتيريا *ايشيريشيا كولاي* والبكتيريا القولونية من المياه العذبة ومياه البحار يتم استعمال Colilert® technique وهذا التطور في استعمال الأوساط الغذائية ساهم في إعادة النظر في تعريف البكتيريا القولونية والبكتيريا *ايشيريشيا كولاي* حيث أن البكتيريا القولونية لها القدرة على النمو في درجة حرارة 37 درجة مئوية وتمتلك إنزيم بيتا جالاكتوسايداز وتتميز *البكتيريا ايشيريشيا كولاي* بإحتوائها على هذا الإنزيم وعدم إحتوائها على إنزيم اليورياز Urease.

تتكون الأغشية المستعملة من مادة نترات السيليلوز وتهيئ هذه المادة الظروف الملائمة لنمو المستعمرات البكتيرية وهناك عدة ألوان من هذه الأغشية. ويتم إختيار لون الغشاء المناسب حسب اللون المتوقع للمستعمرات البكتيرية النامية والمراد عدها.

ويتم في هذه الطريقة وضع ورقة الترشيح على حامل المرشح وبعد ذلك يتم ترشيح مقدار معلوم من العينة حيث سيتم حجز المستعمرات البكتيرية المتواجدة في العينة

على سطح ورقة الترشيح ثم تنقل ورقة الترشيح وتوضع على الوسط الغذائي المناسب ليتم انتقال المواد الغذائية اللازمة للقيام بالعمليات الأيضية عبر مسامات ورقة الترشيح وتوضع في الحاضنة في درجة الحرارة الموصي بها.

يعتمد حجم وعدد العينات التي يتم ترشيحها على نوعية المياه المراد التأكد من جودتها:

حجم وعدد العينات التي يتم ترشيحها

نوعية العينة	حجم العينة بالمليلتر					
	100	10	[1]1	[1,2]0.1	[1,2]0.01	[1,2]0.001
المياه المعالجة	X					
المياه المعالجة جزئياً	X	X				
مياه الترفيه			X	X		
مصادر المياه المحمية		X	X			
المياه السطحية			X	X		
مياه الصرف الحي			X	X	X	
المياه الخارجة من محطة معالجة مياه الصرف الصحي			X	X	X	
البرك والأنهار				X	X	X
مياه الصرف الصحي الخام				X	X	X

1- عند التعامل مع أحجام قليلة يتم اضافة 9 مليلتر من محلول التخفيف أو الماء المعقم لضمان التوزيع المثالي للمستعمرات البكتيرية على سطح غشاء الترشيح حتى يسهل عدّ هذه المستعمرات.

2- هذه التراكيز يتم ترشيحها بعد أن تجرى لها عملية تخفيف.

مزايا هذه الطريقة

- يمكن تحليل حجم كبير من العينة مما يتيح فرصة عنه الحصول على نتائج دقيقة.
- يمكن حفظ أوراق الترشيح لتوثيق النتائج المتحصل عليها.
- تعتبر هذه الطريقة من أفضل طرق عدّ المستعمرات البكتيرية في العينة.

بالإمكان استعمال وحدة الترشيح الغشائي الحقلي لإجراء هذا الاختبار.

الطريقة

– يتكون جهاز الترشيح من قاعدة معدنية تدعم القرص النفّاذ تتواجد تحت القمع المدرج ويتم في البداية تعقيم الجهاز بوضع الأقماع في جهاز التعقيم أما القاعدة فيمكن تعقيمها بواسطة اللهب بالتسخين المباشر.

– يتم وضع ورقة الترشيح ذات المواصفات الملائمة (قطرها 47 مم، وذات مسامات بحجم 0.45 ميكرومتر) على القاعدة بحيث يكون السطح المخطط لأعلى ويوضع عليها القمع وتقفل بإحكام.

– يُسكَب مقدار معلوم من العينة في القمع وبعد عملية الشفط (الضغط السلبي) يوضع الغشاء المرشح على الوسط الغذائي المناسب ولمعرفة العدد الكلى للمستعمرات البكتيرية في 1 مليلتر يتم حساب مقدار العينة التي تم تحليلها وعدد المستعمرات النامية على ورقة الترشيح.

– يتم إختيار حجم العينة الذي سيوضع في القمع بحيث يكون العدد المتوقع للمستعمرات النامية على الغشاء المرشح ما بين 20 – 80 مستعمرة بكتيرية وعند التعامل مع مياه معالجة بالكلور يتم ترشيح 100 مليلتر من العينة وبخلاف ذلك عند التعامل مع عينات غير معروفة المصدر أو يعتقد أنها ذات جودة رديئة فيتم تحليل مامقداره 10 مليلتر

من العينة مضافاً إليها ما لايقل على 20 مليلتر من محلول التخفيف لضمان الانتشار الجيد للمستعمرات البكتيرية على سطح الغشاء المرشح.

– عند القيام بترشيح أحجام مختلفة من نفس العينة فإنه من غير الضروري تعقيم القمع بعد كل عملية كما أنه من غير الضروري تعقيم قاعدة الجهاز بشرط أن يتم ترشيح العينات من الأكثر تخفيفاً إلى الأقل تخفيفاً.

– وعند التعامل مع عينات مختلفة المصادر فمن الضروري جداً تعقيم الجهاز لكل عينة مع التأكيد بأن يتم تحليل عينات المياه المعالجة قبل العينات الأخرى غير المعالجة أو المتوقع أنها ذات جودة رديئة.

– عند إجراء عملية الشفط (الضغط السلبي) ضرورة التأكد من إيقاف هذه العملية مباشرة قبل انتهاء كمية العينة التي تتواجد داخل القمع تجنباً لاحتمالية دخول الهواء الذي سيؤثر على دقة النتائج.

– أنزع القمع وأنقل بعناية الغشاء بحيث يكون سطحه المخطط لأعلى ليتم وضعه على الوسط الغذائي المناسب مع التأكد من عدم وجود فقاعات الهواء بين الغشاء والوسط الغذائي وذلك لضمان انتقال المواد الغذائية اللازمة للنمو.

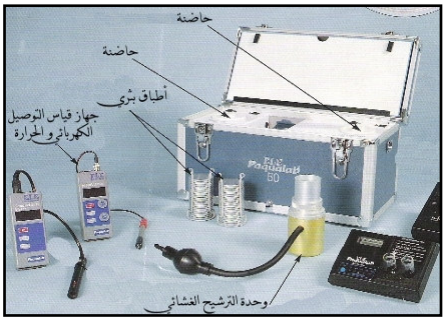
– قم بوضع الأطباق التي تحتوى على الأغشية المرشِحة في الحاضنة عند درجة الحرارة الملائمة.

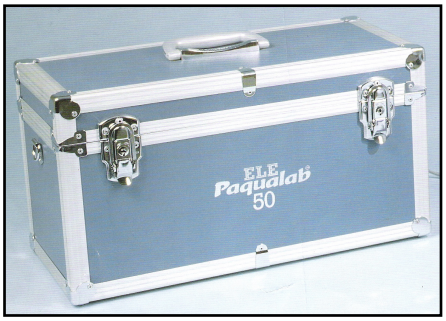
– بعد انتهاء فترة التحضين قم مباشرةً بعدّ المستعمرات النامية على الغشاء وبعد ذلك يتم تدوين النتائج بحساب عدد المستعمرات البكتيرية النامية لكل 100 مليلتر من العينة.

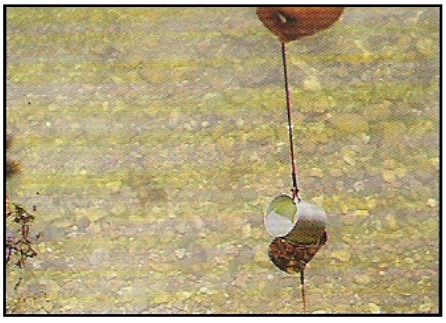
مثال

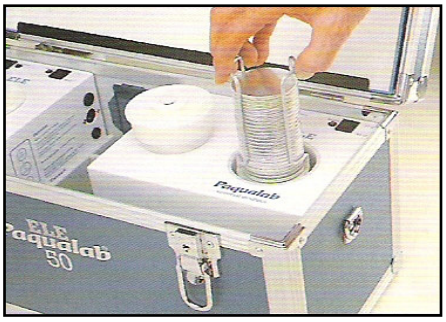
عند اختبار عينة حجمها 100 مليلتر وكان عدد المستعمرات البكتيرية النامية 10 مستعمرات فهذا يعنى وجود 10 مستعمرات بكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة أما إذا تم

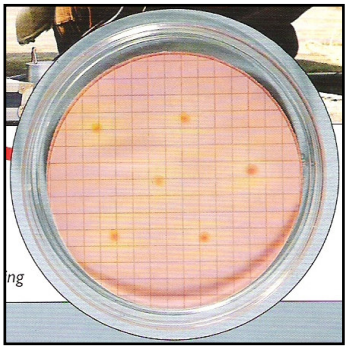
إجراء اختبار لعينة حجمها 10 مليلتر وكان عدد المستعمرات البكتيرية النامية 1 فهذا يعنى وجود 10 مستعمرات بكتيرية لكل 100 مليلتر من العينة.



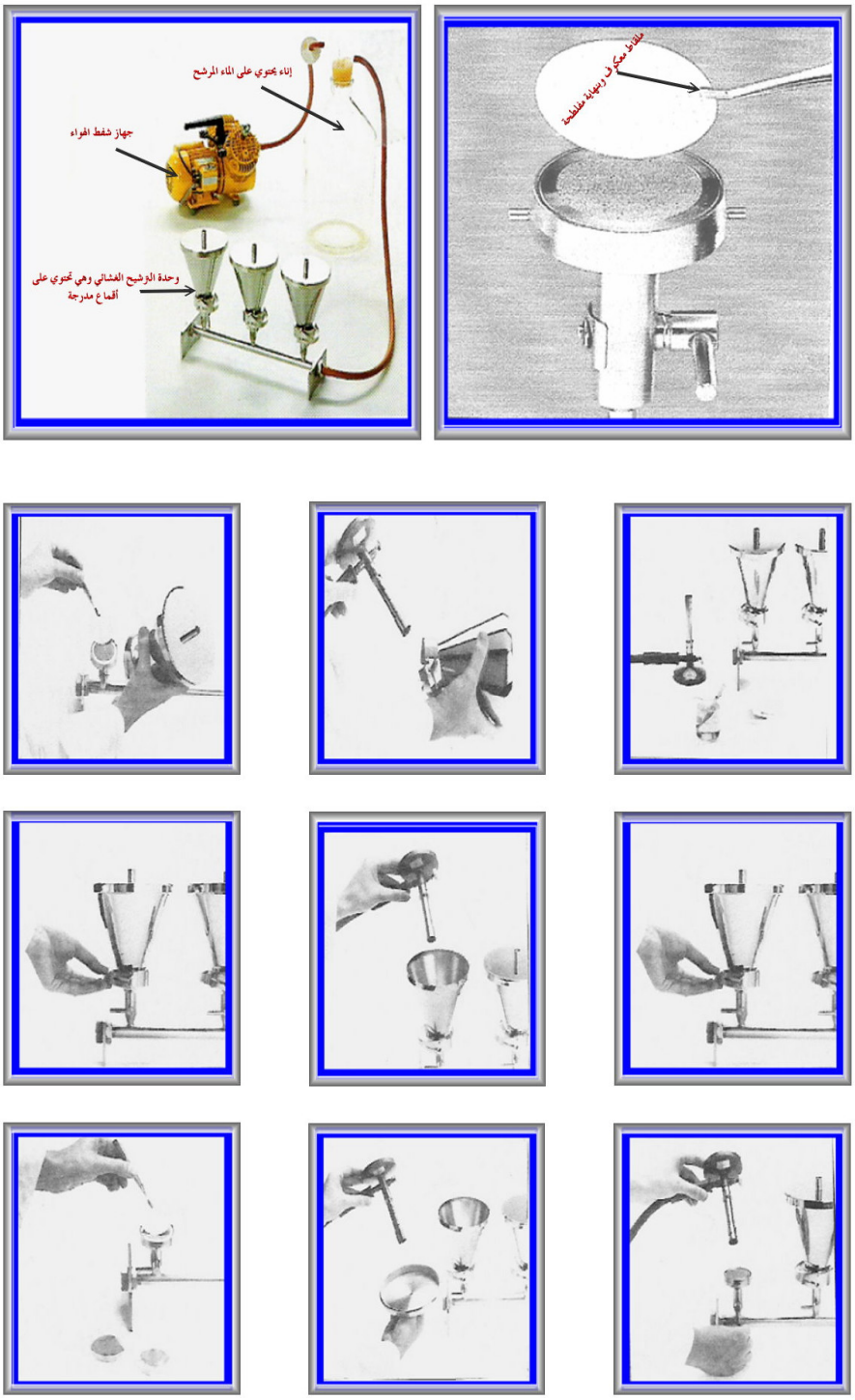






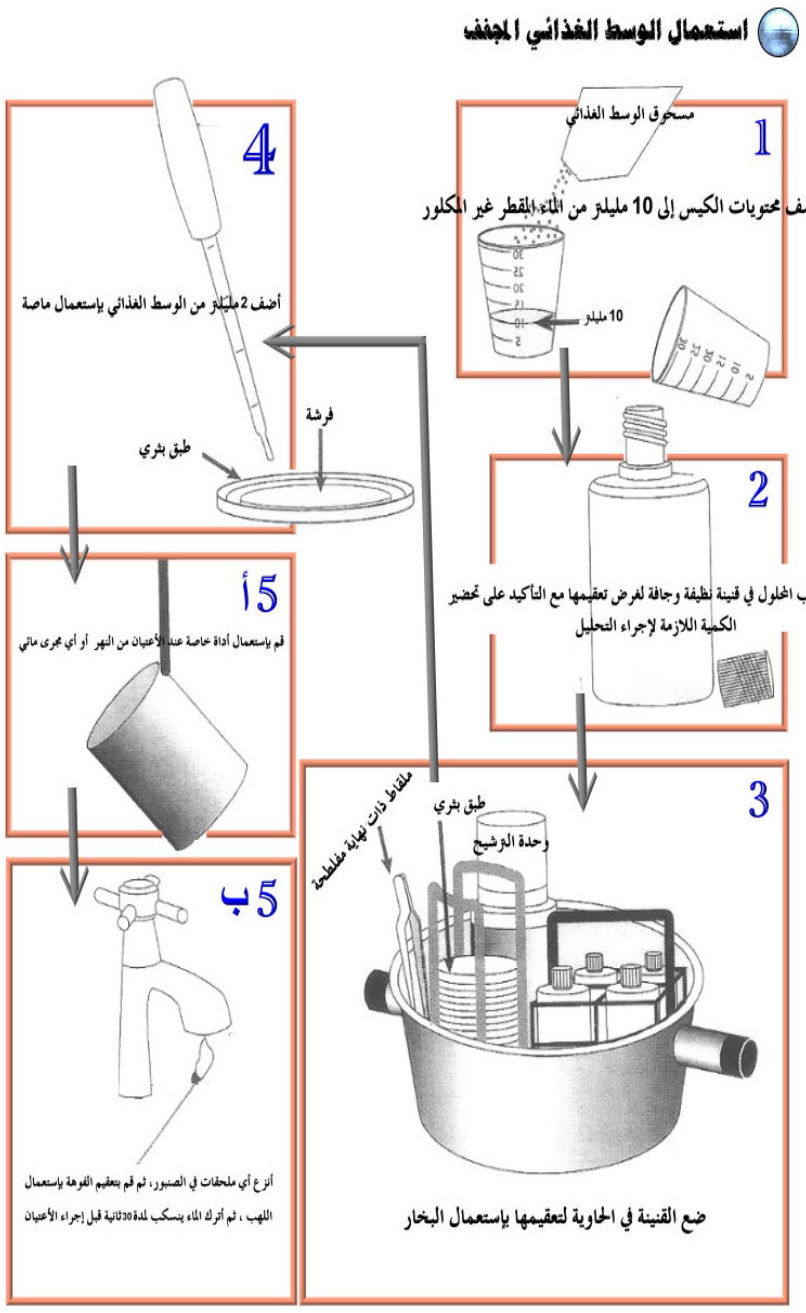


جهاز الترشيح الغشائي الحقلي وأنواع من الأوساط الغذائية الممكن استعمالها



الخطوات العملية لاختبار الترشيح الغشائي المعملية

الخطوة الأولى



1- الخطوات العملية لاختبار الترشيح الغشائي الحقلي

2- الخطوات العملية لإختبار الترشيح الغشائي الحقلي

إستعمال الفرشة المشبعة بالوسط الغذائي

3- الخطوات العملية لاختبار الترشيح الغشائي الحقلي

العد الافتراضي للمستعمرات البكتيرية القولونية باستعمال طريقة الترشيح الغشائي

يتم إجراء هذا الاختبار بوضع الغشاء بعد إجراء عملية الترشيح على الوسط الغذائي المناسب (كما في الجدول المرفق) وليكن الوسط الغذائي Lauryl Sulphate Broth والذي يحتوى على مواد مثبطة لنمو البكتيريا غير القولونية ويحتوى على دليل كاشف يغير لون الوسط الغذائي إلى الأصفر عند وجود البكتيريا القولونية.

1- قم بترشيح العينة بالطريقة العلمية الصحيحة.

2- ضع الغشاء على الوسط الغذائي المعدّ بالخصوص في الحاضنة عند درجة حرارة 30 درجة مئوية لمدة 4 ساعات ثم أحضنها عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 14 ساعة.

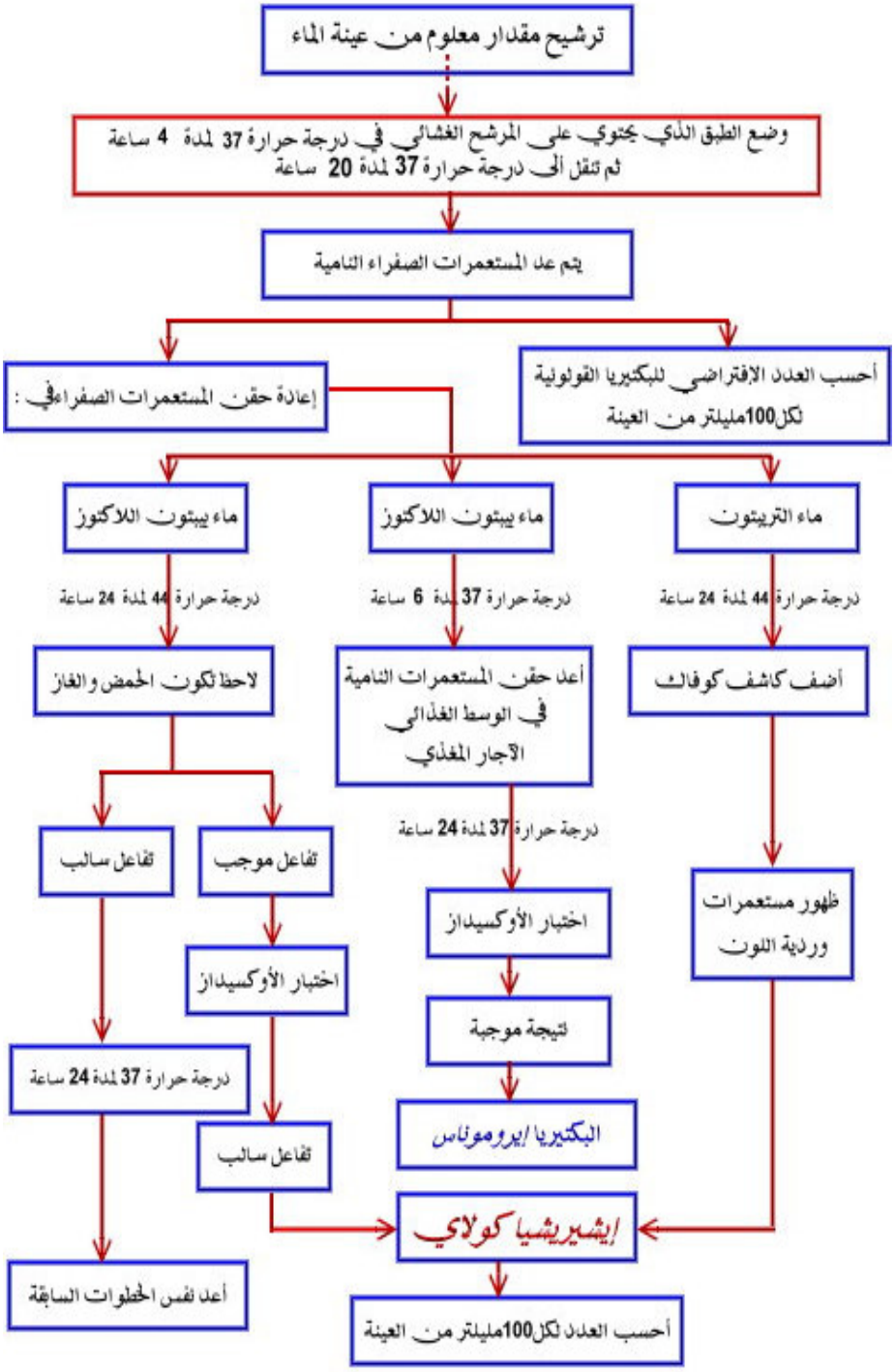
3- قم بعدّ كل المستعمرات البكتيرية صفراء اللون بغض النظر عن حجمها مباشرة بعد إخراج الأطباق من الحاضنة لمعرفة عدد المستعمرات البكتيرية النامية لكل 100 مليلتر.

العد التأكيدي للمستعمرات البكتيرية القولونية ومستعمرات البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* باستعمال طريقة الترشيح الغشائي

في اختبار العدد الأكثر إحتمالاً يمكن لبعض أنواع البكتيريا غير القولونية أن تنتج حمضاً عند تنميتها في وسط غذائي يحتوى على سكر اللاكتوز مع عدم إمكانية تكون الغاز وبالتالي فإنه من الضروري التعامل مع المستعمرات التي تم الكشف عنها في الاختبار الافتراضي للتأكد من أنها بكتيريا قولونية من عدمها وذلك بإمكانية تكوينها للغاز في درجة حرارة 37 درجة مئوية وللتأكد من أنها البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* يتم تنميتها في وسط غذائي يحتوى على سكر اللاكتوز عند درجة حرارة 44 درجة مئوية لملاحظة تكون الحمض والغاز وإمكانية إنتاجها للأندول عند تنميتها في التريبتوفان في نفس درجة الحرارة.

بإجراء اختبار الأوكسيداز يتم استبعاد البكتيريا *إيروموناس* التي ستعطى نتيجة مضلّلة على أنها البكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.

وللتأكد من أن المستعمرات البكتيرية الصفراء اللون النامية على الغشاء في طريقة الترشيح الغشائي بأنها البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* يتم إجراء اختبار الأوكسيداز الذي سيُعطي نتيجة سالبة التفاعل وتحقن هذه المستعمرات في الوسط الغذائي ماء لاكتوز البيبتون وماء التريبتون وتحضن في درجة حرارة 44 درجة مئوية ليتم الكشف عن إنتاج الحمض والغاز، وكذلك إجراء اختبار الأندول لإنبوبة الاختبار التي تحتوي على ماء التريبتون.



طريقة عزل البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* باستعمال طريقة الترشيح الغشائي

عدّ المستعمرات البكتيرية *ستربيتوكوكس* الغائطية بطريقة الترشيح

يتم استعمال وسط غذائي يحتوي على Triphenyl tetrazolium chloride ويكون لون مستعمرات البكتيريا *إنتيروكوكاي* النامية ورديا وقد يكون اللون أحمرَ كنتيجة لتكون مادة Formazan وتفيد هذه الطريقة لأغلب أنواع العينات السائلة غير العكرة.

يتم في البداية إختيار التخفيفات التي يُعتقد أنها ستُنتج مستعمرات البكتيرية عددها مابين 20 – 80 مستعمرة بكتيرية، فعلى سبيل المثال لتحليل المياه المعالجة يتم إختيار حجم 100 مليلتر من العينة أما بالنسبة للمياه الملوثة فيتم إختيار أحجام صغيرة أو تخفيفها باستعمال Ringer's Solution قبل إجراء عملية الترشيح.

بعد تعقيم وتجهيز أداة الترشيح الغشائي وتوصيلها بجهاز الضغط السلبي يتم نزع القمع ووضع الغشاء المرشح على قاعدة قرص الترشيح بحيث يكون الجزء المُخطط لأعلى وبعد ذلك يثبت القمع في مكانه ويُصب المقدار المراد تحليله وعند تحليل عينة مقدارها أقل من 10 مليلتر يتم صب حوالي 10 – 20 مليلتر من محلول التخفيف في القمع قبل صب العينة مما يساعد على التوزيع الجيد للمستعمرات البكتيرية التي يُحتمل تواجدها في العينة على سطح الغشاء عند إجراء الاختبار، ويُنصح بأن لاتتجاوز قوة جهاز الضغط السلبي مامقداره (65 kPa) وهو ما يساوي حوالي 500 مليمتر من الزئبق مع مراعاة أن يتم سحب الهواء ببطء حتى لايتم سحب كمية من الهواء الخارجي عند انتهاء عملية شفط العينة يتم نزع القمع والتقاط الغشاء المرشح باستعمال ملقاط معقم وذلك بإمساكه من أحد أطرافه ووضعه على سطح الوسط الغذائي *Enterococcus* agar مع ضرورة التأكد من عدم وجود فقاعات الهواء بين سطح الوسط الغذائي والغشاء المرشح ولتفادي تواجد هذه الفقاعات يتم (تمرير) الغشاء المرشح على سطح الوسط الغذائي بعد ذلك وضع الطبق في جهاز التحضين عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ويجب أن لاتتعدى الفترة الزمنية الفاصلة بين نهاية عملية الترشيح ووضع الطبق في الحاضنة ساعتين وحيث أن هناك بعض الأجناس البكتيرية لها القدرة على النمو في الوسط الغذائي

Enterococcus agar ولها نفس صفات البكتيريا *إنتيروكوكاي* (مثل الجنس البكتيري *Staphylococcus* والجنس البكتيري *Aerococcus* وكذلك الجنس البكتيري *Bacillus*) فيجب أن يتم إجراء الاختبار التأكيدي عند درجة حرارة 44 درجة مئوية. وعند التعامل مع عينات مياه الشرب المعالجة فإنه يُنصح بأن تتم تحضين العينة في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة بينما عينات المياه غير المعالجة فيتم تحضينها في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 4 ساعات، بعد ذلك تُحضَن في درجة حرارة 44 درجة مئوية لمدة 44 ساعة، وبعد انقضاء فترة الحضانة اللازمة يتم عدّ كل المستعمرات البكتيرية الحمراء والمستعمرات البكتيرية وردية اللون (قد يكون لونها باهث) على اعتبار أنها البكتيريا *ستربيتوكوكس* الغائطية وهو اختبار افتراضي ويتم إجراء الاختبار التأكيدي بإعادة تنمية هذه المستعمرات البكتيرية (إذا كان عددها أقل من 10 مستعمرات بكتيرية أما إذا كان العدد أكثرمن 10 مستعمرات بكتيرية فيتم إختيار 10 مستعمرات فقط) ويتم إجراء اختبار تفاعل الكاتالاز حيث أنها ستكون سالبة التفاعل لهذا الاختبار، كما يتم إعادة تنمية المستعمرات البكتيرية على الوسط الغذائي Bile aesculin azide agar أو الوسط الغذائي Kanamycin aesculin azide agar وتحضينها في درجة حرارة 44 درجة مئوية لمدة 18 ساعة، عندها ستكون مستعمرات البكتيريا *إنتيروكوكاي* محاطة بهالة بنية أوسوداء اللون وذلك نتيجة تحلل الأسكولين كما أنها ستكون متباعدة وهذا مايميزها عن مستعمرات الجنس البكتيري *باسيلس Bacillus* التي لاتكون متباعده.

ويتم حساب عدد المستعمرات البكتيرية المتواجده في العينة عند إجراء الاختبار الافتراضي على أنها المستعمرات النامية في 100 مل كما في المعادلة الرياضية التالية:

$$\text{العدد الافتراضي/100 مليلتر} = \frac{\text{عدد المستعمرات النامية على ورقة الترشيح} \times 100}{\text{حجم العينة الذي تم ترشيحه}}$$

كما يتم حساب عدد المستعمرات البكتيرية المتواجده في العينة عند إجراء الاختبار التأكيدي على أنها المستعمرات النامية في 100 مل كما في المعادلة الرياضية التالية:

العدد التأكيدي /100 مليلتر= العدد الافتراضي X نسبة المستعمرات التي تظهر نتيجة سالبة لاختبار الكاتالاز والقادرة على احلال الأسكولين.

ويُعبر عن العدد الناتج بوحدة تكوين المستعمرات /100 مليلتر من العينة.

عدّ المستعمرات البكتيرية *كلوستريديوم بيرفرينجنز* بطريقة الترشيح

يتم وضع الغشاء بعد إجراء عملية الترشيح في الطبق الذي يحتوي على وسط غذائي يحتوي على كبريت وحديدوز مع التحضين في درجة حرارة 44 درجة مئوية لمدة 24 ساعة عندها سيكون لون مستعمرات البكتيريا *كلوستريديوم* المختزلة للكبريت أسوداً نتيجة لاختزالها للكبريت ليتحول بالتالي إلى كبريتيد والذي بدوره يتفاعل مع الحديدوز. ولتحديد وجود أبواغ هذه البكتيريا فقط يتم تسخين العينة في درجة حرارة 75 درجة مئوية لمدة 10 دقائق قبل إجراء عملية الترشيح وذلك للتخلص من الخلايا الخضرية لهذه البكتيريا.

بعد إجراء عملية سحب الهواء (الضغط السلبي) يتم وضع غشاء الترشيح في الطبق الذي يحتوي على الوسط الغذائي المناسب (Tryptose sulphite cycloserine agar بدون Egg yolk) ويتم تحضينها في درجة حرارة 44 درجة مئوية بعد وضعها في Anaerobic jar لتوفير ظروف بيئية لاهوائية تحتوي على 90% من غاز الهيدروجين و 10% من غاز ثاني أكسيد الكربون ويتم فحص الأطباق بعد مرور 24 ساعة ويعتقد أنه إذا ما تم صب الآجار على غشاء الترشيح فإن ذلك سيُعطي نتيجة أفضل من وضع غشاء الترشيح على سطح الوسط الغذائي ويتم بعد انقضاء عملية التحضين عد المستعمرات البكتيرية، ولإجراء الاختبار التأكيدي يتم إعادة تنمية المستعمرات البكتيرية ذات اللون الأسود (عدد 10 مستعمرات فقط) في أنابيب اختبار تحتوي على الوسط الغذائي buffered nitrate-motility ويتم تحضينها في ظروف بيئية لاهوائية عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ولاختبار قدرة هذه المستعمرات على اختزال النترات يتم اضافة 1 مليلتر من كاشف النترات (أ) و 1 مليلتر من كاشف النترات (ب) لكل إنبوبة اختبار، ويعتبر ظهور اللون الاحمر دليلاً على اختزال النترات الى نيترايت بالاضافة إلى ذلك يتم حقن أنبوبة اختبار تحتوي على الوسط الغذائي Lactose gelatin وتحضينها في ظروف بيئية لاهوائية في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة وبعد انقضاء فترة الحضانة يتم وضع الأنابيب في الثلاجة لمدة لاتقل

عن ساعة قبل فحص قدرتها على إماءة الجيلاتين، ومن هنا نجد أن مستعمرات البكتيريا *كلوستريديوم* ستكون مواصفاتها كالتالي:

- غير متحركة في الوسط الغذائي buffered nitrate-motility.

- قادرة على اختزال النترات بظهور اللون الأحمر عند اضافة 1 مليلتر من كاشف النترات (أ) و 1 مليلتر من كاشف النترات (ب).

- قادرة على تخمير سكر اللاكتوز (ظهور اللون الأصفر في الوسط الغذائي Lactose gelatin).

- قادرة على إماءة الجيلاتين الموجود في الوسط الغذائي Lactose gelatin.

ويُعبر عن العدد الافتراضي لمستعمرات البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز* كما في المعادلة الرياضية التالية:

$$\text{العدد الافتراضي} = \frac{\text{عدد المستعمرات النامية X 100}}{\text{حجم العينة الذي تم ترشيحه}}$$

ويتم حساب العدد التأكيدي كالتالي:

العدد التأكيدي= العدد الافتراضي للمستعمرات النامية X نسبة المستعمرات غير المتحركة والمختزلة للنترات والمُخمِرة لسكر اللاكتوز والقادرة على إماءة الجيلاتين.

ويُعبر عن العدد الناتج بوحدة تكوين المستعمرات /100 مليلتر من العينة.

نوع الوسط الغذائي	دواعي الاستعمال	الشكل الظاهري للمستعمرات النامية
Endo	وسط غذائي إنتقائي للكشف عن البكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.	البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* والبكتيريا القولونية تعطى مستعمرات لونها أحمر غامق مع وجود بقعة حمراء غامقة أسفل الغشاء.
Tergitol TTC	الكشف عن البكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.	البكتيريا القولونية تعطى مستعمرات حمراء اللون، والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي* والبكتيريا *إنتيروباكتير إيروجينز* تعطى مستعمرات لونها أصفر أو برتقالي مع هالة صفراء. وهذا الوسط الغذائي زحف البكتيريا *بروتيوس*.
Teepol	الكشف عن البكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.	تظهر مستعمرات بكتيرية صفراء اللون قطرها حوالي 1−2 مم تحيط بها هالة صفراء اللون.
M-FC	الكشف عن البكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.	البكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي* تظهران لوناً أزرق بقطر يتراوح مابين 1−2 مم.
ECD	وسط غذائي إنتقائى للكشف عن وتعريف البكتيريا *إيشيريشيا كولاي*.	عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية تعطى لون أزرق فاتح لامع.
Mac Conkey	للكشف على البكتيريا التابعة لعائلة	البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* تظهر

	Enterobacteria	مستعمرات كبيرة لونها أحمر أو شبه حمراء. والبكتيريا القولونية تظهر مستعمرات كبيرة وردية اللون أحيانا تكون لزجة. أما أفراد هذه العائلة والتي لا تخمر سكر اللاكتوز فإنها تظهر مستعمرات عديمة اللون.
Azide	الكشف عن البكتيريا *إنتيروكوكاي*	هذه البكتيريا تظهر مستعمرات لونها أحمر أو بني محمر وأطرافها ناعمة.
Bismuth-Sulfite	وسط غذائي إنتقائى للكشف عن البكتيريا *سالمونيلا* في الماء.	أغلب أنواع البكتيريا *سالمونيلا* تظهر لونا فاتحاً مع بقعة تتراوح من البني إلى الأسود في منتصف المستعمرة البكتيرية محاطة بهالة سوداء اللون بغشاء لمَّاع. بعض أنواع البكتيريا *سالمونيلا* تظهر لوناً بني غامق إلى الأسود.
Cetrimide	للكشف وعدّ البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*	البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا* تظهر مستعمرات لونها أزرق و ذات قطر يتراوح ما بين 1–2 مم مع هالة زرقاء اللون. وفي بعض الأحيان تكون المستعمرات ذات لون أخضر مزرق، أصفر مزرق أو عديمة اللون. الأنواع الأخرى من البكتيريا *سيدوموناس* تظهر لوناً أبيض.

عَدّ وحساب وكيفية إعداد تقرير النتائج

كثافة المستعمرات البكتيرية المثالية التي يمكن أن يستوعبها غشاء الترشيح تتراوح مابين 20 إلى 200 مستعمرة، ويتم التعليق على النتائج بحساب وحدة تكون المستعمرات Colony Forming Units (CFU) على أن يتضمن التقرير الطريقة التي تم اتباعها وزمن التحضين وكذلك نوع الوسط الغذائي الذي تم استعماله.

على سبيل المثال:

89 وحدة تكوين المستعمرات/لتر، 37درجة مئوية، 24 ساعة، حساء m-TGE

* وجود عدد 1 أو 2 مستعمرة بكتيرية لكل مربع

قم بعدّ كل المستعمرات البكتيرية النامية على غشاء الترشيح وبعملية حسابية يتم تقسيم عدد المستعمرات البكتيرية النامية على حجم العينة المستعمل.

مثال

عدد المستعمرات البكتيرية النامية على غشاء الترشيح 122 مستعمرة، وحجم العينة التي تم تحليلها 10 مليلتر.

$$\frac{\text{122 مستعمرة}}{\text{10 مليلتر من العينة}} = \text{12.2 وحدة تكوين المستعمرات/ مليلتر.}$$

* وجود عدد 3 إلى 10 مستعمرة بكتيرية لكل مربع

قم بعد كل المستعمرات البكتيرية النامية في 10 مربعات تمثل الطبق وبعد ذلك قسِّم العدد الناتج على 10 للحصول على متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في كل مربع، ثم أوجد حاصل ضرب العدد الناتج في 100 وقسم ذلك على حجم العينة المستعمل.

مثال

متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية يساوى 8 مستعمرات لكل مربع وحجم العينة المستعمل 0.1 مليلتر.

$$\frac{\text{8 مستعمرات/مربع X 100}}{\text{0.1 مليلتر من العينة}} = \text{8000 وحدة تكوين المستعمرات/ مليلتر.}$$

*** وجود عدد 10 إلى 20 مستعمرة بكتيرية لكل مربع**

قم بعد كل المستعمرات البكتيرية النامية في 5 مربعات تمثل الطبق وبعد ذلك قسِّم العدد الناتج على 5 وذلك للحصول على متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في كل مربع، ثم أوجد حاصل ضرب العدد الناتج في 100 وقسِّم ذلك على حجم العينة المستعمل.

مثال

متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية يساوى 17 مستعمرة بكتيرية لكل مربع وكان حجم العينة المستعمل 0.1 مليلتر.

$$\frac{\text{17 مستعمرة / مربع X 100}}{\text{0.1 مليلتر من العينة}} = \text{17000 وحدة تكوين المستعمرات/ مليلتر.}$$

*** وجود أكثر من 20 مستعمرة بكتيرية لكل مربع**

إذا تجاوز عدد المستعمرات البكتيرية النامية على الطبق 20 مستعمرة بكتيرية لكل مربع فيتم توثيق النتائج على أنها أكثر من 2000 مستعمرة بكتيرية وتقسم على حجم العينة المستعمل.

مثال

إذا كان حجم العينة المستعمل حوالى 0.01 مليلتر وعدد المستعمرات البكتيرية النامية أكثر من 20 مستعمرة بكتيرية لكل مربع، فإن النتيجة تكون كالتالي:
≤ 2000 / 0.01 أو ≤ 200000 وحدة تكوين المستعمرات / مليلتر.

اختبار العدّ الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية
Heterotrophic Plate Count (HPC)

لايمكن للبكتيريا غير ذاتية التغذية أن توفر متطلبات النمو من المواد غير العضوية وبالتالي فإنه لابد من توفر المواد العضوية مثل الأحماض الأمينية والبروتينات والفيتامينات وتُشكّل هذه البكتيريا مجموعة الفلورة الطبيعية للمياه وهي غالباً ماتكوِّن مايُعرف بالغشاء الحيوي (Biofilm) الذي يساعدها على التواجد في شبكات المياه العامة والخزانات بأعداد كبيرة ويعتبر الازدياد المفاجئ في أعداد هذه البكتيريا دليل على وجود خلل في عمليات المعالجة أو احتمالية تلوث المياه بعد معالجتها وإن وجودها بأعداد كبيرة يتطلب التقصي السريع لمعرفة مصدر هذا التلوث ومن ثَمّ وجب التدخل التصحيحي لمعالجة هذا الوضع، ومن خلال الدراسات الوبائية والبيانات الإحصائية المتوفرة لم يثبت بأن لهذه البكتيريا دوراً في إحداث الأوبئة وبالتالي فهي في الغالب بكتيريا غير ممرضة.

تعتمد الطرق التقليدية لمراقبة جودة مياه الشرب على تقصِّي مدى وجود البكتيريا الدالة على التلوث باستعمال أوساط غذائية إصطناعية وهذه الاختبارات فعَّالة وغير مكلفة ولكنها تفتقر للدقة في تحديد العدد الكلي للبكتيريا المتواجدة في العينة بالرغم من امكانية إجراء الاختبار بتحضين العينة في درجات مختلفة ولفترات زمنية متفاوتة حيث أتضح أنها لها القدرة على عزل حوالي 0.01 – 1% فقط من إجمالي المستعمرات البكتيرية المتواجدة في العينة.

في النصف الثاني من القرن العشرين بدأ استعمال مرشحات الكربون النشط وغاز الأوزون للتخلص من المركبات العضوية غير المرغوب في تواجدها في المياه، ونتيجة للتطور العلمي وزيادة المعلومات المتعلقة بالجودة الجرثومية للمياه تم التوصل إلى التعرف على البكتيريا غير ذاتية التغذية Heterotrophic Plate Count (HPC) التي يتم عزلها من شبكات امدادات المياه المعالجة وذلك بتنميتها في الأوساط الغذائية الاصطناعية التي توفر المتطلبات اللازمة لنموها والإستنتاج إلى أن هناك احتمالية وجود الخطر بتواجد أعداد كبيرة من البكتيريا (أكثر من 500 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر) في المصدر

وذلك عند تنمية العينة في درجة حرارة 35 درجة مئوية لمدة يومين مما قد يؤدَّي إلى عدم القدرة على تحديد وجود مستعمرت البكتيريا القولونية إن تواجدت في العينة وذلك عند استعمال الأوساط الغذائية التي تعتمد على وجود سكر اللاكتوز. إلاَّ أن التوصل إلى اكتشاف أوساط غذائية بديلة تُعرف بالأوساط الغذائية الصبغية (Chromogenic Culture Media) أدَّى إلى إمكانية تحديد وجود مستعمرات البكتيريا القولونية في ظل تواجد أعداد كبيرة من مستعمرات البكتيريا غير ذاتية التغذية وهي كالتالي:

أنواع أطقم اختبارات الكشف على البكتيريا القولونية

طقم الاختبار	الشركة المنتجة
Enterolert®	IDEXX
Colisure®	
Colilert®	
m-ColiBlue®	Hach
ColiComplete®	BioControl
Chromocult®	Merck
MicroSure®	Gelman

وتعتمد طريقة Colilert® على تغير لون الوسط الغذائي إلى اللون الأصفر نتيجة لنشاط إنزيم بيتا جالاكتوسايداز وتأثيره على الوسط (OPNG) مما قد يدل على وجود البكتيريا القولونية (حيث أن بعض سلالات البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* لاتفرز هذا الإنزيم كما أن بعض الأجناس البكتيرية الأخرى مثل الجنس البكتيري *سالمونيلا* والجنس البكتيري *شيجيلا* والجنس البكتيري *سيتروباكتير* والجنس البكتيري *يرسينيا* والجنس البكتيري *إدواردسيا* والجنس البكتيري *هافنيا* والعديد من الأجناس البكتيرية الأخرى تفرز هذا الإنزيم مما سيؤدي إلى ظهور النتيجة الموجبة المضلّلة) كما تُعطي لوناً وهَّاجاً عند استعمال الأشعة فوق البنفسجية نتيجة لتفاعل البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* مع الوسط (MUG) وهي

تعتبر طريقة نوعية بينما (QuantiTray™) فهي تعتبر طريقة كمية (عددية) يتم فيها التعرف على العدد الأكثر احتمالاً في عينة مياه معلومة الحجم أما الطرق التقليدية فهناك طرق مختلفة لتطبيق اختبار العدّ الكلي للطبق حيث يمكن استعمال طريقة صبّ الطبق بالتحضين في درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية لمدة يوم أو يومين أو التحضين عند درجة حرارة 20 – 22 درجة مئوية لمدة يومين أو 3 أيام كما يمكن استعمال طريقة التوزيع على الطبق بالتحضين لمدة 7 – 14 يوماً.

يمكن للبكتيريا غير ذاتية التغذية أن تتضاعف في قنينة مياه الشرب المعبأة لتصل إلى تركيزات عالية خلال أيام قليلة، ففي إحدى الدراسات التي أجريت على مياه معدنية وجد أنه بعد انقضاء فترة التحضين في 22 درجة مئوية تضاعف عدد المستعمرات البكتيرية من 10^1 – 10^2 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر وهو العدد المتواجد في هذه المياه بعد التعبئة إلى أن وصل العدد إلى 10^5 – 10^6 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر بعد 3 أيام من التخزين ولوحظ أن هذا التضاعف في العدد لايتوقف حتى أثناء تخزين القنينات في درجة حرارة 6 درجات مئوية إلا أنه حتى الآن لم يتم تسجيل حدوث أي جائحة نتيجة تواجد عدد كبير من مستعمرات البكتيريا غير ذاتية التغذية في مياه الشرب.

استعمالاتها:

أستعمل هذا الاختبار في البداية للتأكد من كفاءة عملية المعالجة عند استعمال تقنية المرشح الرملي Sand Filter المتعارف عليه في ذلك الوقت للتخلص من مياه الصرف الصحي قبل تفريغها في النهر ثم أعتمدت كطريقة أساسية لمراقبة جودة المياه إلا أن هذا الدور تراجع خلال القرن العشرين مع ظهور اختبارات الكشف عن البكتيريا الدالة على التلوث والبكتيريا القولونية تحديداً باستعمال الأوساط الغذائية التي تحتوي على سكر اللاكتوز وبالتالي فإن هذا الاختبار يستعمل في ما يلي:

- معرفة مدى كفاءة عملية المعالجة.

- معرفة عدد الجراثيم البكتيرية التي قد تعود للنمو من جديد بعد انتهاء عملية المعالجة (Regrowth Organisms).

- يُستعمل في بعض الظروف الخاصة (عند تفشي وباء) كدليل على وجود تلوث في حال ظهور عدد كبير من المستعمرات البكتيرية في اختبار العدد الكلّي في الطبق (أكثر من 500 وحدة تكوين المستعمرات لكل مليلتر من العينة) مع ظهور النتيجة السالبة عند إجراء اختبارات الكشف عن البكتيريا الدالة عن التلوث وذلك عند استعمال الأوساط الغذائية التقليدية التي تعتمد على وجود سكر اللاكتوز كأحد المتطلبات الأساسية لنمو البكتيريا القولونية

يُتيح اختبار عدّ الطبق معرفة عدد المستعمرات البكتيرية التقديري لكل مليلتر من العينة، وهناك عدة سبل لتطبيق هذه الطريقة، ومن أهمها:

1- طريقة صب الطبق Pour Plate Technique .

2- طريقة التوزيع على الطبق Spread Plate Technique.

الحدود المسموح بها:

تتضمن المواصفة القياسية الأوربية لمياه الشرب قيماً عددية عُليا تحدد العدد الأقصى لتواجد مستعمرات البكتيريا غير ذاتية التغذية في مصادر المياه الخاصة حيث أوصت بأن لايزداد العدد بصورة كبيرة عند تنمية العينات في درجة حرارة 22 و 37 درجة مئوية أما بالنسبة للمياه المعبأة فيجب أن لايزيد العدد خلال 12 ساعة من عملية التعبئة عن 100 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر وذلك عند تحضين العينة في درجة حرارة 22 درجة مئوية لمدة 72 ساعة وأن لايزيد العدد عن 20 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر عند تحضين العينة في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة ولم تحدد المواصفة الأوربية قيمة عددية محددة لتواجد هذه البكتيريا في شبكات تزويد

المياه إلا أنها أوصت بأن لايتزايد العدد بشكل متطرد أو بشكل مفاجئ عند التحضين في درجة حرارة 22 درجة مئوية.

بينما في كندا تختلف المعايير فيما بين المقاطعات حيث لم تحدد قيمة عددية كحد أعلى لتواجد هذه المستعمرات البكتيرية في العينات المأخوذة من شبكات المياه العامة إلا أنها تنصح بأن لايزيد العدد على 500 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر وكذلك الحال بالنسبة للمياه المعدنية ومياه الينابيع المعبأة والتي تعتبر مياهاً جوفية، على أن لايكون مصدر المياه المعدنية من الشبكة العامة وعلى أن لاتحتوي الأنواع الأخرى من المياه المعبأة على أكثر من 100 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر من البكتيريا غير ذاتية التغذية.

أما في أمريكا فإن العدد المسموح به في شبكات تزويد المياه يجب أن لايزيد عن 500 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر بينما المواصفة القياسية الأسترالية تسمح بوجود أقل من 100 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر في مصادر المياه المعالجة عند تحضينها في درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة وأن لايزيد العدد على 500 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر في مصادر المياه غير المعالجة عند تحضينها في درجة حرارة 35 – 37 درجة مئوية لمدة 48 ساعة ولم تحدد قيمة عددية لتواجد هذه البكتيريا (HPC) في المياه المعبأة وفي هولندا واليابان تم تحديد العدد المسموح به بأن لايزيد على 100 وحدة تكوين المستعمرات/مليلتر في مياه الشرب بعد التحضين لمدة 48 ساعة في درجة حرارة 22 درجة مئوية.

1- طريقة صب الطبق

Plate Count Technique

تُجرى هذه الطريقة بصبّ حوالي 15 مليلتر من الأجار المذاب بعد تبريده إلى أن يصل إلى 45 درجة مئوية في طبق يحتوى على مقدار معلوم من العينة (بعد تخفيفها إن استلزم الأمر) بعد ذلك يتم تحريك الطبق بصورة دائرية حتى تتجانس العينة مع الوسط الغذائي فتنتشر المستعمرات البكتيرية المتواجدة في العينة ويفضل العمل على طبقين (لكل تخفيف) للحصول على نتائج أكثر دقة، بعد التحضين يتم عدّ الأطباق التي يتراوح نمو المستعمرات البكتيرية فيها مابين 30 – 300 مستعمرة بكتيرية ويتم حساب معدل تكوين المستعمرات بإيجاد حاصل ضرب (عدد المستعمرات النامية) في (معامل التخفيف) وذلك للحصول على عدد المستعمرات البكتيرية لكل 1 مليلتر من العينة.

المزايا:

1- تساعد على عدّ المستعمرات البكتيرية النامية.

2- تساعد في الحصول على مستعمرات منفردة يمكن عزلها وتعريفها.

العيوب:

1- تحتاج لفترة حضانة لاتقل عن 24 ساعة.

2- تحتاج إلى عدد كبير من الأدوات الزجاجية.

3- احتمالية الحصول على نتائج غير دقيقة كنتيجة لعدم دقة التخفيف.

الطريقة:

1- أذابة الوسط الغذائي المناسب على سبيل المثال الأجار المغذي (Nutrient Agar) ووضعه في الحمام المائي عند درجة حرارة 45 درجة مئوية تقريباً ليبقى جاهزاً إلى حين الحاجة إليه.

2- رج عينة الماء جيداً (قبل إجراء التخفيفات اللازمة وذلك بنقل مامقداره 1 مليلتر من العينة إلى 9 مليلتر من الوسط الغذائي السائل المستعمل في التخفيف وليكن على سبيل المثال ماء البيبتون).

3- أنقل 1 مليلتر من العينات (المخففة) إلى طبق بثرى فارغ (استعمل طبقين على الأقل لكل تخفيف).

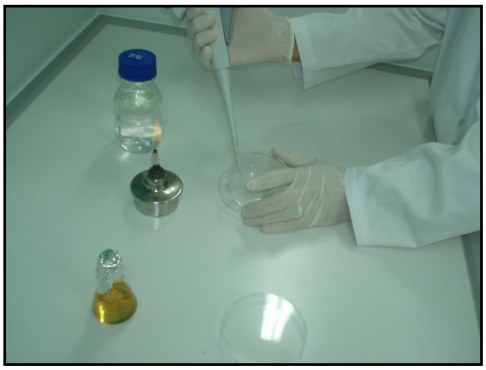
4- قم بصبّ الوسط الغذائي في الطبق قبل أن يجمد وحرك الطبق لفترة زمنية بسيطة بإتجاه دائري مع وعكس اتجاه عقارب الساعة (على أن لا تتجاوز الفترة الزمنية بين اجراء التخفيفات وصب الأجار مدة 15 دقيقة).

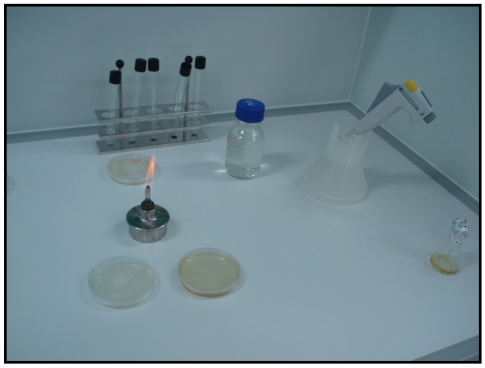
5- اترك الطبق لفترة وجيزة حتى يجمد الأجار ثم ضعه مقلوباً في الحاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية.

6- اختر الأطباق التي تحتوى على نمو للمستعمرات البكتيرية مابين 30 – 300 مستعمرة وذلك لعدّها مباشرة بعد إخراج الأطباق من الحاضنة (وإن لم تتمكن من قراءة النتائج بسرعة ضع الأطباق في الثلاجة على أن لاتزيد الفترة عن 24 ساعة).

7- أوجد متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الأطباق لكل تخفيف ثم أوجد حاصل ضرب العدد الناتج في معامل التخفيف لتتحصل على عدد المستعمرات البكتيرية النامية لكل 1 مليلتر من العينة.

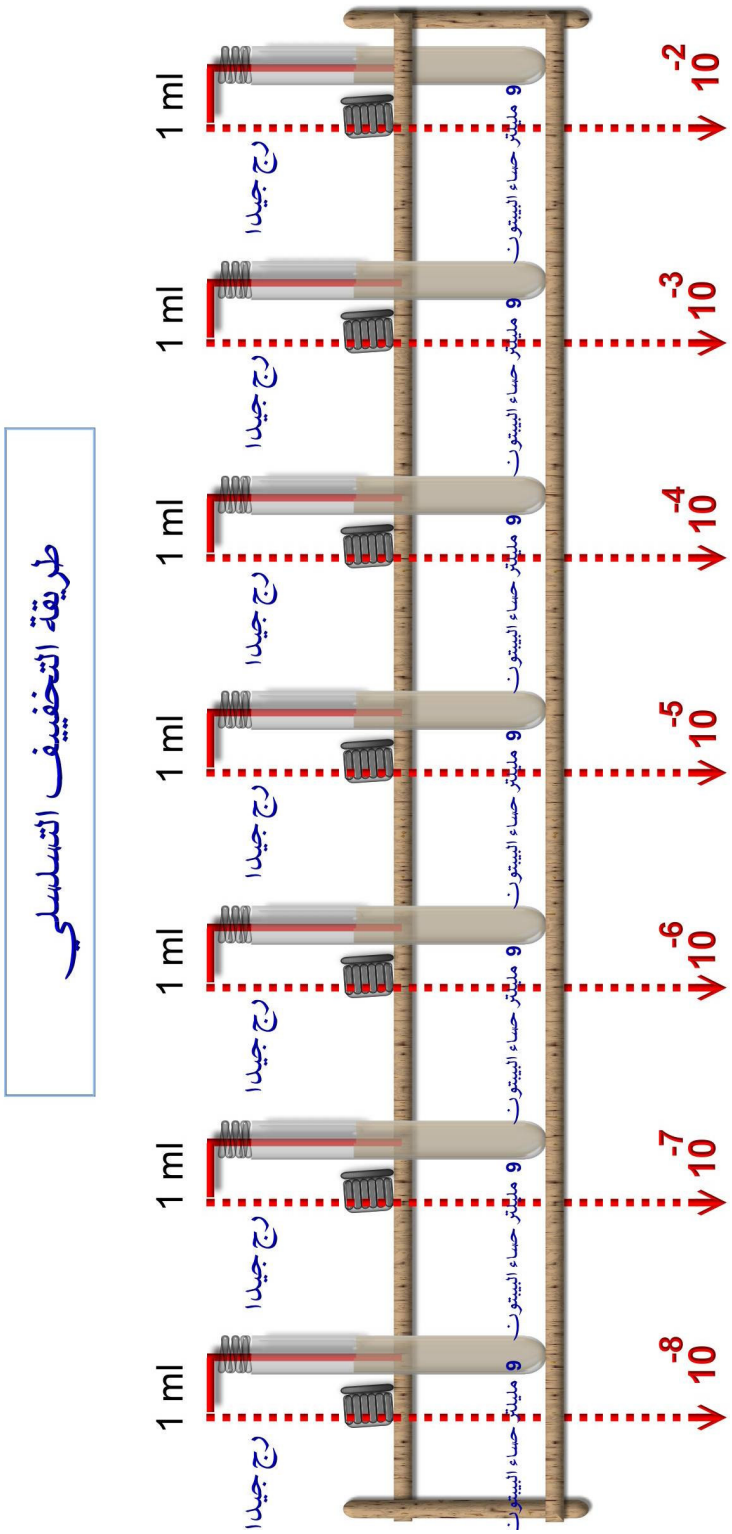
عند ظهور نمو للمستعمرات البكتيرية على الطبق لعدد أقل من 30 مستعمرة للعينة غير المخففة أو وجود أكثر من 300 مستعمرة في العينة الأكثر تخفيفاً يتم التعليق على النتيجة كعدد إحتمالي.





STUART SCIENTIFIC
COLONY COUNTER

Heraeus



طريقة التخفيف التسلسلي
1 ml
رج جيدا
9 مليلتر حساء الببتون
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
10^{-7}
10^{-8}

طريقة صب الطبق
رج جيدا
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
10^{-7}
10^{-8}
أنقل 1مليلتر من كل تخفيف إلى ثلاثة أطباق بتري فارغة
بعد ذلك أضف الآجار المذاب
أترك الأطباق حتى تجمد
يتم التحضين في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة
يتم حساب المستعمرات البكتيرية النامية في كل طبق وتطبيق المعادلة الحسابية اللازمة

2- طريقة التوزيع على الطبق

في هذه الطريقة يتم توزيع العينة المخففة على سطح الأجار الصلب باستعمال قضيب زجاجي على هيئة الحرف اللاتيني L.

الطريقة

1- ضع العصا الزجاجية في كأس يحتوى على كحول إيثيلي.

2- باستعمال الماصة أنقل 1 مليلتر من العينة المخففة وضعها في منتصف الطبق.

3- حرك الطبق بحركة دائرية بينما أنت ممسك بالعصا الزجاجية (بعد تعريضها للهب لتعقيمها ثم تبريدها) بزاوية مائلة ثم أعد الغطاء.

4- ضع الطبق مقلوباً في الحاضنة لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37 درجة مئوية.

5- قم بعدّ المستعمرات البكتيرية النامية على سطح الأجار لحساب العدد لكل 1 مليلتر من العينة.

طريقة التوزيع على الطبق
رج جيدا
10^{-2}
10^{-3}
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
10^{-7}
10^{-8}
انقل 0.1 مليلتر من كل تخفيف إلى ثلاثة أطباق بتري تحتوي على آجار مغذي
10^{-3}
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
10^{-7}
10^{-8}
10^{-9}
اتركها لفترة من الزمن حتى يتشرب الآجار العينة المنقولة له
يتم التحضين في درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 18-24 ساعة
يتم حساب المستعمرات البكتيرية النامية في كل طبق وتطبيق المعادلة الحسابية اللازمة

❖ التعليق وتدوين النتائج

بعد انتهاء عملية التحضين عدّ كُل المستعمرات البكتيرية النامية على الأطباق وإذا استلزم الأمر تأجيل عدّ المستعمرات البكتيرية النامية فيجب حفظ الأطباق في الثلاجة في درجة حرارة 5– 10 درجة مئوية على أن لاتزيد المدة على 24 ساعة مع التأكد على أنه يفضل عدم تأخير قراءة النتائج ويتم تدوين النتائج على أنها وحدة تكوين المستعمرات لكل مليلتر متضمناً الطريقة التي تم اتباعها ودرجة حرارة التحضين وفترة الحضانة والوسط الغذائي المستعمل.

بصورة عامة، النتائج المتحصل عليها بأخذ متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الأطباق ذات نفس التخفيف أو غير المخففة وضرب عدد المستعمرات البكتيرية النامية في معامل التخفيف على أن تدون النتائج برقمين صحيحين فقط باتباع طريقة التقريب الحسابي إن استلزم الأمر.

* تعريفات للمصطلحات الهامة في تدوين النتائج:

– متوسط عدد المستعمرات البكتيرية / طبق

وهو حاصل قسمة عدد المستعمرات البكتيرية النامية على عدد الأطباق.

مثال

إذا ماتم حقن حجم 11 مليلتراً من العينة وكان عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الطبق الأول 89 مستعمرة وعدد المستعمرات البكتيرية في الطبق الثاني 103 مستعمرة وبالتالي فإن متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية كالتالي:

$$\frac{89 \text{ مستعمرة} + 103 \text{ مستعمرة}}{2 \text{ طبق}} = 96 \text{ مستعمرة بكتيرية.}$$

- وحدة تكوين المستعمرات (CFU/ml)

هذه الوحدة تستعمل لتقدير كثافة المستعمرات البكتيرية في الطبق وهو حاصل ضرب متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في كل طبق في معامل التخفيف.

- معامل التخفيف

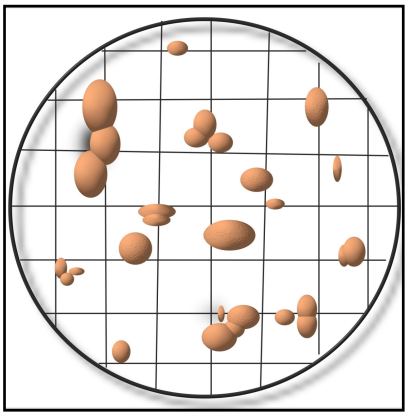
على سبيل المثال إذا كان الحجم الأصلي للعينة المستعمل 1 مليلتر فإن معامل التخفيف يساوى 1 مليلتر أما إذا كان حجم العينة المستعمل 0.1 مليلتر من الحجم الأصلي للعينة فإن معامل التخفيف يساوى 10 ومعامل التخفيف لـــ 1 مليلتر من العينة المخففة (0.01 مليلتر من حجم العينة الأصلي) يساوي 100 ومعامل التخفيف لـــ 0.1 مليلتر من العينة المخففة (0.001 مليلتر من العينة الأصلية) يساوي 1000.

- التوزيع الممثل للعينة

المربعات التي تحتوى على المستعمرات البكتيرية ذات العدد الممثل للعينة هي فقط التي يتم عدَّها ولايجب عدّ المربعات ذات القيم الشاذة التي تتضمن أعداداً أكثر أو أقل من العدد الفعّلي في العينة.

- المستعمرات الزاحفة

وهى مستعمرات بكتيرية تنمو على الطبق بصورة زاحفة بحيث لاتتكون مستعمرات بكتيرية منفصلة على سطح الطبق.



يُفضل عند إجراء اختبار عدّ المستعمرات البكتيرية النامية أن يتم عدّ الأطباق التي تحتوي على مستعمرات بكتيرية مابين 30 و 300 مستعمرة.

ولعدّ الأطباق التي تتواجد فيها المستعمرات البكتيرية الزاحفة يتم إختيار الجزء الممثل للطبق فقط بحيث تكون هذه المستعمرات (الفردية) موزعة بشكل جيد على أن لاتزيد المساحة التي تغطيها هذه المستعمرات الزاحفة على نصف مساحة الطبق أما في حالة عد البكتيريا الزاحفة فيتم عدّ المستعمرات البكتيرية المتشابه معاً.

- عدم وجود مستعمرات بكتيرية

إذا أظهرت أطباق التخفيفات المختلفة من نفس العينة عدم نمو أي مستعمرات بكتيرية فيتم تدوين النتائج على أن العدد أقل من معامل التخفيف الذي أُستعمل.

مثال

إذا كان حجم العينة المستعمل 0.1 مليلتر فإن النتيجة تدون كالتالي:

أقل من 10 وحدة تكوين المستعمرات / مليلتر.

- أقل من 30 مستعمرة / طبق

عادةً لايتم صبّ أكثر من 1 مليلتر من العينة في الطبق، فيتم حساب المستعمرات البكتيرية النامية على أنها وحدة تكوين المستعمرات لكل 1 مليلتر.

- مابين 30 مستعمرة و 300 مستعمرة / طبق

يتم حساب العدد في 1 مليلتر من العينة بحساب حاصل ضرب متوسط عدد المستعمرات البكتيرية للأطباق في معامل التخفيف وتحسب كوحدة تكوين المستعمرات.

مثال

حجم العينة الذي تم سكبه في طبقين كان 1 مليلتر وكان عدد المستعمرات البكتيرية النامية 115 و 145 مستعمرة.

115 مستعمرة + 145 مستعمرة

———————— X 10(معامل التخفيف) = 1300 وحدة تكوين المستعمرات.

2 طبق

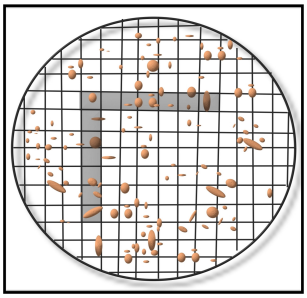
- أكثر من 300 مستعمرة / طبق

إذا تجاوز عدد المستعمرات البكتيرية النامية 300 مستعمرة فقم بعدّ الأطباق التي يكون عدد المستعمرات البكتيرية الناميه قريب من 300 مستعمرات.

في حال تجاوز عدد المستعمرات البكتيرية في الطبق 300 مستعمرة بدلاً من أن يتم التعليق على النتائج بأنها تحتوى على أعداد لايمكن عدّها (TMTC) فيتم عدّ الأطباق كالتالي:

- أقل من 10 مستعمرات / سم^2

في هذه الحالة يتم عدّ 13 مربع بحيث تكون ذات توزيع ممثل للعينة ويتم ذلك إن أمكن بإختيار 7 مربعات في خط أفقي و 6 مربعات أخرى في خط عمودي مع جمع عدد المستعمرات النامية في هذه المربعات وضرب حاصل عملية الجمع في 4.38 عند التعامل مع طبق 57 سم^2 (الاطباق البلاستيكية الكبيرة). أما عند التعامل مع الأطباق الزجاجية ذات قطر 65 سم^2 فيتم ضرب حاصل جمع الأطباق في 5 وذلك لتحديد وحدة تكوين المستعمرات لكل 1 مليلتر.



- أكثر من 10 مستعمرات / سم^2

في هذه الحالة يتم عدّ 4 مربعات تكون ذات توزيع ممثل للعينة مع جمع عدد المستعمرات البكتيرية النامية في هذه المربعات وقسمة حاصل عملية الجمع على 4 وذلك للحصول متوسط عدد العدد المستعمرات البكتيرية لكل طبق ثم يضرب حاصل قسمة هذه العملية في 56 للأطباق ذات قطر 65 سم^2 أو يضرب في 57 عند التعامل مع الأطباق ذات قطر 57 سم^2 ولتحديد معدل وحدة تكوين المستعمرات لكل مليلتر من العينة أوجد حاصل ضرب متوسط عدد المستعمرات البكتيرية لكل طبق في 1000. حيث أن العدد 1000 يمثل معامل التخفيف لـــ 0.1 مليلتر من العينة المخففة وهو الحجم المناسب للعينة التي يُعتقد أنها تحتوى على عدد كبير من المستعمرات البكتيرية.

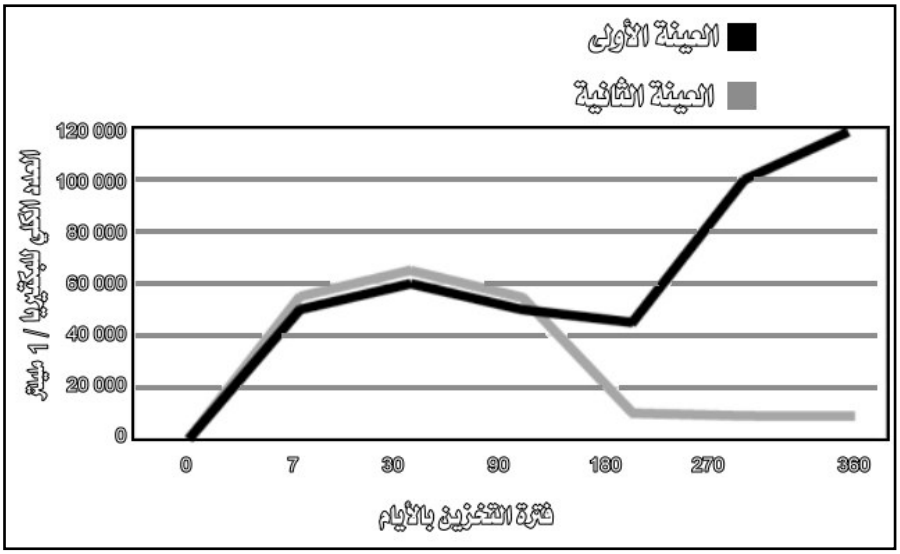
المياه المعبأة

يُقصد بالمياه المعبأة جميع أنواع المياه التي تمّ حفظها في قنينات زجاجية أو بلاستيكية أوعلب ألومنيوم أو أكياس بلاستيكية لغرض الاستهلاك الآدمي سواء كانت مياهاً جوفية أوسطحية أو مياه شبكة التوزيع، فلقد أدَّى إزدياد عدد السكان المتطرد والتقدم في مجالات الزراعة والصناعة إلى الطلب المتزايد على المياه الصالحة للشرب مما أدّى إلى ضرورة التفكير في توفيرها بشتى السبل فكان التفكير في معالجة مياه الصرف الصحي لاستعمالها في الزراعة والصناعات غير الغذائية ومعالجة المياه المتوفرة للوصول بها إلى أعلى درجات الجودة لضمان استهلاكها الاستهلاك الحضري كما أن المدنية وارتفاع معدلات الإصابة بالأمراض الناتجة من استهلاك المياه الملوثة جعلت من مبدأ استهلاك المياه المعبأة أمراً شائعاً، فلقد بدأ المستهلك يفضل اقتناء مياهاً معبأة لاعتقاده بأنها مياه آمنة ومفيدة للصحة بالاضافة لِحُسن مذاقها إلا أن هذه الصفة قد لاتكون متوفرة في جميع أنواع المياه المعبأة المعروضة في السوق، كما يعتقِد العديد من الناس أن للمياه المعدنية الطبيعية خصائص علاجية وأنها توفر فوائد صحية، إلا أنَّها قد تحتوي على تركيزات من المعادن أعلى من النسب المسموح بتواجدها في مياه الشرب.

تعبئة المياه جعلت من السهل التحكم في مواصفاتها وخصائصها الأمر الذي لايمكن القيام به عند معالجة مياة شبكة التوزيع إلا أن هناك بعض المواد يصعب التحكم فيها في المياه المعبأة حيث أن هذه المياه قابلة للتخزين لفترات طويلة مما قد يُعرضها لدرجات حرارة متفاوتة، فعلى سبيل المثال بعض الأجناس البكتيرية التي ليس لها أي أهمية من الناحية الصحية إذا ماتواجدت في مياه شبكة التوزيع يجب أن لاتتواجد في المياه المعبأة، لأنها قد تتضاعف عددياً لتصل إلى حدود غير مرغوب فيها فتسبب في تلوث المياه وإكسابها مظهر غير صحي، ففي إحدى الدراسات التي أجريت على عينتين من المياه المعدنية تبين أن العدد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية يمكن أن يزداد في الإسبوع الأول من التخزين في درجة حرارة مرتفعة بمعدل 1000 مرة أو أكثر وذلك نتيجةً لِعدم وجود أي نسبة من المطهر الحر المتبقي ولوحظ أن هذا النمو سيكون بنسبة أقل في المياه الغازية إذا ماقورنت بالمياه الطبيعية وأيضاً أقل في المياه المعبأة في القنينات الزجاجية من المياه المعبأة في القنينات البلاستيكية أو المعدنية بالتالي فإنه من الضروري وضع

مواصفات خاصة بهذه النوعية من المياه نظراً لأهميتها من الناحية الصحية، فمن الأشخاص المعرضين لخطر الإصابة الناتجة من تناول المياه المعبأة التي قد تكون ملوثة على سبيل المثال الأطفال الرضع والحوامل والعجزة ومرضى زراعة الأعضاء ومرضى العوز المناعي،....إلخ. وذلك نظراً لوجود نقص أو خلل في الجهاز المناعي عليه يجب أن يتم غلي المياه المعبأة لمدة دقيقة قبل تناولها.

تتم معالجة المياه غير الطبيعية قبل تعبئتها بعدة طرق مثل: الكربنة والكلورة والترشيح والأوزون والأشعة فوق البنفسجية لضمان خلوها من الجراثيم الممرضة مع ضرورة توضيح طريقة المعالجة على غلاف العبوة، أما المياه الطبيعية فيمكن معالجتها باستعمال الترشيح والأشعة فوق البنفسجية بما لايؤثر على محتواها الكيميائي.



دراسة تأثير التخزين على المحتوى البكتيري لعينيتين من المياه المعدنية المعبأة

هناك العديد من الجائحات التي تم رصدها نتيجة تناول المياه الملوثة من بينها الجائحة التي حدثت في البرتغال سنة 1974 حيث أصيب فيها حوالي 2.467 شخص من بينهم عدد 82 شخصاً تناولوا مياهاً معدنية معبأة ملوثة حيث كان مصدر المياه التي تمت تعبئتها ملوثاً بالبكتيريا *فيبريو كوليرا* مما ساهم في انتشار هذ الوباء حيث توفى منهم 48

شخصاً إلا أن الإصابات التي تحدث نتيجة تناول المياه المعبأة الملوثة غالباً ما تكون أخف حدة والشفاء يكون تلقائي Self limited. كما رصد مركز مكافحة الأوبئة CDC عدداً كبيراً من الجائحات منها جائحة الكوليرا التي أصابت حوالى 1994 شخص في سنة 1996 حيث تم إيواء 4 أشخاص نظراً لسوء حالتهم الصحية وذلك نتيجة تناولهم مياهاً معبأة من مياه شبكة التوزيع الملوثة.

جدول يوضح كمية الإنتاج ومعدل استهلاك الشخص من المياه المعبأة في بعض مناطق العالم

المنطقة / السنة	كمية الإنتاج(مليون لتر)				نسبة الاستهلاك للشخص (لتر)			
	2000	2001	2002	2003	2000	2001	2002	2003
أفريقيا والشرق الأوسط	8,720	9,200	11,220	12,400	9	9	10	11
أسيا	19,990	24,030	30,100	33,465	6	7	9	10
أستراليا	740	850	650	695	33	37	33	35
كندا	820	920	1,310	1,490	26	29	41	47
أوروبا الشرقية	6,010	6,770	8,330	9,500	15	17	21	24
أمريكا اللاتينية	25,150	26,950	26,060	27,050	50	53	50	51
أمريكا الشمالية	22,20	24,414	23,803	24,436	67	74	85	90
أوروبا الغربية	36,350	38,210	39,970	44,020	93	97	102	112
الإجمالي	**119,800**	**131,344**	**141,443**	**153,083**				

Source: Zenith International and * Beverage Marketing Corporation

الحدود المسموح بها:

*** المواصفة القياسية الليبية لمياه الشرب المعبأة رقم (10 لسنة 1997)**

- يجب أن تكون خالية من الأحياء الدقيقة بأنواعها المختلفة وكذلك السموم.
- يجب أن تكون خالية من البكتيريا القولونية.

*** المواصفة الكندية لمياه الشرب المعبأة خلال 24 ساعة من التعبئة لسنة 2000**

	عدد العينات	الحدود مسموح بها
العدد الكلي للبكتيريا	**5**	10^2 / مليلتر – 10^4 / مليلتر
إيشيريشيا كولاي	**5**	0 / 100 مليلتر
البكتيريا القولونية	**5**	0 – 10 وحدة تكوين المستعمرات / 100 مليلتر
إيروموناس هيدروفيلا	**5**	0 / 100 مليلتر
سيدوموناس إيروجينوزا	**5**	0 / 100 مليلتر
***ستربيتوكوكس* الغائطية**	**5**	0 / 100 مليلتر
كلوستريديا المختزلة للكبريت	**5**	0 / 100 مليلتر

- **طريقة الكشف عن البكتيريا القولونية في المياه المعبأة:**

- يُفضل أن يكون حجم العينة 100 مليلتر.

- عند تخزين العينة لمدة أكثر من ساعتين يتم تخزينها في درجة حرارة أقل من 5 درجات مئوية مع مراعاة عدم تجميدها كما يجب عدم تخزين العينة لأكثر من 24 ساعة.

- لاداعي لتخفيف العينة.

- يتم تحليل عدد 5 عينات لكل وردية عمل.

  - **الاختبار الافتراضي**

- يتم استعمال 5 أنابيب اختبار تحتوي على 10 مليلتر من الوسط الغذائي Lauryl sulfate tryptose broth المضاعف التركيز مع وجود إنبوبة دورهام مقلوبة في كل إنبوبة ليضاف إليها فيما بعد 10 مليلتر من العينة غير المخففة.

- واستعمال 5 أنابيب اختبار تحتوي على 5 مليلتر من الوسط الغذائي Lauryl sulfate tryptose broth أحادي التركيز مع وجود أنبوبة دورهام مقلوبة في كل إنبوبة ليضاف إليها فيما بعد 1 مليلتر من العينة غير المخففة.

- واستعمال 5 أنابيب اختبار أخرى تحتوي على 5 مليلتر من الوسط الغذائي Lauryl sulfate tryptose broth أحادي التركيز مع وجود أنبوبة دورهام مقلوبة في كل إنبوبة ليضاف إليها فيما بعد 0.1 مليلتر من العينة غير المخففة.

- بعد رج الأنابيب والتأكد من خلو أنابيب درهام من فقاعات الهواء يتم تحضين المجاميع الثلاثة في درجة حرارة 35 درجة مئوية ± 0.5 لمدة 24 (± 2) ساعة ليتم فحص الأنابيب عن تكون الغاز (فقاعات الهواء).

- الأنابيب التي لم تُظهر نتيجة موجبة خلال اليوم الأول يُعاد تحضينها لمدة 24 (± 2) ساعة إضافية، ليتم بعد ذلك تسجيل عدد الأنابيب الموجبة وحساب العدد الأكثر احتمالاً لكل 100 مليلتر من العينة من الجدول.

- يتم اعتبار النتيجة سالبة إذا لم يتكون الغاز بعد 48 ساعة من التحضين.

○ الاختبار التأكيدي

- يتم استعمال أنابيب اختبار تحتوي على 10 مليلتر من الوسط الغذائي Brilliant green lactose 2% bile broth ليتم حقنها بمقدار ماتحتويه إبرة التلقيح لكل الأنابيب الموجبة في الاختبار الافتراضي.

- تُرج الأنابيب جيداً كما في الاختبار الافتراضي بعد ذلك تحضين الأنابيب في درجة حرارة 35 درجة مئوية ± 0.5 لمدة 24 (± 2) ساعة، ليتم فحص الأنابيب عن تكون الغاز (فقاعات الهواء) ويعتبر تكون الغاز بعد 48 ساعة نتيجة موجبة.

- يتم تسجيل عدد الأنابيب الموجبة وحساب العدد الأكثر احتمالاً لكل 100 مليلتر من العينة من الجدول.

❖ التعليق على النتائج

- تعتبر العينات خالية من البكتيريا القولونية إذا ماتم تحديد وجود البكتيريا القولونية فقط في عينة واحدة من أصل 5 عينات التي تم تحليلها على أن لايزيد العدد عن 10 وحدات لتكوين المستعمرات في 100 مليلتر من المياه المعدنية.

- **طريقة الكشف عن العدد الكلي للبكتيريا غير ذاتية التغذية في المياه المعبأة:**

- يُفضل أن يكون حجم العينة 100 مليلتر.

- عند تخزين العينة لمدة أكثر من ساعتين يجب أن يتم حِفظها في درجة حرارة أقل من 5 درجات مئوية مع مراعاة عدم تجميدها كما يجب عدم تخزين العينة لأكثر من 24 ساعة.

- يتم تخفيف العينة حوالي 1:10 وذلك بنقل 10 مليلتر من عينة المياه إلى قنينة تحتوي على 90 مليلتراً من محلول التخفيف.

- يتم رجّ القنينة حوالي 25 مرة في مجال محدد بحوالي 30 سنتيمتراً لمدة حوالي 7 ثواني.

- يتم بعد ذلك إعداد سلسلة التخفيفات المطلوبة وذلك بنقل 10 مليلتر من هذه القنينة إلى قنينة أخرى تحتوي على 90 مليلتراً من محلول التخفيف باستعمال ماصة معقمة لكل عملية نقل.

- يجب مراعاة رجّ القنينة جيداً قبل عملية النقل لضمان التوزيع المتجانس للبكتيريا في العينة المنقولة.

الطريقة

- يتم وضع 1 مليلتر من العينة غير المخففة في عدد 2 طبق بثري لكل تخفيف.

- يضاف حوالي 12 – 15 مليلتر من الوسط الغذائي المذاب، علي أن لاتزيد درجة حرارته عن (40 – 45 درجة مئوية) مع تحريك الأطباق لمزج العينة مع الوسط الغذائي ومراعاة عدم تجاوز الفترة الزمنية الفاصلة بين إعداد التخفيفات واضافة الوسط الغذائي المُذاب عن 15 دقيقة.

- بعد تجميد الوسط الغذائي يتم تحضين الأطباق لمدة 48 – 72 ساعة في درجة حرارة 35 درجة مئوية.

- بعد انقضاء فترة الحضانة يتم إختيار الأطباق التي تُظهر نمواً يتراوح مابين (20 – 200) مستعمرة بكتيرية لعدها.

- لتحديد العدد يتم حساب متوسط عدد المستعمرات البكتيرية النامية في الطبقين لكل تخفيف على حدة.

- ويتم تدوين النتائج بتقريب الأعداد إلى أقرب عدد عشري، فعلى سبيل المثال (2.850) تُقرب لتصبح (2.900).

❖ الحدود المسموح بها

- يجب أن لايزيد العدد عن 100 مستعمرة بكتيرية لكل 1 مليلتر في عينتين من أصل 5 عينات تم تحليلها وأن لايساوي العدد 10,000 مستعمرة بكتيرية في أي عينة لكل وردية عمل.

الكشف عن البكتيريا *سيدوموناس إيروجينوزا* باستعمال طريقة الترشيح الغشائي

- عند تخزين العينة لمدة أكثر من ساعتين يتم حِفظها في درجة حرارة ما بين 2 – 8 درجات مئوية مع مراعاة عدم تجميدها، كما يجب عدم تخزين العينة لأكثر من 24 ساعة.

- يتم رجّ القنينة حوالي 25 مرة في مجال حوالي 30 سنتيمتر لمدة حوالي 7 ثواني وإجراء التخفيفات اللازمة.

- يتم ترشيح مقدار محدد من العينة باستعمال جهاز الترشيح الغشائي.

- تنقل ورقة الترشيح على الوسط الغذائي *Pseudomonas* agar والذي يحتوي على cetrimide و nalidixic acid.

- يوضع الطبق في الحاضنة عند درجة حرارة 37 ±1 درجة مئوية لمدة 22 ± 2 ساعة.

- يتم عدّ المستعمرات البكتيرية النامية (الخضراء أو الزرقاء أو البنية المحمرة) وتلك التي تظهر لوناً لاصفاً عند استعمال مصباح الأشعة فوق البنفسجية مع مراعاة تعريض هذه المستعمرات لضوء الشمس لتحفيز تكون الصبغة.

- يتم نقل المستعمرات البكتيرية التي لم تظهر اللون المميز إلى الوسط الغذائي Milk cetrimide agar لتحضينها من جديد في درجة حرارة 37 ±1 درجة مئوية لمدة 22 ± 2 ساعة.

- بعد انقضاء فترة التحضين يتم إجراء اختبار تحلل الكازين Casein hydrolysis ومدى إنتاج الصبغة أو امكانية ظهور اللون اللاصف عند استعمال مصباح الأشعة فوق البنفسجية مع إجراء اختبار الأوكسيداز.

❖ التعليق على النتائج

- يتم حساب العدد الافتراضي كالتالي:

$$\text{العددالافتراضي} = \frac{\text{عدد المستعمرات البكتيرية النامية}}{\text{حجم العينة}} \times 100$$

- عِدّ المستعمرات البكتيرية التي تم التأكد من أنها البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا* وتدوين النتيجة كالتالي:

عدد المستعمرات المعزولة / 250 مليلتر من العينة.

اختبارات التعرف على البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*

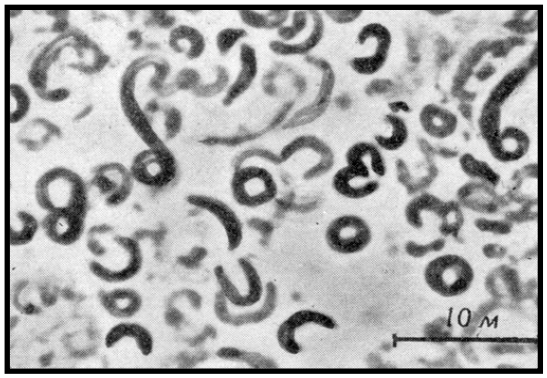
لون المستعمرة البكتيرية على الوسط الغذائي CN agar	اختبار الأوكسيداز	اللون اللاصف على الوسط الغذائي Mc agar	تحلل الكازين في الوسط الغذائي Mc agar	التأكد من أنها البكتيريا *سيدوموناس ايروجينوزا*
لون أزرق أو أخضر				نعم
لون لاصف مع عدم وجود صبغة	+	+	+	نعم
لون بني محمر وغير لاصفة	+	+	+	نعم

عزل البكتيريا المختزلة للكبريت من عينات المياه أوالطمي بطريقة التخفيف المتسلسل

SULPHUR REDUCING BACTERIA

تصنف البكتيريا المختزلة للكبريت ضمن مجموعة البكتيريا ذاتية التغذية كيميائياً Chemoautotrophic وهي عبارة عن مجموعة من البكتيريا لاهوائية إجبارياً ولها القدرة على اختزال الكبريت إلى حمض الكبريتيك وتتواجد في البيئات المختلفة كالتربة والطمي ومياه الصرف الصحي حيث تتواجد كميات كبيرة من الكبريت. ولهذه المجموعة البكتيرية تأثير على الأنابيب الناقلة للمياه حيث تتسبب في إحداث الصدأ وإكسَّاب مياه شبكة التوزيع طعماً ورائحة غير مرغوب فيهما، كما يمكن أن ينتج عن تكوينها لمركب كبريتيد الهيدروجين مشاكل صحية كبيرة.

يتم تنمية هذه المجموعة البكتيرية في الوسط الغذائي Modified Starkey's أو الوسط الغذائي Medium A كما يمكن استعمال الوسط الغذائي API RP-38 medium وجميع هذه الأوساط الغذائية تحتوي على مصدر للكربون وأملاح غير عضوية وعامل مختزل وحيث أن الأوساط الغذائية الصلبة ليس لها القدرة على تحديد عدد البكتيريا المتواجده بدقة فإنه يُنصح باستعمال الأوساط الغذائية السائلة لهذا الغرض. ومن أهم أجناس هذه البكتيريا الجنس البكتيري *ديسالفوفيبريو Desulfovibrio* والجنس البكتيري *ديسالفوتوماكيولوم Desulfotomaculum* .



خلايا البكتيريا *ديسالفوفيبريو* واوية الشكل

من أهم صفات الجنس البكتيري *ديسالفوفيبريو* أنها بكتيريا سالبة لصبغة غرام، واوية الشكل غير مكونة للأبواغ ويتراوح حجمها مابين (2.5 – 1.0 ميكرومترطولاً، 0.5 – 1.5 ميكرومتر عرضاً) وتحتوي على سوط متواجد على قطب الخلية البكتيرية مما يجعلها بكتيريا متحركة، كما تتميز البكتيريا *ديسالفوتوماكيولوم* بأنها بكتيريا سالبة لصبغة غرام، ويتراوح حجمها مابين (3 – 9 ميكرومترطولاً ، 0.3 – 1.5 ميكرومتر عرضاً) وتُكون أبواغ تتواجد عند نهاية أو بالقرب من نهاية الخلية البكتيرية بقليل.

- **عينة الماء:**

يتم الاختبار بإعداد عدد 6 قنينات تحتوي على أحد الأوساط الغذائية سالفة الذكر (يعتمد عدد القنينات على العدد المتوقع تحديده) وباستعمال إبرة (needle & syringe) يتم حقن 1 مليلتر من العينة من خلال ثقب في الغطاء وتُرج القنينة ليمتزج الخليط وباستعمال إبرة أخرى يتم نقل 1 مليلتر من القنينة الأولى إلى القنينة الثانية بنفس الطريقة وترج القنينة الثانية ويتواصل الاختبار بنفس الكيفية مع بقية القنينات لتجهيز التخفيفات اللازمة. وإذا تَطلّبَ الأمر يُمكن مضاعفة عدد القنينات للحصول على تخفيفات مضاعفة وذلك باتباع نفس الخطوات.

عينة الطمي:

يتم الاختبار بإعداد 6 قنينات تحتوي على أحد الأوساط الغذائية سالفة الذكر (يعتمد عدد القنينات على العدد المتوقع تحديد وجوده في العينة)، يُنزع غطاء القنينة الأولى ويُضاف إليها مقدار معلوم الحجم أو الوزن من الطمي وترج القنينة على الفور بعد إعادة الغطاء حتى تتفتت كتل الطمي وتتوزع بتجانس في القنينة، وباستعمال إبرة (needle & syringe) يتم حقن 1 مليلتر من العينة من خلال الغطاء وتُرج القنينة ليمتزج الخليط وباستعمال إبرة أخرى يتم نقل 1 مليلتر من القنينة الأولى إلى القنينة الثانية بنفس الطريقة وترجّ القنينة الثانية ويتواصل الاختبار بنفس الكيفية مع بقية القنينات لتجهيز

التخفيفات اللازمة. وإذا تَطلّبَ الأمر يُمكن مضاعفة عدد القنينات للحصول على تخفيفات مضاعفة وذلك باتباع نفس الخطوات.

بعد تجهيز التخفيفات يتم تحضينها في درجة حرارة ما بين 20 – 30 درجة مئوية لمدة تصل إلى 28 يوماً على أن يتم فحص هذه القنينات من وقت لآخر لملاحظة تكون اللون الأسود أو تكون الراسب الأسود خلال هذه المدة وفي الغالب فإن هذه النتيجة ستظهر في خلال 14 يوماً، ويتم حساب عدد المستعمرات البكتيرية النامية من خلال القنينة الموجبة وأعلى تخفيف. **على سبيل المثال:** إذا احتوت الأنابيب الأربعة الأولى من التخفيفات على اللون الأسود أو الراسب الأسود عندها يقدر عدد المستعمرات البكتيرية المختزلة للكبريت المتواجدة في العينة بحوالي 10^3 / مليلتر من العينة (حوالي 1000 مستعمرة لكل 1 مليلتر من العينة) وإذا ما احتوت الأنابيب الستة المستعملة على اللون الأسود أو الراسب الأسود عندها يقدر عدد البكتيريا المتواجدة بـــأكثر من أو يساوي 10^5 في 1 مليلتر من العينة (أي حوالي 100,000 مستعمرة لكل 1 مليلتر من العينة) وعند استعمال العدد المضاعف من قنينات التخفيف يتم حساب العدد بحساب المدى بين أعلى تخفيف يُظهر تكون اللوّن الأسود أو الراسب الأسود وأقل تخفيف لايُظهر تكوّن اللون أو الراسب الأسود ويُعبّر عن العدد المُتحصل عليه بوجوده في 1 مليلتر من العينة.

تحديد وجود البكتيريا المُرَسِّبة للحديد باستعمال طريقة الأوساط المُغذِّية وطريقة المجهر الضوئي

IRON RELATED BACTERIA

تنقسم مجموعة البكتيريا المُرسبة للحديد إلى عدة أقسام وذلك حسب الشكل الظاهري لخلاياها فهناك عدة أنواع مختلفة الشكل:

- البكتيريا غشائية الشكل

- *ليبتوثريكس Leptothrix*
- *كرينوثريكس Crenothrix*
- *كلونوثريكس Clonothrix*

- البكتيريا متبرعمة الشكل

- *جاليونيلا Gallionella*
- *بيدوميكروبيوم Pedomicrobium*

- البكتيريا السالبة لصبغة غرام

- *سايدروكابسا Siderocapsa*
- *أوكروبيوم Ochrobium*
- *ثيوباسيلاس Thiobacillus*

عند تنمية هذه المجموعة البكتيرية في الوسط الغذائي W-R medium فإنها ستُظهر زَبَداً أو غِشاء بنياً رقيقاً على سطح الوسط الغذائي، وغالباً مايتغير لون الوسط الغذائي إلى اللون الأصفر الغامق أو البني. ومن المعلوم أن الأجناس البكتيرية المُرسِبة للكبريت تتحصل على الطاقة من عملية أكسدة الحديدوز إلى حديديك مما ينتج عن ذلك

ترسب هيدروكسيد الحديديك ويُكسِب المياه اللون الأحمر ورائحة غير مرغوب فيها، ويكون مصدر الحديد إما الأنابيب الناقلة أو مصدر المياه الرئيسي، ومن أهم الأنواع التي لها القدرة على ترسيب الحديد عن طريق عملية الأكسدة ما يلي:

- جاليونيلا *Gallionella*
- ليبتوثريكس *Leptothrix*
- سايدروكابسا *Siderocapsa*
- كرينوثريكس *Crenothrix*

وهناك أنواع بكتيرية أخرى لها القدرة على ترسيب الحديد بدون عملية أكسدة ومثال على ذلك:

- كليبسيلا *Klebsiella*
- إنتيروباكتير *Enterobacter*
- كورينيباكتيريوم *Corynebacterium*
- سيراتيا *Serratia*
- كولباكتير *Caulbacter*
- باسيلاس *Bacillus*

استعمال الوسط الغذائي المُحَضَر حديثاً (Fresh Medium):

يتم في هذا الاختبار تحضير تركيز مُضاعف من الوسط الغذائي modified R-W medium بأحجام تُلائم حجم العينة المراد تحليلها وهو (10 – 25 مليلتراً) في إنبوبة اختبار مُحْكَمَة الغلق (ذات سعة 50 – 100 مليلتر) حسب حجم العينة المراد اختبارها ويجب أن يكون حجم القنينة أكبر من حجم العينة المراد اختبارها حتى يتسنى مزج الخليط.

استعمال الوسط الغذائي المُجَفِف (Dried medium):

يتم هذا الاختبار باستعمال حجم معلوم من العينة الذي غالباً مايكون 15 مليلتر تُضاف إلى قنينة تحتوي على الوسط الغذائي modified W-R medium المُجَفِف وبتركيز مضاعف لحوالي 20 مرة ويُرَج الخليط جيداً مع ضرورة التأكد من ذوبان كامل الوسط الغذائي المُجَفّف ويعتمد حجم القنينة على حجم العينة المراد اختبارها فمثلاً: إذا كان حجم العينة 20 مليلتراً فذلك يَتَطلب 1 مليلتر من الوسط الغذائي modified W-R medium المضاعف لحوالي 20 مرة و 1.25 مليلتر من الوسط الغذائي modified W-R medium المضاعف لحوالي 20 مرة لتحليل 25 مليلتر من العينة بعد ذلك تُحضّن القنينة في درجة حرارة 22 درجة مئوية لمدة تصل إلى 7 أيام وقد تصل إلى 30 يوم إن تَطلّب الأمر على أن يتم فحص هذه القنينات من وقت لآخر لملاحظة تكون الزَبَد أو الغِشاء البني الرقيق على سطح الوسط الغذائي مع ضرورة اضافة قنينة تحتوي على الوسط الغذائي مُضافاً إليه ماءاً مُعقّم للتأكد من كفاءة الوسط الغذائي المُستعمل.

يدل تكوّن الزَبَد أو الغِشاء البني الرقيق على وجود البكتيريا المُرسِبة للحديد وغالباً ما يُصاحِب ذلك ظهور اللون الأصفر الغامق أو البني، وفي بعض الحالات قد يظهر نمو بني اللون لزج القوام في قعّر القنينة وذلك في غياب المستعمرات البكتيرية المُرسبة للحديد، قد يتحول لون الوسط الغذائي إلى الأخضر كنتيجة للأكسدة الذاتية ويتم التأكد من أن هذا اللون غير ناتج من وجود البكتيريا المُرسِبة للحديد تتم مقارنتها بالقنينة التي تحتوي على الوسط الغذائي والماء المُعَقّم.

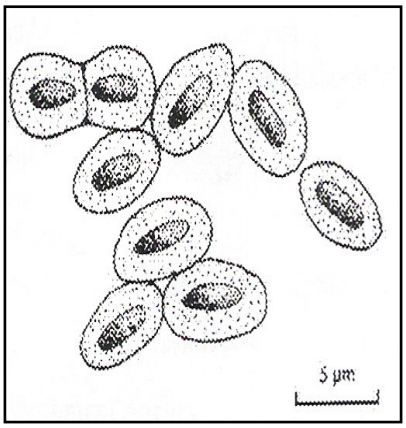
اللون الأحمر للمياه

صدأ الأنابيب

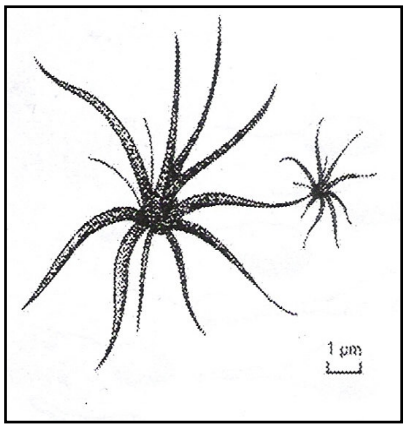
تحليل عينة الراسب:

في العديد من الحالات يُمكِن باستعمال المجهر الضوئي تحديد وجود المستعمرات البكتيرية المُرسِبة للحديد وهذا مايمكن تطبيقه على العينات غير العكرة حيث يتم وضع العينة في جهاز الطرد المركزي أو أن تُترك العينة لمدة يوم حتى تترسب الخلايا قبل إجراء الفحص، ويتم بعد ذلك سحب الراسب باستعمال ماصة باستير ووضعه على الشريحة الزجاجية وتُغَطى الشريحة بغطاء الشريحة (Cover slip) ليتم فحصها باستعمال العدسة الشيئية ذات تكبير 400 – X1000 مع تعديل الحجاب القزحي، وسيكون من السهل تحديد وجودها إذا ما تم صبغ العينة بالحبر الهندي India Ink أو Lactophenol blue قبل فحصها بالمجهر الضوئي. وإذا احتوت العينة على أجسام غريبة يتم تنقيتها باستعمال ورقة ترشيح (ذات مسامات بحجم 0.45 ميكرومتر) وتُجَفف الشريحة بعد ذلك بوضعها على ورق نشاف، بعد ذلك يضاف إليها زيت الغمر immersion oil وتفحص بالعدسة الشيئية ذات تكبير X1000.

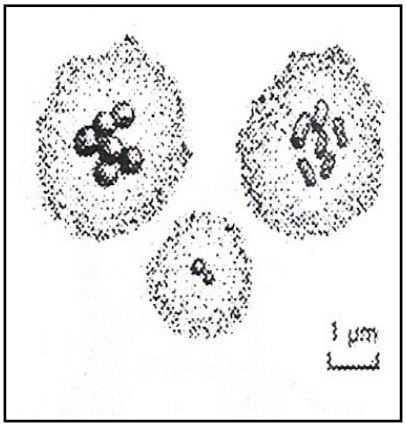
إن وجود الراسب بكمية كبيرة قد يُغَطِي على المستعمرات البكتيرية المُرسِبَة للحديد ويجعل من الصعب تحديد تواجدها، ويمكن تجاوز هذه المُعضلة بإذابة راسب الحديد في حمض الهيدروكلوريك المُخَفف، حمض الأوكساليك وذلك بوضع قطرات قليلة من حمض الهيدروكلوريك المُخَفف (molar 1) أو حمض السيتريك (0.5 – 1 % m/v) بوضع القطرات على أحد طرفي غطاء الشريحة وفي الجهة الأخرى من غطاء الشريحة يتم وضع ورق نشاف لسحب المحلول وتتبقى الخلايا والخيوط الخلوية مع أن حمض الستريك لايؤثر على الخلايا البكتيرية إلا أن تأثيره على ازالة راسب الحديد ضعيف.



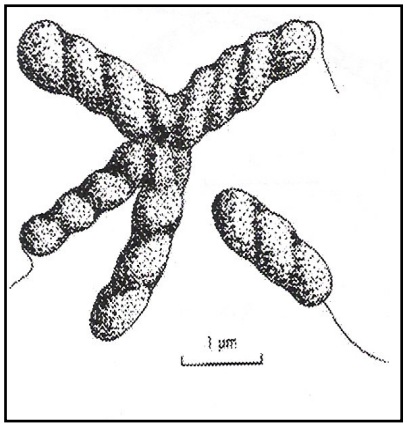
أوكروبيوم



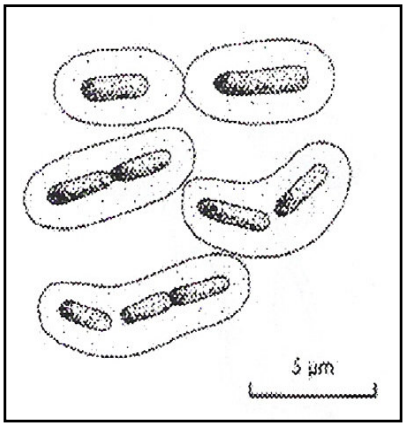
ميتالوجينيوم



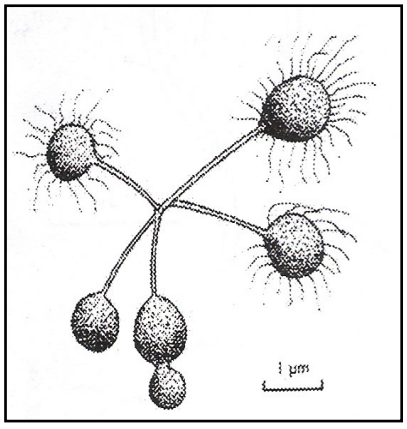
سايديروكابسا



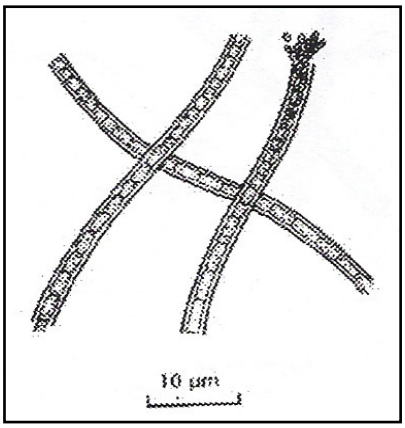
سيليبريا



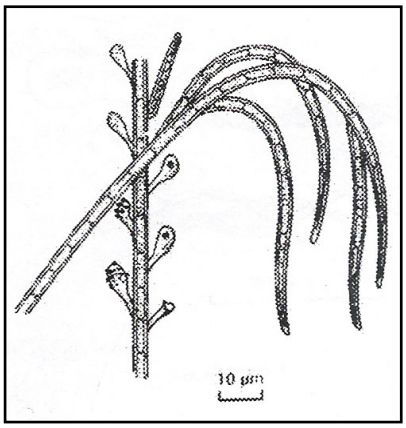
نومانيلا



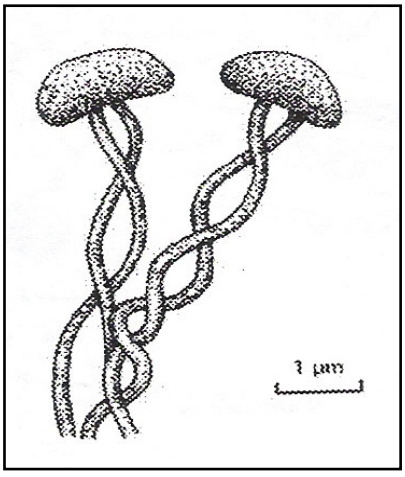
بلانكتومايسيز



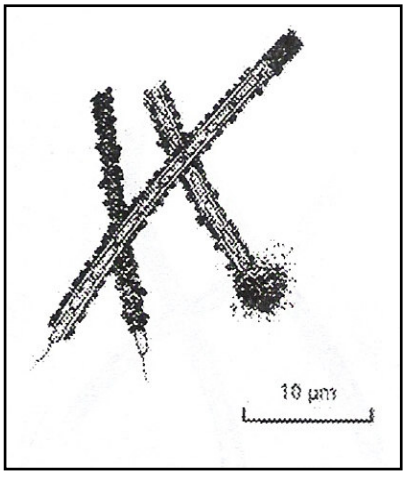
كرنوتريكس



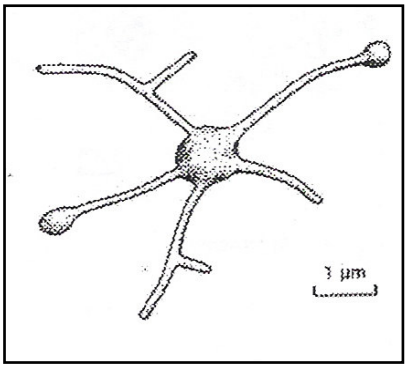
كلونوتريكس



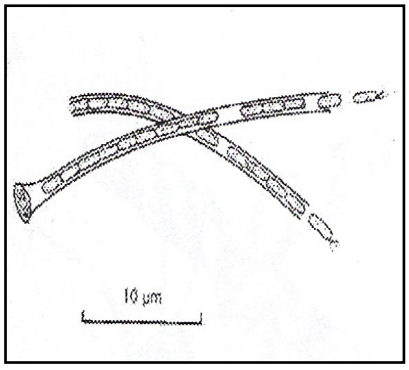
جاليونيلا



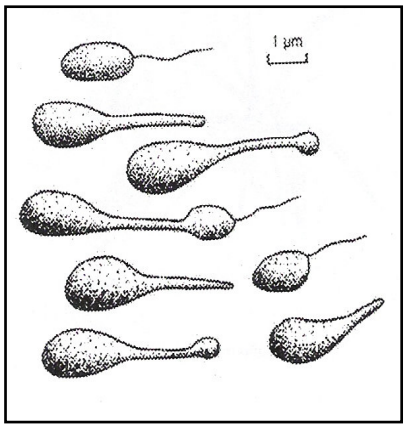
ليبثوتريكس



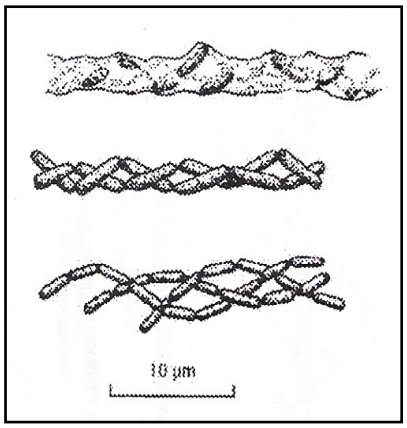
بيدومايكروبيوم



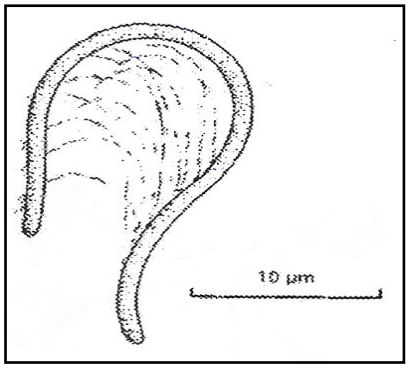
سفائيروتيلوس



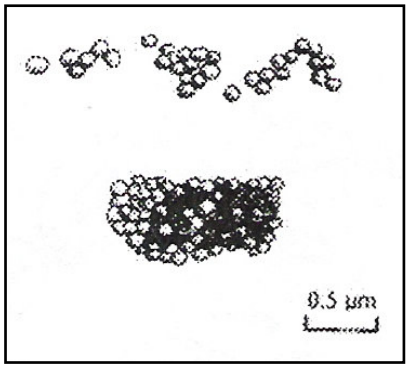
هايفومايكروبيوم



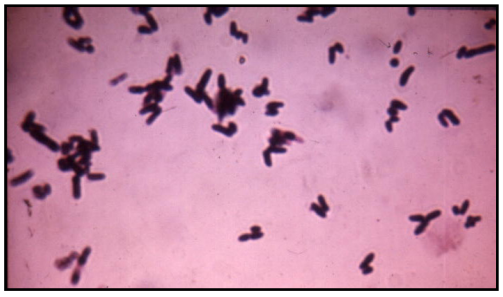
ليسكسيللا



توكسوتريكس



سايديروكوكس



كورينيباكتيريوم

الطريقة البيولوجية للتخلص من النترات في مياه الشرب

BIOLOGICAL DENITRIFICATION OF DRINKING WATER SUPPLY

تم التعرف على تاثير النترات في مياه الشرب مع بداية أربعينات القرن الماضي وتحديداً مع استعمال الأسمدة الكيميائية التي تعتمد على الأمونيا المجففة وأصبحت مشكلة تلوث المياه مشكلة عالمية تعاني منها العديد من الدول وذلك نظراً للاستعمال الشائع للأسمدة الكيميائية. الآن وبعد مرور وقت طويل على استعمال هذه الاسمدة أصبحت مشكلة تلوث المياه الجوفية من الأمور الشائعة عالمياً ومن خلال بعض الدراسات تم تقدير كمية الأسمدة التي تُطرح في الأرض بحوالي 8 مليون رطل وهذا أكثر مما كان يُستعمل في السابق، وفي نهاية الأمر فإن أغلب هذه الكمية ستصل إلى المياه الجوفية حيث يتحول النيتروجين إلى نترات. على سبيل المثال تم تقدير حوالي 8.9 مليون مستهلك ممن يعيشون في ولاية كاليفورنيا يستهلكون مياهاً تحتوي على تركيز عالٍ من النترات يفوق الحدود المسموح بها من قبل وكالة البيئة الأمريكية وهو 10 ميليغرام لكل لتر على هيئة نيتروجين.

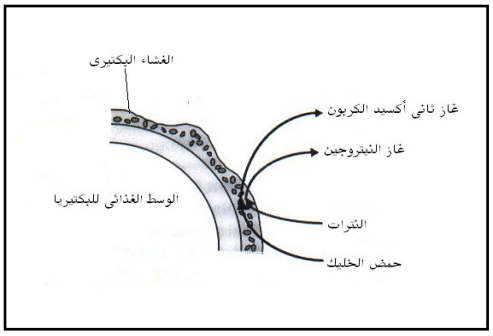
هناك العديد من الطرق تُستعمل للتخلص من النترات إلا أنها مكلفة من الناحية المالية وأصبحت الحاجة مُلِحة للتفكير في طرق بديلة لحل هذه المشكلة والتخلص من النترات والمشاكل الصحية التي تسببها، ففي كاليفورنيا خلال سنة 1997 تم التفكير في طريقة غير تقليدية للتخلص من النترات المتواجدة في مياه الشرب، تعتمد هذه الطريقة على استعمال الجراثيم البكتيرية غير الضارة، مع العلم بأن هناك عدة طرق تقليدية كانت تستعمل للتخلص من النترات مثل: طريقة التبادل الأيوني Ion exchange وطريقة الغسيل الألكتروني Electrodialysis وطريقة التناضح العكسي Reverse osmosis وهذه الطرق فعّالة للتخلص من النترات إلا أن لها آثاراً سلبية تحدّ من استعمالها ومن أهم الآثار السلبية المترتبة عليها أن مياه التصريف الناتجة تحتوي على نسبة عالية من الأملاح

يصعب التخلص منها حيث أنها ستشكل خطراً على البيئة بالاضافة إلى صعوبة التشغيل، من هنا كان لعملية التخلص من النترات بالطريقة الحيوية دورٌ هامٌ حيث أنها سهلة التشغيل ولايترتب عنها إنتاج المحلول الملحي حيث أن كمية المياه الداخلة تساوي نفس كمية المياه الخارجة بعد عملية المعالجة.

تعتمد طريقة التخلص من النترات حيوياً على استعمال جراثيم بكتيرية غير ممرضة قادرة على التخلص من النترات المتواجدة في المياه الجوفية في ظروف لاهوائية، حيث تُستَعمل البكتيريا النيتروجين للتنفس في غياب الأكسجين وينتج عن ذلك تصاعد غاز النيتروجين. وحيث أن المياه الجوفية تفتقر لمصدر الكربون فإنه من الضروري توفير مصدر للكربون ليساعد الجراثيم البكتيرية على النمو فعلى سبيل المثال يمكن اضافة حمض الخليك Acetic acid إلا أنه مكلف من الناحية المادية فيمكن التعويض عنه باستعمال مادة بديلة مثل عصير الذرة. وعند نهاية عملية المعالجة يتم تمرير المياه الناتجة على مرشحات لمنع وصولها إلى شبكة التوزيع. من هنا نجد أن هذه الطريقة تعتمد على توفير الظروف البيئية المناسبة لتقوم الطبيعة بدورها الحيوي دون أي تدخل كيميائي خارجي كما هو الحال في الطرق التقليدية.

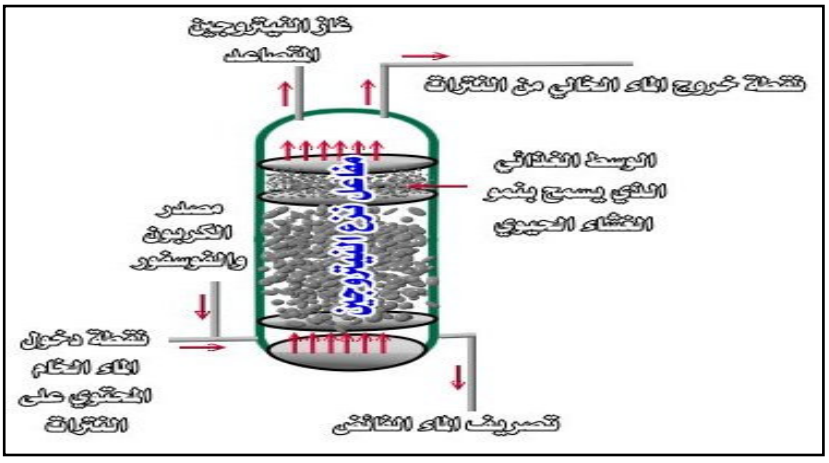
عملية التخلص من النترات باستعمال طريقة BioDen

فى هذه الطريقة يتم إستخدام الجراثيم البكتيرية مع اضافة حمض الخليك لإزالة النترات من الماء وهذه العملية تتم فى ظروف لاهوائية يتم من خلالها تحويل النترات إلى غاز النيتروجين وغاز ثانى أكسيد الكربون. ويتم وضع الجراثيم البكتيرية داخل جهاز التفاعل لتنمو بصورة جيدة وتكوِّن مايسمى بالغشاء الحيوي Biofilm (أنظر الشكل). ويتم فى هذه الطريقة استخدام مجموعة من الجراثيم البكتيرية غير ذاتية التغذية يتم عزلها من مصادر طبيعية كالتربة غير الملوثة بالجراثيم الممرضة.



الغشاء الحيوي وكيفية تحول النترات إلى غاز اليتروجين

تتم عملية التخلص من النترات بداخل جهاز خاص للتفاعل يعتمد أساساً على تكوُّن الغشاء الحيوي وبعد اضافة الكربون والفوسفور يندفع الماء الخام عبر هذا الجهاز المحتوي على حشو ذي نفاذية عالية وغير كثيف يسمح بنمو البكتيريا على أسطح هذا الحشو مما يتيح سهولة تكوُّن الغشاء الحيوي على مساحة كبيرة من السطح ويكون تدفق الماء نحو الأعلى ليُسَهل خروج غاز النيتروجين المتكون عبر فتحة تتواجد أعلى الجهاز وعند مرور الماء داخل الجهاز سيتم استهلاك الأكسجين أولاً بواسطة البكتيريا اختيارية التهوية يعقب ذلك إزالة النترات وحيث أن وجود الأكسجين سيعيق عملية التخلص من النترات فإن الكربون المُضاف سيساعد على الاستهلاك السريع للأكسجين مما يجعل عملية التخلص من النترات تتم بكفاءة عالية. حيث أن النترات ستنتشر خلال الغشاء الحيوي ليتم تحويلها إلى غاز النيتروجين.



مفاعل معالجة النترات حيوياً

فى الظروف اللاهوائية يتم اختزال النترات إلى غاز النيتروجين كما هو موضح بالمعادلة الكيميائية التالية:

بكتيريا غير ذاتية التغذية

نترات + مادة عضوية ⟵ نيتروجين + ثاني أكسيد الكربون + أيون الهيدروكسيد + ماء

تختلف هذه العملية عن عملية أكسدة المواد العضوية بيولوجياً في وجود النترات كمستقبل للإلكترونات بدلاً من الأكسجين وهناك عدة أجناس من البكتيريا غير ذاتية التغذية قادرة على إستخدام النترات بدلاً من الأكسجين لتحليل المواد العضوية فى الظروف اللاهوائية حيث أن وجود الأكسجين سيؤثر تأثيراً سلبياً على عملية إزالة النترات، ففى الظروف الهوائية ستقوم الجراثيم البكتيرية باستهلاك الأكسجين بدلاً من النترات. عليه فإنّه من الضرورى توفير ظروف لاهوائية حتى يتسنى للجراثيم البكتيرية استعمال النترات كمستقبل للإلكترونات والمواد العضوية كمصدر للكربون والذى سيقوم بدوره بتوفير الإلكترونات لتتم العملية الفسيولوجية والتخلص من النترات، كما أنه بإمكان الجراثيم البكتيرية ذاتية التغذية أن تقوم بعملية التخلص من النترات فى وجود الكبريت أو غاز الهيدروجين التي تعمل كمعطي للإلكترونات.

بكتيريا ذاتية التغذية

نترات +ثاني أكسيد الكربون + مادة غير عضوية ⟵ نيتروجين + معطي إليكترون مؤكسد

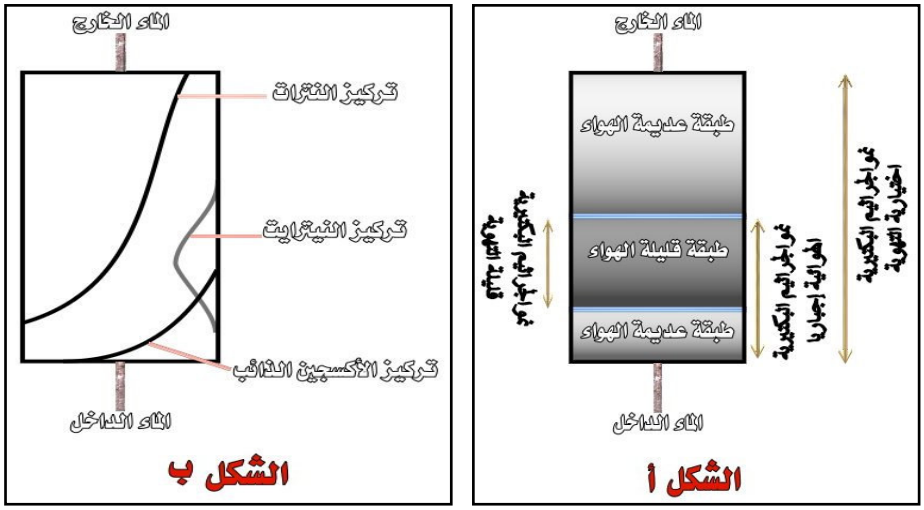
بيئات النمو المختلفة داخل جهاز التفاعل:

إن الظروف البيئية المختلفة داخل الجهاز تلعب دوراً كبيراً فى تحديد نوع الجراثيم البكتيرية التى يمكنها النمو فى كل طبقة من طبقات الجهاز وبالتالى فإن معرفة طبيعة الطبقات البيئية داخل جهاز التفاعل ستُبين أي الجراثيم البكتيرية التى ستقوم بالتخلص من النترات، حيث إن الجهاز ينقسم إلى ثلاثة طبقات مرتبة من أسفل لأعلى على النحو التالى :

- طبقة خالية من الأكسجين Anaerobic zone

- طبقة قليلة الأكسجين Microaerophilic zone

- طبقة تحتوى على الأكسجين Aerobic zone



الشكل (أ) طبقات تواجد الأكسجين **الشكل (ب) معدل تركيز النترات**

(الشكل أ) يوضح أن الجراثيم البكتيرية إجبارية التهوية ستنمو بشكل جيد فقط فى الطبقة العليا، بينما تنمو الجراثيم اختيارية التهوية فى جميع طبقات الجهاز وهى التى ستقوم بعملية التخلص من النترات، وفى الطبقة الوسطى ستنمو الجراثيم البكتيرية التى تحتاج إلى نسبة قليلة من الأكسجين.

(الشكل ب) يوضح تناقص تركيز النترات و النيترايت وكذلك الأكسجين فى طبقات جهاز التفاعل كنتيجة للعمليات الفسيولوجية التى تقوم بها الجراثيم البكتيرية.

- يعتمد نمو الجراثيم المُمْرضة داخل جهاز التفاعل على عدة عوامل:

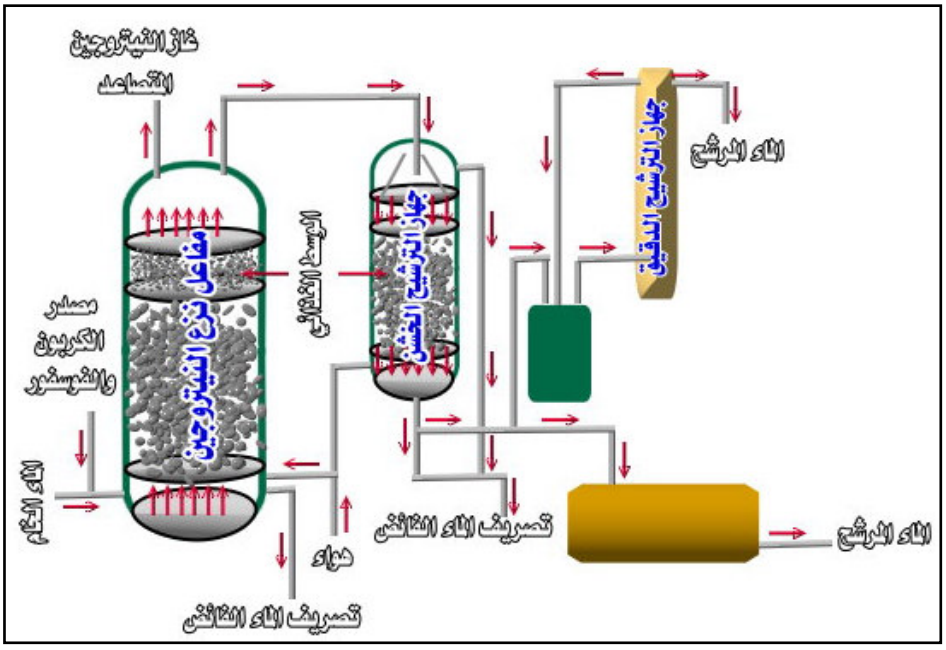
- قدرة هذه الجراثيم على اختزال النترات وتوفر المتطلبات الغذائية والأكسجين إذا كانت إجبارية التهوية وتوفر درجة الحرارة الملائمة.

- احتمالية وجود هذه الجراثيم الممرضة فى المزرعة البكتيرية المضافة.

من هنا نجد أنه من المهم جداً التأكد من أن تكون المستعمرات البكتيرية المُضافة غير ممرضة.

إمكانية هذه الجراثيم على النمو مقارنة بالجراثيم البكتيرية الأخرى

فى إحدى الدراسات لوحظ أن نمو البكتيريا *سيدوموناس إيروجينوزا* سيتأثر سلباً فى وجود أعداد كبيرة من الجراثيم البكتيرية غير ذاتية التغذية، وفى تجربة أجريت لوحظ أنه عند تلوث أغشية الكربون بالجراثيم البكتيرية الممرضة لم تستطع هذه الجراثيم النمو وتناقصَ عددها حتى اختفت تماماً، والتفسير النظرى لهذه العملية هو أن الجراثيم البكتيرية غير ذاتية التغذية (غير الممرضة) استطاعت التأقلم بسرعة مع الظروف المحيطة ونافست الجراثيم الممرضة وبالتالى تم القضاء عليها، ومن هنا نجد أنه لامكان للجراثيم الممرضة في داخل جهاز التفاعل.



آلية التخلص من النترات حيوياً

جدول يوضح مدى قدرة الجراثيم البكتيرية المختلفة على البقاء داخل جهاز المعالجة

إسم الكائن الدقيق	الظروف الملائمة للنمو	احتمالية التواجد
كامبيلوباكتير جيجوناي	قليلة الحاجة للهواء(3-5% أكسجين)،غير قادرة على اختزال النترات.	ضعيف جداً
كلوستريديوم بيرفرينجنز	لاهوائية إجبارياً، بعض السلالات قادرة على اختزال النترات.	ضعيف
البكتيريا القولونية	اختيارية التهوية، أغلبها قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو فى درجة حرارة تتراوح مابين 4-45 درجة مئوية.	عالي
**** EPEC***	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو فى درجة حرارة تتراوح مابين 4-45 درجة مئوية.	ضعيف
ليجيونيللا	تستطيع النمو فى درجة حرارة تتراوح مابين 25-42 درجة مئوية.	ضعيف جداً
مايكوباكتيريوم آفيوم	بطيئة النمو.	ضعيف جداً
مايكوباكتيريوم إنتيرسيليولار	بطيئة النمو.	
سيدومونا إيروجينوزا	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو	متوسط

	فى درجة حرارة تتراوح مابين 4 – 43 درجة مئوية.	
إيروموناس هيدروفيلا	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو فى درجة حرارة تتراوح مابين 41 - 5 درجة مئوية.	ضعيف
هيليكوباكتير بايلوري	قليلة الحاجة للهواء، غير قادرة على اختزال النترات	ضعيف جداً
***مايكوباكتيريوم* غير النمطي**	بطيئة النمو.	
سلالات *سالمونيلا*	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تفضل النمو فى درجة حرارة 37 درجة مئوية.	ضعيف
سالمونيلا تايفيميريوم	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تفضل النمو فى درجة حرارة 37 درجة مئوية.	ضعيف
سلالات *شيجيلا*	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو فى درجة حرارة تتراوح مابين45 - 4 درجة مئوية.	ضعيف
يرسينيا إنتيروكوليتيكا	اختيارية التهوية، قادرة على اختزال النترات، تستطيع النمو	ضعيف

	فى درجة حرارة تتراوح مابين (– 2– 45) درجة مئوية.	
ألفانيزوم نون فلوس آكوا	ضوئية التغذية.	لا تنمو
مايكروسيستس إيروجينوزا		
شايزوتريكس كاليكيولا		

من الجدول السابق نجد أن نوعاً واحداً من البكتيريا الانتهازية (هذه الجراثيم من النادر إحداثها للمرض وتصيب فقط الأشخاص الذين يعانون من خلل فى جهاز المناعة) ومجموعة البكتيريا القولونية من الممكن بقائهم، ويتم التخلص منهم بمعالجة المياه باستعمال الكلور إن وجِدوا فى المياه منزوعة النترات.

التأثيرات السلبية للنترات المتواجدة في المياه

1- Methemoglobulinemia

هذا المرض يعرف عادة بمرض إزرقاق الأطفال Blue Baby Syndrome أو Methemoglobulinemia ويسمى أحياناً بموت المهد المُفاجئ ويصاب به فى المقام الأول الأطفال الرضَّع تحت سن 6 أشهر حيث تبلغ نسبة الوفيات فى أوروبا 3 أطفال لكل 1000 طفل كما يصيب النساء الحوامل والأشخاص البالغين الذين يعانون من نقص الإنزيم الخاص بتحويل Methemoglobulin إلى الهيموجلوبين العادى. أما الأشخاص البالغين الذين يتمتعون بصحة جيدة فبإمكانهم تناول كميات لابأس بها من النترات (غالباً ما تكون من خلال تناول الخضراوات) دون حدوث أى أعراض جانبية تُذكر، ويتم التخلص من النترات بعد امتصاصه من خلال الجهاز البولي مع العلم بأن الاستمرار في تناول تركيزات عالية من النترات لفترات طويلة يؤدى إلى حدوث مشاكل صحية فى المعدة كنتيجة لتكوُّن مركبات الـــ Nitrosamines حيث يتم اختزال النترات فى القناة الهضمية

إلى نيترايت بعد ذلك تتفاعل النيترايت المُمتصة مع الهيموجلوبين فى الدم ليتكون الـــ Methemoglobulin وهذا المركب الجديد ليس له القدرة على نقل الأكسجين مما سيؤدى إلى نقص كمية الأكسجين فى الدم ويترتب عن ذلك ازرقاق لون الطفل خاصة حول الفم والعينين ويكون مصحوباً بصداع ودوار وفشل عام مع صعوبة التنفس.

2- الإصابات السرطانية

للتركيزات العالية من النترات تأثيرات مُسرطِنة بتكوُّن مركبات Nitrosamines وذلك بعد تحول النترات إلى نيترايت. وهناك عدة دراسات تشير إلى وجود ارتباط وثيق بين استهلاك النترات والإصابة ببعض الأمراض السرطانية عند إجراء الاختبارات المعملية على حيوانات التجارب، وليس هناك دليل أكيد على أن النترات مسبب رئيسى للسرطان ففي دراسة بحثية أجريت عام 2001 (Weyer *et. al*) أظهرت عدم وجود علاقة بين تناول المياه الملوثه بالنترات والإصابة بسرطان الغدد الليمفاوية وسرطان الدم وسرطان الجلد وسرطان القولون وسرطان الثدى وسرطان الرئة وسرطان البنكرياس وسرطان الكلى مع التأكيد على وجود علاقة بحدوث سرطان المثانة.

3- التشوهات الخُلقية

فى بعض الدراسات التى أجريت فى كندا وجنوب أستراليا تبين وجود تزايد فى عدد حالات الإصابة بالتشوهات الخُلقية عند تناول مياه ملوثة بالنترات (Bouchard *et.al.* 1992) ولايمكن الاستدلال بهذه الدراسات نظراً لمحدوديتها، وفى بعض الدراسات التى أجريت على حيوانات التجارب تبين عدم وجود مثل هذه العلاقة.

جدول يوضح مزايا وعيوب طرق الخلص من النترات

طريقة المعالجة	المزايا	العيوب
طريقة التخلص من النترات بيولوجياً Biological Denitrification	– تحويل النترات مباشرة إلى غاز النيتروجين وتصل نسبة التخلص من النترات إلى 100 %.	– تشغيل مستمر دون توقف. – اضافة مواد أي كيميائية قد تظهر فى الماء المُنَتَج. – يحتاج لتجهيزات خاصة.
طريقة التبادل الأيونى Ion Exchange	– يزيل فقط راتينج (Resin) محدد.	– يحتاج لاضافة مواد كيميائية. – يحتاج للتخلص من المخلفات البيئية الضارة الناتجة. – إزالة للنترات غير كاملة.
طريقة التناضح العكسى Reverse Osmosis	– يحتاج لكميات قليلة من المواد الكيميائية المضافة.	– عملية نزع كاملة لجميع الأملاح. – ضرورة التخلص من المخلفات البيئية الضارة التي ستنتج. – الماء المُنتَج يحتوى على نسب غير متكافئة من الكالسيوم / الكربونات. – يحتاج لاضافة مواد كيميائية لتهيئة المياه المراد معالجتها.

مقارنة بين مختلف طرق المعالجة

طريقة المعالجة	التكلفة الإجمالية بالدولار لكل 1000 جالون*ولاية كاليفورنيا	التكلفة الإجمالية بالدولار لكل 1000 جالون ولاية كولورادو
طريقة التناضح العكسى	1.94 – 6.48 دولار	0.60 – 5.20 دولار
طريقة التبادل الأيونى	0.74 – 2.14 دولار	0.55 – 1.85 دولار
طريقة للتخلص من النترات بيولوجياً	0.91 – 1.72 دولار	0.55 – 1.40 دولار

***1000 جالون أمريكى يساوى ≈ 45.5 لتراً.**

عملية معالجة المياه

WATER TREATMENT

الغاية من معالجة المياه توفير مياه صالحة للاستهلاك الأدمي وخالٍ من الجراثيم الممرضة التي قد تنتقل بواسطة المياه وليس هناك طريقة واحدة تسمح بتطبيق هذه الغاية، فبالتالي فإنه من الأفضل اتباع طرق مختلفة، ويعتمد إختيار نوعية والطرق الواجب اتباعها لمعالجة المياه على مدى جودة المياه، من هنا نجد أن المياه الجوفية العميقة غالباً ماتكون ذات جودة عالية لعدم تأثرها بالظروف السطحية ويمكن الاكتفاء بطريقة معالجة واحدة أما المياه السطحية والمياه الجوفية غير العميقة فغالباً ماتكون ذات نوعية رديئة وغير آمنة لذلك فهي تحتاج للعديد من الطرق لمعالجتها قبل استهلاكها.

أغلب عمليات المعالجة المُتَبَعة صُمِّمَتْ تحديداً لتحسين المواصفات الكيميائية والفيزيائية للمياه بعيداً عن فكرة التخلص من المحتوي الجرثومي المُمْرِضْ رغم تواجد مجموعات كبيرة من هذه الجراثيم البكتيرية فكان من الضروري وضع إسترتيجية للحدّ من تواجدها في المياه وأنَّه من الصعب بمكان تحديد وجود جميع هذه الجراثيم البكتيرية في الاختبارات الروتينية.

تُعبر المياه ذات النوعية الجرثومية الجيدة على كفاءة عملية المعالجة المُتَبَعَة لذلك فإنه من الضروري مراقبة نوعية المياه عند نهايات شبكة التوزيع ويُفضل لتطبيق هذه المراقبة الاعتماد على المحددات غير الجرثومية كمعدِّل التدفق واللون ومقدار المادة المطهِّرة المتبقية ويمكن الاعتماد على الطرق الجرثومية بتحديد وجود البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* والبكتيريا القولونية المقاومة للحرارة والبكتيريا غير ذاتية التغذية وكذلك البكتيريا الهوائية المكونة للأبواغ.

كفاءة المعالجة الجرثومية

يمكن تطبيق عمليات التطهير باتباع أحد الأساليب التالية:

- الطرق الفيزيائية للتخلص من الجراثيم الممرضة.

- طرق تثبيط نمو الجراثيم الممرضة.

بالاضافة الى المعرفة المُسبقة بمدى قدرة المادة المطهِّرة المستعملة في المعالجة فإنه من المفيد إيجاد طريقة سريعة ودقيقة لمعرفة ما إذا كانت عملية المعالجة تسير بشكل صحيح، حيث هناك العديد من العوامل التي يمكن أن تحدّ من فاعلية عملية المعالجة (على سبيل المثال قدرة بعض الجراثيم البكتيرية على البقاء دون إمكانية تحديد وجودها عند إجراء الاختبارات الروتينية).

❖ التخثر والتكتل والترسيب Coagulation & flocculation, sedimentation

التخثر ناتج من تحفيز الجزيئات الدقيقة على أن تتجمع لتكوِّن جزيئات كبيرة الحجم والتكتل عبارة عن عملية فيزيائية تتجمع فيها الجزيئات لتشكل جزيئات كبيرة بينما عملية الترسيب فهي العملية التي يحدث فيها الفصل بين السوائل والأجسام الصلبة بحيث تترسب الأجسام الصلبة في القاع نتيجة لتأثير الجاذبية على الجزيئات وهذه العمليات الثلاث تسبق دائماً عملية الترشيح وللحصول على النتيجة المرجوة من اتباع هذه الطريقة يجب الأخذ في الاعتبار نوعية المياه المراد معالجتها ومعدل الأس الهيدروجيني (يُفضل أن يكون حوالي 11) ومقدار جرعة المادة المُخَثِرة وكذلك مدى امكانية خلط المياه المتواجدة في الخزان وبمراعاة هذه النقاط يمكن التخلص من الجراثيم الممرضة بنسبة تتراوح مابين 90 – 99% وتُعتبر كبريتات الألمونيوم وكبريتات الحديد وكلوريد الحديد وكذلك كلوريد عديد الألومنيوم من أكثر المواد المُخَثِرة استعمالاً حيث يُضاف أحد هذه المواد للمياه فتتكون ترسبات الهيدروكسيد والكربون العضوي الذائب وفي بعض الحالات تتكون بعض الكتل نتيجة لاضافة الألمونيوم وأملاح الحديد ويتم التخلص منها من خلال عملية الترسيب وفي الحالات التي تكون فيها هذه الكتل خفيفة جداً فمن الممكن عن طريق إحداث الفقاعات الهوائية التي ستحمل هذه الكتل إلى السطح لتبقى طافية مما يسمح بكشطها كما يمكن التخلص منها عبر عمليات الترشيح المباشرة.

كل التركيبات الكيميائية السابقة يمكن استعمالها لمعالجة المياه بهذه الطريقة وبصورة عامة فإنه من خلال الدراسات التي أجريت لتحديد مدى كفاءة المعالجة بهذه الطريقة تبين فعاليتها في التخلص من البكتيريا بنسبة تتراوح مابين 40 – 90 % ومن المهم جداً التخلص من الكتل المتكونة نظراً لتراكم الجراثيم عليها حيث قد تحمل كتلة واحدة عدد كبير جداً من الجراثيم قد تُؤثر على جودة المياه ويُعتبر قياس درجة عكارة المياه المعالجة وعدد الجزيئات التي تحتويها وسيلة جيدة لمعرفة كفاءة عملية المعالجة.

❖ الترشيح: Filtration

هناك العديد من عمليات الترشيح تُستعمل لمعالجة مياه الشرب وتعتبر طريقة فعَّالة في الحدّ من تواجد الجراثيم المُمْرِضَة وهي طريقة فيزيائية للتخلص من الجراثيم والأجسام الغريبة حيث يساهم المرشح الرملي السريع والبطيئ في التخلص من حوالي 99% من الجراثيم المتواجدة في المياه ويُعتبر قياس درجة عكارة المياه المعالجة وعدد الجزيئات التي تحتويها وسيلة جيدة لمعرفة كفاءة عملية المعالجة وفيما يلي أنواع عمليات الترشيح:

○ المُرشِح الرملي السريع Rapid sand filter

بدأ استعمال المرشح الرملي السريع منذ أكثر من 100 سنة ففي تسعينات القرن الثامن عشر انتشرت عدة أمراض نتيجة تلوث المياه بالجراثيم المقاومة للكلور مما أكسب عملية التطهير باستعمال المرشح الرملي أهمية وانتشر استعمالها، والمرشح عبارة عن فرشة رملية تتكون من خليط رمل وفحم حجري (anthracite) وكذلك حبيبات الكربون النشط ويتراوح سمكها مابين 0.6 – 1 متر، وحجم الحبيبات حوالي 1 مليمتر ويتم تشغيله بسرعة تدفق حوالي 5 – 15 متراً في الساعة. ويمكن لهذا المرشح أن يحجب مرور أغلب الكتل والأجسام الأخرى التي قد تتسرب من عملية التخثر والتكتل والترسيب كما يمكن لهذا المرشح أن يحجب مرور الأجسام التي يقلّ حجمها عن حجم مسامات المُرَشِح وتشبه إلى حدّ كبير مكونات المُرشِح وذلك بفعل خاصية الالتصاق الناتجة بفعل الطاقة الكهربية الساكنة مما يؤدي إلى حدوث الادمصاص.

من الضروري أن تتوقف عملية الترشيح السريع لإجراء عملية الغسيل العكسي إذا مالوحظ انسداد طبقات المُرشِحْ أو عكارة المياه المنتجة أو أن عدد الجزيئات في المياه المعالجة مُرتفع (غالباً ما يكون ذلك بعد 24 ساعة).

يمكن لعملية الترشيح السريع أن تتأثر بعدة عوامل:

- التشغيل الجيد والصيانة المستمرة من أهم العوامل المؤثرة، حيث أن التشققات التي قد تحدث يمكن أن تُؤثِر على نفاذية المرشح وتسمح بمرور الأجسام غير المرغوب فيها مما يؤثر سلباً على جودة المياه المُنتجة.

- اختلاف معدّل التدفق يُحدث خلخلة للراسب الذي يحتوي على الجراثيم مما يسمح بإمكانية مرورها من خلال المُرشِّح.

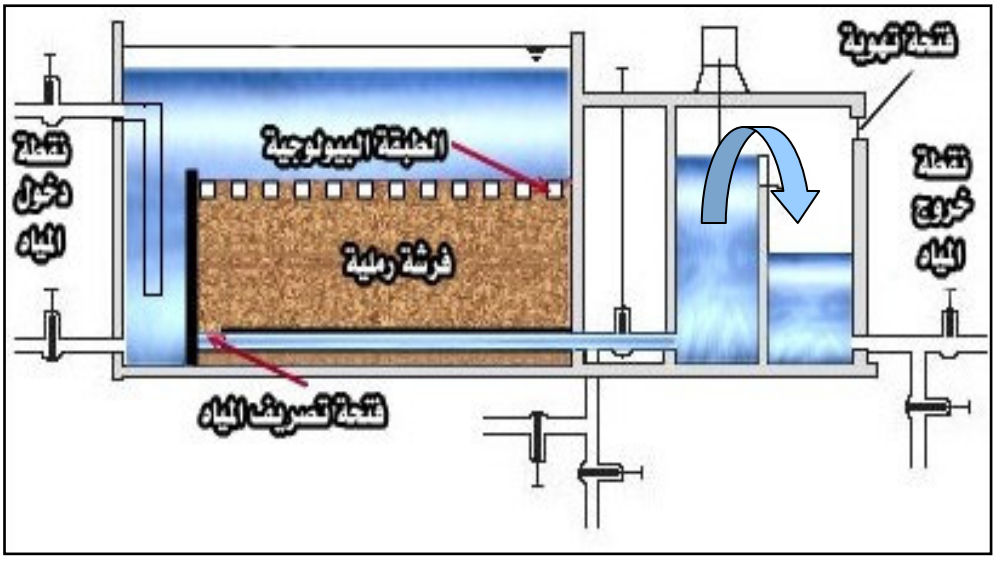
- بعد إجراء عملية الصيانة للمرشح وكذلك عملية الغسيل العكسي فإن المياه المُرَشَحَة في بداية التشغيل غالباً ماتكون عَكِرَة وتحتوي على عدد كبير من الجراثيم البكتيرية لذلك فإنه يُنصح بأن يتم تصريف الكمية الأولى من المياه المُرَشَحة وهي التي تلي عملية الغسيل العكسي والصيانة ولمدة قد تصل الى 30 دقيقة أو أن يبدأ التشغيل بتدفق بطيئ إلى أن يستقر المُرَشِحْ وينتج مياهاً ذات نوعية جيدة ويُعتبر قياس درجة عكارة المياه المُعالجة وعدد الجزيئات التي تحتويها وسيلة جيدة لمعرفة كفاءة عملية المعالجة.

○ المُرَشِح الرملي البطيئ Slow sand filter

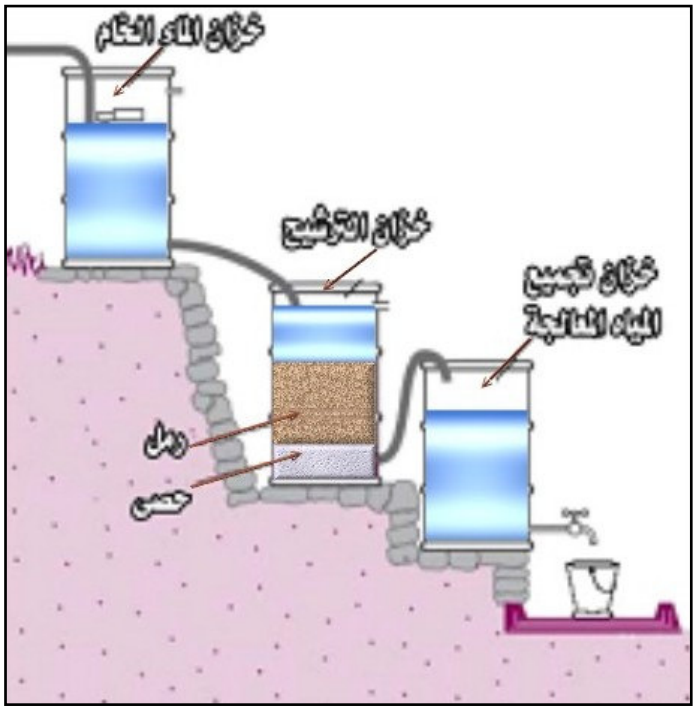
في بداية القرن التاسع عشر بدأ استعمال عدة أنواع من المرشح الرملي البطيئ لمعالجة المياه قبل دخولها شبكة التوزيع، كما تم أيضاً استخدامها منزلياً باستعمال وعاء يحتوي على فرشة من الرمل متوسط الحجم حوالي 0.2 – 0.5 مليمتر وسُمك الطبقة حوالي 1 – 1.25 متر مدعومة من تحت بطبقة حصى، وهو عبارة عن فرشة ترشيح رملية تحتوي على خليط من الرمل يتراوح حجمها مابين 0.15 – 0.35 مليمتر بسُمك حوالي 0.7 متر والمسامات تكون كبيرة يصل قطرها إلى حوالي 60 ميكرومتر. ويُشَغَل

المُرشح بمعدل تدفق يتراوح مابين 0.1 – 0.3 متر في الساعة وتعتبر هذه العملية عملية معالجة حيوية تتم دون أن تسبقها عملية التخثر وقد يسبقها عملية الترشيح السريع للتقليل من المحتوي العالي للجزيئات حيث تعتمد هذه الطريقة على تكون طبقة لزجة تُعرف بالطبقة البيولوجية (Schmutzdecke) في الطبقة العليا (حوالي 20 مليمتر) وهي طبقة نَشِطة وتُعتبر أساس عملية المعالجة بالترشيح البطيئ وهذه الطبقة تمنع مرور الجزيئات الدقيقة بما في ذلك البكتيريا والطفيليات والفيروسات والجزيئات التي تستطيع أن تتجاوز هذه الطبقة سيتم حجزها في الطبقة السفلى لهذا المرشح بنفس الطريقة التي يعمل بها المرشح الرملي السريع.

نتيجة لتكون الطبقة البيولوجية الذي سيحجب الجزيئات من المرور فإن نفاذية الطبقة العليا للمرشح ستتأثر سلباً مما سيؤدِّي إلى نقص كبير في معدّل المياه المتدفقة بعد عدة أسابيع من عملية التشغيل، عندها يجب صِيَانَة المرشِّح الرَّملي بإزَالة الطبقة العُليا (حوالي سمك 5 – 10 سنتمتر) وتعويضها برمل جديد، كما يمكن تنظيف الطبقة المُزالة لاستعمالها فيما بعد. يُعتبر هذا المرشح ذو فاعلية عالية في التخلص من الطفيليات والبكتيريا ومن عيوبه أنه قد تتكون بداخله ممرات صغيرة نتيجة سوء التشغيل وعدم إجراء الصيانة الوقائية، وفي ظروف التشغيل الجيدة فإنه يمكن لهذا المُرشِح أن يلعَبَ نفس الدور الذي تلعبه عمليتي التخثر والترسيب وعملية الترشيح الغشائي السريع. هناك عدة عوامل تؤثر على كفاءة عملية المعالجة منها: نوعية المياه الخام فقد يتطلب الأمر المعالجة المسبقة للمياه عالية العكارة قبل ترشيحها ويُعتبر قياس درجة عكارة المياه المعالجة وعدد الجزيئات التي تحتويها وسيلة جيدة لمعرفة كفاءة عملية المعالجة.



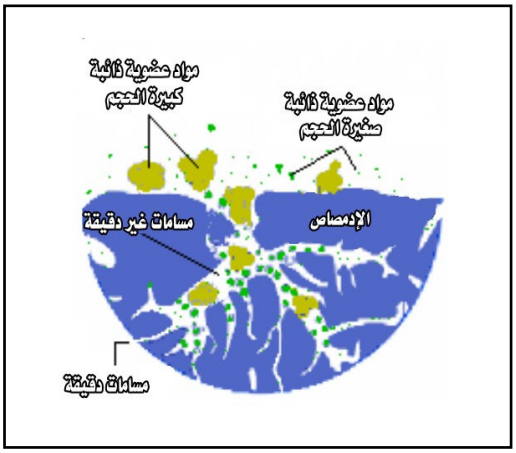
تركيبة المرشح الرملي البطيئ



المرشح الرملي المنزلي

○ مُرَشِح الكربون النشط Activated carbon filter

وهو عبارة عن كربون مُعالج مما يسمح له بزيادة مساحة السطح وبالتالي زيادة قدرته على الإدمصاص بالأجسام الملوثة وتتم عملية التخلص من خلال عملية فيزيائية وذلك بمنع الجزيئات الكبيرة من المرور عبر المسامات والعملية الأخرى وهي الإدمصاص حيث تتجاذب الجزيئات وتلتصق بجزيء الكربون. غالباً مايُستعمل هذا المُرشِح لإزالة المركبات العضوية كما له تأثير بسيط على المحتوى الجرثومي بما في ذلك الفيروسات والطفيليات.



تركيبة مرشح الكربون النشط

○ المُرشِح الغشائي Membrane filters

تعتمد هذه الطريقة على مرور المياه عبر غشاء دقيق يمنع مرور الجزيئات بناءاً على حجمها ولهذه الطريقة دور كبير في عمليات معالجة مياه الشرب بإزالة الجراثيم الممرضة ومن أنواع عمليات الترشيح الغشائي التي قد تستعمل في معالجة مياه الشرب مايلي:

1- المرشح الدقيق microfiltration (MF)

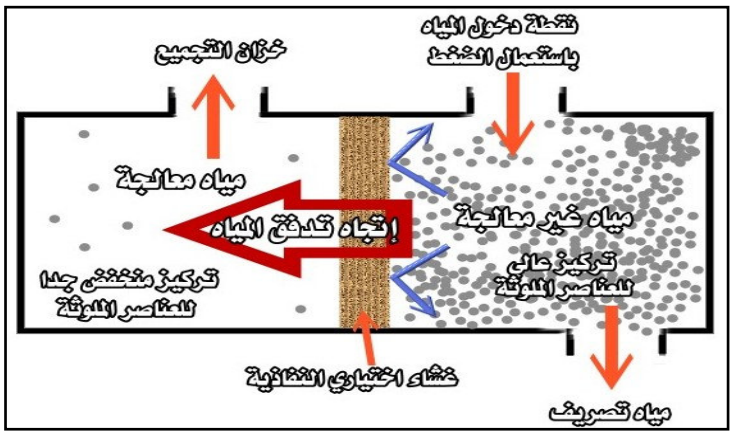
يبلغ قطر المسامات حوالي 0.1 مليمتر وهي لها فاعلية في التخلص من البروتوزوا والطحالب وأغلب أنواع البكتيريا، والمستعمرات البكتيرية التي قد تنمو على الغشاء ستحد من كفاءة معالجة هذا الغشاء أما الفيروسات ذات الحجم 0.01 – 0.1 مليمتر فبإمكانها المرور من مسامات هذا الغشاء.

2- ultrafiltration (UF)

يبلغ قطر المسامات حوالي 0.01 مليمتر أو أقل وهي لها فاعلية في التخلص من الفيروسات بالاضافة للبروتوزوا والطحالب وأغلب أنواع البكتيريا.

كما يمكن الاعتماد علي العمليات التالية والتي غالباً ما تُستعمل لأغراض أخرى بالاضافة للتخلص من الجراثيم الممرضة:

3- عملية التناضح العكسي Reverse Osmosis (RO)



آلية التناضح العكسي

من المعروف أنه في الوضع الطبيعي تنتقل الأملاح من الوسط الأقل تركيزاً إلى الوسط الأعلى تركيزاً من خلال غشاء اختياري النفاذية وذلك بعملية تُعرف بالتناضح.

وعنما يتواجد محلولان مختلفان في التركيز فإن الأملاح ستنتقل من الوسط الأقل تركيزاً إلى الوسط الأعلى تركيزاً حتى يصلا إلى نقطة التعادل عندها يتكون فرق في مستوى المياه عند طرفي الغشاء مما ينتج عن ذلك مايُعرف بفرق فيث الضغط **(ΔP)** وهو يُمثل قيمة الضغط التناضحي وينتج عنه الانتقال القسري للجزيئات من الوسط الأعلى تركيزاً إلى الوسط الأقل تركيزاً.

تعتمد هذه الطريقة في الأساس على حجم الجراثيم وقطر مسامات المرشح الغشائي ولاتحتاج هذه العملية أن يسبقها عملية التخثر والترسيب الكيميائية، بينما قد يحتاج الأمر إلى التحضير قبل إجراء هذه العملية للتقليل من حدوث العفن الناتج من تراكم المواد الكيميائية والجزيئات وكذلك نمو الجراثيم على سطح الغشاء مما سيقلل من إنتاجية الغِشاء وإذا ما تراكم العفن على سطح الغشاء بالشكل غير المرغوب فيه، فلابد من تنظيف المرشح الغشائي باستعمال المواد الكيميائية، وقد يكون من المفيد أن تسبق عملية المعالجة بالمرشح الغشائي عمليات التخثر والتكتل والترسيب الكيميائي وعملية الترشيح بالمرشحات الرملية وذلك بناءاً على نوعية المياه المراد معالجتها ويُعتبر قياس المحدِدات الفيزيائية مثل ضغط القطرات من خلال الغشاء وسيلة جيدة لمعرفة كفاءة عملية المعالجة إلا أن التكلفة المادية العالية تحد من إمكانية استعمال هذه التقنية في التخلص المباشر من الجراثيم الممرضة.

مرشحات التناضح العكسي

nanofiltration (NF) -4

وهي أيضاً ذات مسامات دقيقة كما هو الحال في أغشية التناضح العكسي إلا أن التكلفة المادية العالية تحد من إمكانية استعمال هذه التقنية في التخلص المباشر من الجراثيم الممرضة.

أنواع المرشحات الغشائية وقدرتها على إزالة الجراثيم

نوع المرشح	ضغط التشغيل بالـ kPa	قطر المسامات بالميكرومتر	الجراثيم المُستهدفة
microfiltration	50 – 30	أقل من0.1	إزالة أغلب البكتيريا، البروتوزوا والطحالب
ultrafiltration		أقل من0.01	إزالة أغلب البكتيريا، البروتوزوا، الطحالب والفيروسات.
nanofiltration	1000 – 500	أقل من0.001	
التناضح العكسي	5000 – 1000	أقل من0.0001	

❖ **التثبيط الكيميائي**

تُعتبر عمليات التطهير باستخدام مواد كيميائية من أهم عمليات المعالجة التي تفيد في التخلص من الجراثيم الممرضة وفي هذه الطريقة يمكن استعمال مادة الكلور والكلورامين وثاني أكسيد الكلور أو غاز الأوزون وتتأثر كفاءة عملية المعالجة الكيميائية بالجرعة المستعملة وزمن التعريض ودرجة الحرارة، كما أن بعض المواد الكيميائية تتأثر بمعدل الأس الهيدروجيني، ويُفَضل أن تُنصب المعالجة الكيميائية في آخر نقطة داخل محطة المعالجة لضمان وجود مقدار من الكلور الحر المتبقي في شبكة المياه، ويمكن استعمال أكثر من مادة كيميائية لمعالجة المياه، إلا أنه يُمكن للجراثيم أن تقاوم تأثير المطهر إذا ما تواجدت داخل الجزيئات من هنا فإنه من الأفضل إجراء عملية تطهير أولية (جرعة أولى) وهي تكفي للقضاء على الجراثيم الممرضة يلي ذلك عملية تطهير ثانية (جرعة ثانية) تُضاف فيها المادة المطهرة عند آخر نقطة قبل دخول المياه إلى شبكة توزيع المياه

لضمان الحصول على مياه ذات جودة عالية من الناحية الجرثومية كما أن الجرعة الثانية تمنع عودة نمو الجراثيم (regrowth) في شبكة توزيع المياه.

ماتزال فرضية الحفاظ على تركيز المطهر الحر المتبقي (free residual) موضع نقاش وجدل بين المختصين خاصة في الحالات التي تكون فيها الحالة الجرثومية مستقرة وشبكة التوزيع في حالة جيدة عندها فإن هذه الجرعة ستقضي على البكتيريا الدالة على التلوث فقط ولن تؤثر على الجراثيم الممرضة مما يؤدي للحصول على نتيجة سالبة مضللة أثناء عمليات المراقبة.

- **عملية الكلورة**

يمكن أن تتم هذه العملية باستعمال مادة الكلور أو الكلورامين أو ثاني أكسيد الكلور ولكل من هذه المواد خصائص كيميائية مميزة في تطهير المياه فعند تفاعل الكلور مع المركبات النيتروجينية التي قد تتواجد في المياه ينتج عن ذلك تكون مادة الكلورامين الأحادي (monochloramine) التي لها تأثير أقل فاعلية من مادة الكلور إلا أنها مادة مستقرة أكثر من مادة الكلور كما يمكن استعمال ثاني أكسيد الكلور لما له من تأثير فعّال في التخلص من الطفيليات التي قد تتواجد في المياه.

معدات عملية الكلورة

مضى على استعمال مادة الكلور في عمليات التطهير حوالي 100 سنة وماتزال هذه الطريقة تُعطي نتائج جيدة في التخلص من الجراثيم الممرضة يمكن الإعتماد عليها إلا أن لها بعض الآثار الجانبية كتكوينها للمركبات السامة والتي تُعرف بالهيدروكربونات المكلورة (tri-halomethanes) كما أن الكلور غير فعّال ضد الفيروسات المعوية فهي قادرة على مقاومة مادة الكلور أكثر من البكتيريا المعوية إلا أنه يُعتبر من أقوى مواد التطهير استعمالاً للقضاء على البكتيريا والفيروسات وفي بعض الأحيان طفيل الجيارديا، ومن الضروري مراعاة أن فاعلية الكلور ستكون عالية عندما يكون معدل الأس الهيدروجيني منخفضاً نتيجة لتكوِّن Hypochlorous acid (HOCl) ويجب أن لايتجاوز معدل الأس الهيدروجيني عن (8) وأن لايقل زمن التعريض عن 30 دقيقة ويتم قياس تركيز الكلور الحر المتبقي في المياه بالاعتماد على الاختبار اللوني باستعمال أداة خاصة تُظهر التفاعل الذي يحدث نتيجة اضافة مادة كيميائية وهي تعرف تُعرف بـــ DPD (N, N-diethylparaphenylene diamine) .

$$H^+ + Cl^- + HOCl \longleftarrow Cl_2 + H_2O$$

$$OCl^- + H^+ \longleftarrow HOCl$$

عند اضافة مادة الكلور إلى الماء فسيتفاعل منتجاً حمض الهيبوكلوروس Hypochlorous acid وحمض الهيدروكلوريك Hydrochloric acid بعد ذلك يحدث تفكك لحمض Hypochlorous acid إلى أيون الهيبوكلورايث Hypochlorite Ion وأيون الهيدروجين Hydrogen Ion وهما المكونان للمادة الفعالة التي تُسمى بالكلور الحر المتبقي والذي له القدرة على التفاعل مع بعض مكونات الخلية البكتيرية.

العوامل التي تؤثر على كفاءة عملية المعالجة:

1- تركيز المادة المُطهرة. **2-** زمن التعريض.

3- درجة الحرارة. **4-** معدل الأس الهيدروجيني.

5- طبيعة الكائن الدقيق. 6- درجة العكارة.

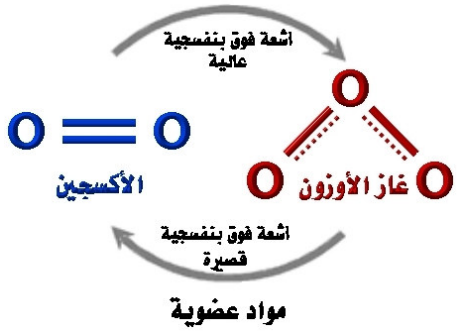
- **المعالجة بالأوزون**

غاز الأوزون عبارة عن أكسجين ثلاثي الذرات يتم تكونه من خلال الطاقة الكهربائية أو استعمال الأشعة فوق البنفسجية أو من خلال بعض التفاعلات الكيميائية، ويتواجد بصورة طبيعية في الهواء الجوي. تم استعمال غاز الأوزون في أوروبا لمعالجة المياه منذ أكثر من 100 سنة وانتشر بعد ذلك استعماله في المناطق الأخرى ولم يتم التعرف على ميكانيكية التفاعل التي قد تحدث ويعتقد أنه عند تواجد الأوزون في المياه فإنه سيتفاعل مباشرةً مع جزيء الأوزون المتواجد في الخلية الجرثومية، أو كنتيجة للتفاعل مع الخلية الجرثومية بعد تحلل الأوزون. تعتبر البكتيريا *إيشيريشيا كولاي* من أكثر الجراثيم البكتيرية تأثراً بغاز الأوزون، بينما الجراثيم البكتيرية الموجبة لصبغة غرام (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Mycobacteria*) من أكثر الجراثيم البكتيرية مقاومة للأوزون.

مولد غاز الأوزون الكهربائي

يمكن التخلص من البكتيريا *Mycobacterium avium* بجرعات قليلة من الأوزون، وتعتبر الفيروسات أكثر مقاومة لهذا الغاز بالمقارنة من الخلايا البكتيرية

الخضرية كما أن للأوزون تأثير قوي على طفيل *الجيارديا* وبنسبة أقل على طفيل *كريبتوسبوريديوم Cryptosporidium* ويعتبر غاز الأوزون من الغازات سريعة التفاعل إلا أنه من الغازات غير المستقرة وسريعة التحلل فمن الضروري تواجد جهاز توليد الأوزون في مكان المعالجة ونظراً لعدم تكون ما يعرف بالتركيز الحر المتبقي فإنه ينصح بأن تليه عملية المعالجة بالكلور لتحتوي المياه المعالجة على التركيز الحر المتبقي.



من الآثار الجانبية الضارة لغاز الأوزون قدرته على أكسدة المواد العضوية المتواجدة في المياه لينتج عن ذلك تكوّن مواد عضوية قابلة للتحلل الحيوي مما قد يساعد على احتمالية عودة نمو الجراثيم البكتيرية بعد انتهاء عملية المعالجة ولتفادي هذا العيب يجب التخلص من المواد المؤكسدة الناتجة من عملية المعالجة وكذلك التخلص من المواد غير المرغوب فيها والناتجة من المعالجة بالأوزون والبرومات والفورمالديهايد.

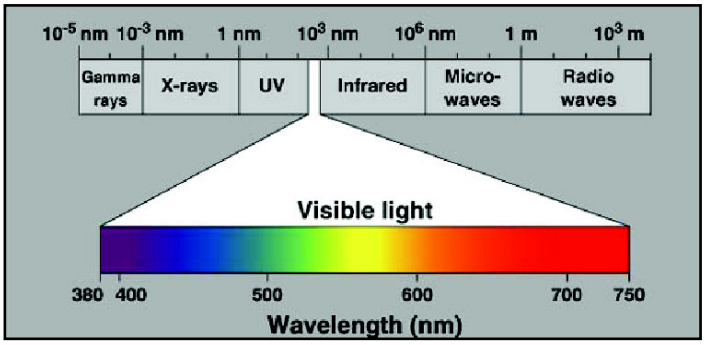
- **المعالجة بالأشعة فوق البنفسجية**

عُرفت فاعلية الأشعة فوق البنفسجية في التخلص من الجراثيم الممرضة في أواخر القرن الثامن عشر وبدأ استعمالها في معالجة مياه الشرب مع بداية القرن العشرين وزاد الإهتمام بهذه الطريقة بعدما تبين قدرتها وبجرعة قليلة نسبياً (حوالي أقل من 10 mJ لكل سم^2) في التخلص من الطفيل *كريبتوسبوريديوم بارفوم Cryptosporidium parvum* وكذلك حويصلات الطفيل *جيارديا لامبليا Giardia lamblia* وهما من الجراثيم التي لها القدرة على مقاومة مفعول مادة الكلور. تمر في هذه المعالجة المياه عبر

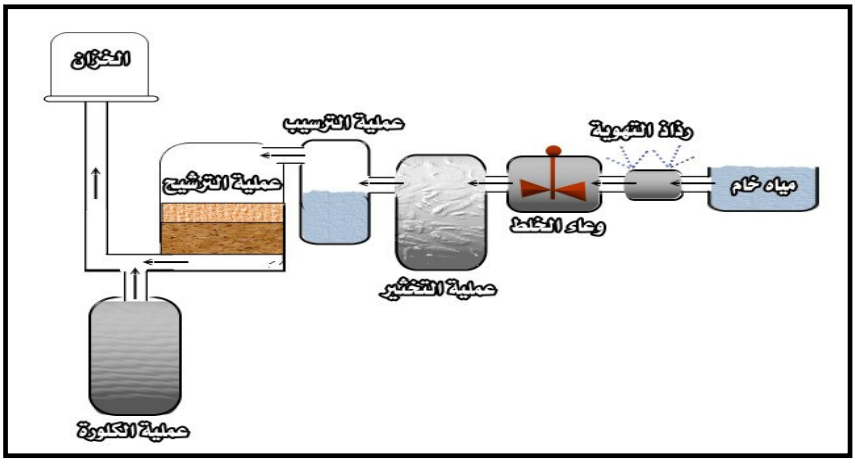
أنابيب شفافة ليتم تعريضها للأشعة فوق البنفسجية وتعتمد كفاءة هذه العملية على مقدار الأشعة التي تتعرض لها الخلية الجرثومية ومن مميزاتها:

- عدم تكون أي مواد جانبية ذات تأثير سلبي.
- القدرة على التخلص من المواد العضوية.
- لاتؤثر على الطعم والرائحة بل تُحسن الطعم من خلال تكسيرها للمواد العضوية.
- تحتاج لزمن تعريض قصير نسبياً.

ومن عيوب هذه الطريقة أنه لايمكن استعمالها في معالجة المياه عالية العكارة والمحتوية على المواد العضوية الذائبة.



شكل يوضح الطول الموجي للأشعة فوق البنفسجية



خطوات عملية معالجة مياه الشرب النموذجية

الإجراءات المنزلية لتطهير المياه في الحالات الطارئة:

قد يحتاج الأمر عند تلوث مياه شبكة التوزيع بصورة كبيرة إلى التفكير في الحصول على مياه صالحة للشرب فيفضل كخطوات عملية سريعة لتوفير المياه إذابة مكعبات الثلج المعدة مسبقاً أو تبريد المياه الساخنة المتواجدة في السخان الكهربائي كما أنه في العديد من الحالات فإن استعمال مياه الآبار المحمية مؤقتاً يُعتبر من الحلول الجيدة كما يجب تجنب المياه التي تظهر لوناً أو رائحة مغايرةً للون المياه الطبيعي ولتطهير المياه فإنه يجب الأخذ في الاعتبار عدة خصائص فيزيائية منها درجة العكارة حيث أن عملية التطهير لن تُجدي إذا كانت عكارة المياه عالية فعندها يُفضل أن يتم ترشيح المياه باستعمال قطعة قماش نظيفة أو تركها حتى تترسب للقيام بعملية التطهير كما يجب أن تُخزن المياه المعالجة في وعاء نظيف محكم القفل.

هناك وسيلتان رئيسيتان لإنجاح عملية تطهير الكميات القليلة من المياه وهما طريقة الغلي وهي من أفضل الطرق على الإطلاق وطريقة المعالجة الكيميائية التي يجب أن تُجرى بعناية.

طرق التطهير الطارئة:

- **الغليان: Boiling**

الغليان المتواصل لمدة دقيقة واحدة كافٍ للقضاء على الجراثيم البكتيرية المُمرضة والمتواجدة في المياه إلا أن عملية الغليان سينتج عنها طعم إلى حد ما غير جيد ولتفادي ذلك يتم سكب المياه التي تمت تغليتها من وعاء إلى آخر وهذه العملية تسمى عملية التهوية كما يمكن اضافة مقدار قليل من الملح إلى الماء المغلى.

- **المعالجة الكيميائية: Chemical treatment**

في الظروف التي لايمكن فيها المعالجة بطريقة الغليان يمكن الإستعانة باستعمال مواد كيميائية لتطهير هذه المياه حيث يمكن استعمال مادة الكلور أو اليود.

❖ استعمال الكلور: Chlorine

○ البوتاس: Chlorine bleach

يحتوي البوتاس المنزلي على مادة الكلور التي ستقوم بدورها بتطهير المياه، ولتحديد الجرعة المناسبة يتم في البداية تحديد تركيز الكلور المتواجد في البوتاس لتتم إضافته كما في الجدول التالي، وإذا ما كان التركيز غير معلوم فيتم اضافة 10 قطرات لكل Quart على أن يتم مضاعفة الجرعة إذا ما كانت المياه عكرة أو تحتوي على لون.

تركيز مادة الكلور المتواجدة في البوتاس	عدد القطرات لكل Quart*
% 1	10
% 6 – 4	2
% 10 – 7	1

* Quart = 0.95 لتر أمريكي.

مع مراعاة مزج المياه المعالجة بصورة جيدة وتركها لمدة 30 دقيقة قبل استعمالها وستلاحظ رائحة خفيفة لمادة الكلور فإذا لم تلاحظ هذه الرائحة عندها يجب اضافة قطرات أخرى من المادة المطهرة وتركها لمدة 15 دقيقة أما إذا ما كانت رائحة الكلور قوية فيتم ترك الماء في الهواء لعدة ساعات أو بسكبه من وعاء نظيف لآخر لعدة مرات لغرض التهوية.

○ حبيبات هيبوكلورايث الكالسيوم: Calcium Hypochlorite

يتم في البداية تحضير المحلول باضافة مقدار ملعقة من حبيبات هيبوكلورايث الكالسيوم (ما يعادل 30 غرام تقريباً) إلى حوالي 1 جالون من الماء (1جالون يساوى ≈ 0.0455 لتر) ليكون تركيز المحلول حوالي 500 مليغرام/لتر عندها سيكون تركيز الكلور حوالي 70% من الوزن ولتطهير المياه يتم اضافة الكلور بمقدار جزء إلى 100 جزء من

المياه أي بنسبة 1 : 100 وهو ما يعادل اضافة $1\backslash_2^1$ لتر من المحلول إلى حوالي 12.5 جالون.

○ أقراص الكلور Chlorine tablets

تستعمل حسب التعليمات المدوّنة على الكيس وفي حالة عدم وجود بيانات يُضَاف قرص واحد إلى 1.15 لتر من الماء المراد تطهيره.

التطهير باستعمال أقراص الكلور

❖ استعمال اليود: Iodine

لايمكن استعمال اليود لتطهير المياه السطحية ويمكن استعماله فقط لتطهير المياه الجوفية حيث أنه غير فعَّال في التخلص من طفيل *الجيارديا* والطفيل *كريبتوسبوريديوم*.

○ اليود الطبي Tincture iodine

يمكن استعمال اليود الطبي الذي يُستعمل في الإسعافات الأولية في تطهير المياه وذلك باضافة حوالي 5 قطرات من تركيز 2% يود إلى كل لتر من المياه الصافية أما المياه العكرة فيتم اضافة حوالي 10 قطرات مع ترك المياه لمدة 30 دقيقة قبل استهلاكها.

- **أقراص اليود Iodine tablets**

يتم اتباع التعليمات المدونة على الكيس وفي حالة عدم وجود هذه التعليمات فيتم اضافة قرص واحد من اليود إلى 1 لتر من الماء المراد تطهيره.

❖ **التطهير بأشعة الشمس Solar disinfection (SODIS)**

تم التعرف على هذه الطريقة سنة 1991 ومن خلال التجارب المعملية تبين قدرة هذه الطريقة على التخلص من الجراثيم القولونية بنسبة 99.9% ويتم ذلك بتعريض القنينة لأشعة الشمس لمدة حوالي 5 ساعات في درجة حرارة منخفضة أو لمدة ساعة عندما تصل درجة حرارة المياه إلى 50 درجة مئوية وهذه الطريقة تشبه إلى حد كبير طريقة الغليان ويمكن تخزين المياه المعالجة بهذه الطريقة لمدة إسبوعين دون عودة نمو البكتيريا من جديد (regrowth) وبناءاً على المعلومات المتوفرة لدى منظمة الصحة العالمية فإنه بالإمكان الإعتماد على أشعة الشمس في التطهير المباشر لكميات قليلة من المياه (للاستعمال المنزلي) فهي قادرة على القضاء أو تثبيط نمو أغلب الجراثيم البكتيرية إن لم يكن كلها والتي قد تتواجد في المياه وذلك من خلال:

- **تأثيرحرارة الأشعة الشمسية (التسخين).**

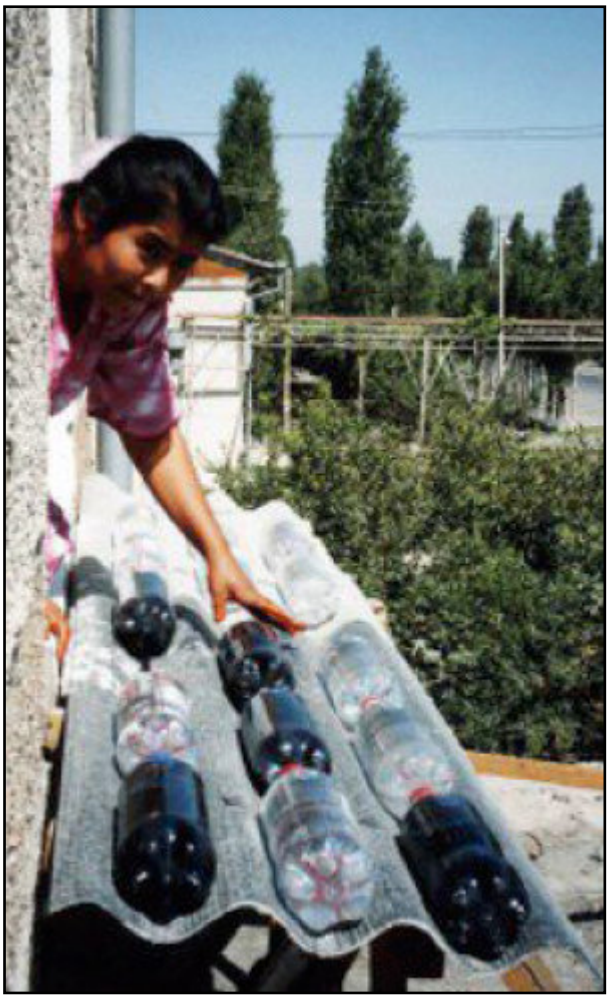
ويتم ذلك من خلال تعريض وعاء ممتليء بالماء للأشعة الشمسية المركزة ليتم من خلال ذلك تسخين الوعاء حيث تصل درجة حرارة الماء إلى حوالي 55 – 65 درجة مئوية وهي كافية للقضاء على البكتيريا المعوية الممرضة ويمكن وضع شمعة في وعاء آخر ليدل على وصول الحرارة إلى الدرجة المقصودة عند ذوبانها.

- **تأثير الأشعة فوق البنفسجية الطبيعية.**

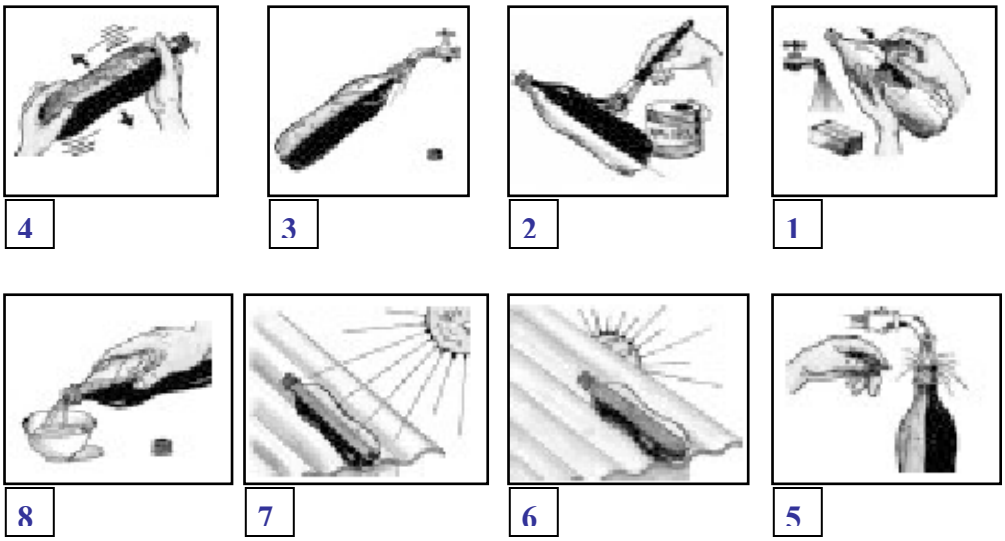
تعتمد على تعريض قنينة ممتلئة بالمياه المراد تطهيرها مباشرةً لأشعة الشمس على أن لاتزيد درجة عكارة الماء عن 30 NTU.

- **تأثير حرارة الأشعة الشمسية و الأشعة فوق البنفسجية الطبيعية معاً.**

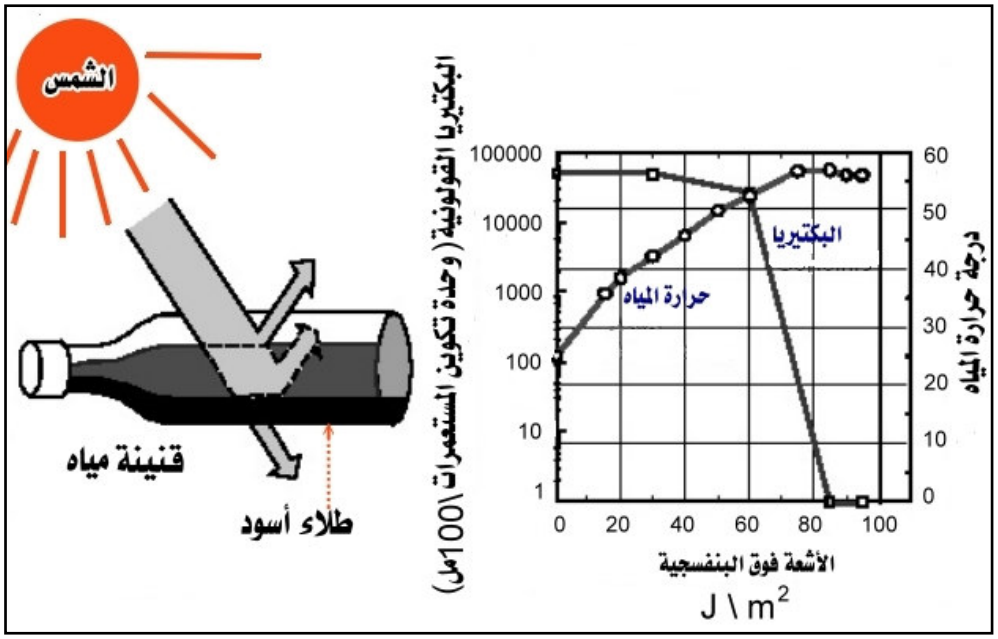
وهي من أكثر الطرق استعمالاً في التطهير المنزلي حيث أنها غير مكلفة من الناحية المادية وتعتمد على تعريض قنينة شفافة اللون ممتلئة جزئياً بالمياه المراد تطهيرها مباشرةً لأشعة الشمس على أن لاتزيد درجة عكارة الماء عن NTU 30 ويفضل طلاء جانب القنينة السفلي بالطلاء الأسود ليعكس أشعة الشمس المخترقة لجدار القنينة فتُعطي مفعولاً مضاعفاً جرّاء ارتفاع درجة حرارة الماء ومن المهم جداً رج القنينة من حين لآخر، ويعتمد زمن التعريض على شدة حرارة الشمس.



قنينات مياه مطلية بالطلاء الأسود وأخرى غير مطلية معرضين لأشعة الشمس



الخطوات العملية للتطهير باستعمال أشعة الشمس SODIS



تطهير المياه باستعمال حرارة الشمس والأشعة فوق البنفسجية

❖ تطهير الآبار باستعمال الكلور:

ينصح Dutchess County Health Department's environmental laboratory بتطهير مياه الآبار لضمان خلوها من الجراثيم المُمرضة فيمكن سكب الكلور السائل CloroxTM أو حبيبات الهيبوكلورايث في البئر المراد تطهيره، كما أنه من الممكن استعمال أقراص الكلور التي تستعمل لتطهير أحواض السباحة حيث أنها تمتاز بقدرتها على الغوص إلى قاع البئر لتطهير المياه القابعة أسفل البئر إلا أنه يعاب عليها تأخر ذوبانها وبالتالي تأخر انتشار المادة الفعَّالة (الكلور) ويعتمد تركيز الكلور المضاف على عمق البئر كما هو موضح في الجدول التالي:

عمق البئر	الكمية المضافة
100	3 أكواب من **Clorox™** أو مايعادل 56 غرام حبيبات الهيبوكلورايث
200	4 أكواب من **Clorox™** أو مايعادل 112 غرام حبيبات الهيبوكلورايث
300	6 أكواب من **Clorox™** أو مايعادل 168 غرام حبيبات الهيبوكلورايث
400	9 أكواب من **Clorox™** أو مايعادل 252 غرام حبيبات الهيبوكلورايث
500	12أكواب من **Clorox™** أو مايعادل 336 غرام حبيبات الهيبوكلورايث

الخطوات:

1- أنزع غطاء البئر ثم أضف الكلور السائل.

2- قم بخلط مياه البئر ليمتزج الماء بالكلور ويمكن استعمال أنبوب الري بتركيبه في الصنبور الملحق بالبئر لإعادة تدوير المياه ويكفي حوالي 37.850 لتر مكعب من المياه.

3- أدر صنابير المياه الباردة إلى أن تظهر رائحة الكلور في المياه المتدفقة من أبعد صنبور عن البئر.

4- أقفل الصنابير ولا تستعمل المياه قبل مرور حوالي 8 – 24 ساعة وقم بإعادة غطاء البئر.

5- بعد ذلك أعد فتح الصنبور لمدة حوالي 15 دقيقة حتى تتلاشي رائحة الكلور وكذلك الطعم.

6- تستمر فاعلية المطهر لمدة حوالي 10 أيام وتأكد من ذلك بقياس تركيز الكلور في المياه.

خصائص طرق التطهير

	الغلي باستعمال الوقود	التطهير بالأشعة الشمسية (الحرارة والأشعة فوق البنفسجية	التطهير بالأشعة الشمسية الحرارة	التطهير بمصباح الأشعة فوق البنفسجية	التطهير بالكلور	التخثير والترشيح بالاضافة للكلور
التخلص من الجراثيم	نعم وبشكل جيد	نعم وبشكل جيد لأغلب الجراثيم الممرضة	نعم وبشكل جيد لأغلب الجراثيم الممرضة	نعم وبشكل جيد لأغلب الجراثيم الممرضة	نعم وبشكل جيد لأغلب الجراثيم الممرضة	نعم وبشكل جيد
الحد من حالات الإسهال	نعم	نعم، 9 - 26%	من المتوقع فاعليته في درجة حرارة 55 درجة مئوية	من المتوقع فاعليته	نعم، 15- 48%	من المتوقع فاعليته
المظهر الحر المتبقي	لا	لا	لا	لا	نعم	نعم
نوعية المياه المراد معالجتها	لا	عكارة أقل من NTU30	-	عكارة أقل من NTU 30	عكارة أقل من 30 NTU	لا يمكن استعمالها لمعالجة المياه الرديئة

التغير الكيميائي المتوقع للمياه المعالجة	غالباً لا، وقد ينتج عنه ترسب بعض المواد الكيميائية ونزع الأكسجين	لا، أو غير مؤثر	لا، أو غير مؤثر	لا تغير أو من النادر	نعم، قد يؤثر على الطعم، الرائحة وينتج عنه مواد جانبية	نعم، قد يؤثر على الطعم، الرائحة وينتج عنه مواد جانبية
عودة نمو الجراثيم في المياه المعالجة	نعم، عند التخزين لمدة 1 – 2 يوم	نعم، عند التخزين لمدة أكثر من 1 – 2 يوم	نعم، عند التخزين لمدة 1 – 2 يوم	نعم، عند التخزين لمدة 1 – 2 يوم	غالباً لا، إذا ما توفر مقدار كافٍ من الكلور الحر	غالباً لا، إذا ما توفر مقدار كافٍ من الكلور الحر
سهولة التطبيق	سهل	سهل	سهل ويحتاج للتدريب	يحتاج لتدريب متوسط للصيانة والتنظيف وتغيير المصباح	سهل ويحتاج للتدريب	يحتاج لتدريب متوسط لاضافة المواد الكيميائية، الخلط، التخثير والترشيح
المواد المستعملة	يحتاج لمصدر للطاقة	يحتاج لقنينات بلاستيكية من مادة PET	يحتاج قنينات مظلمة وعاكس حراري	يحتاج إلى وحدة الأشعة فوق البنفسجية واستبدال المصباح ومصدر للطاقة الكهربائية	يحتاج لمصدر يوفر الكلور الحر ووعاء نظيف للتخزين	يحتاج لمصدر يوفر المواد الكيميائية

كمية المياه المعالجة	يوفر الحاجة اللازمة للاستهلاك	حوالي لتر – لتر ونصف للقنينية الواحدة.	1 – 4 لتر للوعاء الواحد	بالإمكان تطهير الكمية اللازمة إعتماداً على حجم وعدد المصابيح وسعة المفاعل	مقدار غير محدد	10 – 20 لتر حسب كمية المواد الكيميائية المستعملة
المقبولية	عالي	عالي - متوسط	عالي - متوسط	عالي	عالي - متوسط	عالي - متوسط
الزمن اللازم للتطهير	حوالي 10 دقائق	في وجود الشمس عدة ساعات، وغير مفيد في غياب الشمس	في وجود الشمس عدة ساعات، وغير مفيد في غياب الشمس	ثواني أو دقائق إعتماداً على حجم المياه والمفاعل المستعمل	عدة ساعات	عدة ساعات

الأوساط الغذائية

1- الوسط الغذائي Bile aesculin azide agar

1- Peptone	10 غرام
2- Meat extract	10 غرام
3- Ox-bile purified and dehydrated	10 غرام
4- Sodium chloride	5 غرام
5- Aesculin	1 غرام
6- 0Sodium azide	15 غرام
7- Ferric ammonium citrate, green scales	5 غرام
8- Agar	10 غرام
9- Distilled water	1000 مليلتر

قم بإذابة المكونات في الماء المقطر عند درجة حرارة 100 درجة مئوية مع ضبط معدل الأس الهيدروجيني على المعدل 7 ويتم التعقيم عند درجة حرارة 115 درجة مئوية لمدة 10 دقائق ثم تسكب في أطباق وتحفظ في درجة حرارة 4 درجات مئوية.

2-الوسط الغذائي Brilliant green lactose broth :

1- Peptone	10 غرام
2- Lactose	10 غرام
3- Ox bile, purified and dehydrated	20 غرام
4- Brilliant green, 0.1 %(w/v) in water	13 مليلتر
5- Distilled water	1000 مليلتر

يتم إذابة الـــ Peptone في 500 مليلتر من الماء المقطر وإذابة الـــ Ox bile, purified and dehydrated في 200 مليلتر من الماء المقطر على أن يضبط معدل

الأس الهيدروجيني ما بين 7 – 7.5 ثم قم بخلط المحلولين مع اضافة الماء المقطر ليصل الحجم إلى 975 مليلتر، بعد ذلك أضف اللاكتوز مع تعديل معدل الأس الهيدروجيني إلى 7.4 وأضف محلول الـ Brilliant green ليصل الحجم الكلي إلى 1 لتر وتوزع في أنابيب تحتوى كلٌ منها على أنبوبة دورهام مقلوبة بحجم 5 مليلتر لكل أنبوبة ويتم تعقيمها عند درجة حرارة 115 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.

3- الوسط الغذائي

Differential reinforced clostridial medium (DRCM)

قم بتحضير الوسط الغذائي بتركيز مضاعف وللحصول على التركيز العادي يتم تخفيفه باضافة نفس كمية الماء المقطر.

أ- الوسط الغذائي الأساسي Basal medium

1- Peptone	20 غرام
2- Meat extract	20 غرام
3- Sodium acetate, hydrated	10 غرام
4- Yeast extract	3 غرام
5- Soluble starch	2 غرام
6- Glucose	2 غرام
7- L (-) Cysteine hydrochloride	1 غرام
8- Distilled water	1000 مليلتر

قم بإذابة Peptone و Meat extract و Sodium acetate و Yeast extract في 800 مليلتر من الماء المقطر وأذب النشأ في 200 مليلتر من الماء المقطر على أن يتم إذابة النشأ في جزء قليل من الماء المقطر ثم يضاف إليه بقية الماء المقطر الساخن، وبعد ذلك أخلط هذين المحلولين مع اضافة كلٍ من سكر الجلوكوز والـ Cysteine، مع ضبط الأس الهيدروجيني على 7.1 – 7.2.

يوزع هذا الوسط بأحجام 10 و 50 ملليتراً على قنينات محكمة الإغلاق ذات سعة 28 و 125 ملليتر على التوالي وبحجم 25 ملليتراً من التركيز العادي في قنينة محكمة الإغلاق ذات حجم 28 ملليتراً. ويتم تعقيم هذا الوسط في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة.

- **Sodium sulphate and ferric ammonium citrate solutions**

يتم تحضير تركيز 4% من محلول الـ Sodium sulphate وتركيز 7% من الـ Ferric ammonium citrate بإذابة هذه المواد في الماء المقطر. وتتم عملية التعقيم بواسطة الترشيح، وبالإمكان حفظ هذا المحلول لمدة 14 يوماً في درجة حرارة 4 درجات مئوية.

ب – الوسط الغذائي النهائي Final medium

يتم تحضير هذا الوسط في اليوم الذي سيتم فيه إجراء الاختبار وذلك باضافة مقدار متساوٍ من محلول الـ Sodium sulphate و الـ Ferric ammonium citrate. ويتم نزع الأكسجين الذائب من الوسط الغذائي الأساسي بتسخين هذا الوسط وتبريده ليتم اضافة 0.4 مليلتر و 2 مليلتر على التوالي من Sodium sulphate و ferric ammonium citrate solutions إلى 10 و 50 ملليتراً من الوسط الغذائي الأساسي المضاعف التركيز، وأضف 0.5 مليلتر إلى 25 ملليتراً من التركيز العادي للوسط الغذائي الأساسي.

4- الوسط الغذائي Glucose azide broth

1- Peptone	20 غرام
2- Sodium chloride	10 غرام
3- Glucose	10 غرام
4- Di-potassium hydrogen phosphate	10 غرام

5- Potassium dihydrogen phosphate	4 غرام
6- Yeast extract	6 غرام
7- Sodium azide	0.5 غرام
8- Bromocresol purple, 1.6 %(w/v) in ethanol	4 مليلتر
9- Distilled water	1000 مليلتر

يتم تحضير تركيز مضاعف من هذا الوسط الغذائي وتخفيفه للحصول على التركيز العادي باضافة نفس المقدار من الماء المقطر.

أذِب المقادير في الماء المقطر مع ضبط الأس الهيدروجيني عند 6.6 – 6.8 ويوزع على أنابيب أو قنينات وتُعقم في درجة حرارة 115 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.

ملاحظـــــــة

يعتبر الــ Sodium azide سام جداً إذا ما تم ابتلاعه أو استنشاقه.

Lactose peptone water with phenol -5

1- Sodium chloride	5 غرام
2- Lactose	10 غرام
3- Phenol red, 0.4 %(w/v) in water	2.5 غرام
4- Peptone	10 غرام
5- Distilled water	1000 مليلتر

أذب هذه المواد في الماء المقطر مع ضبط الأس الهيدروجيني عند 7.5، ثم أضف كاشف الــ Phenol red وتوزع بحجم 5 مليلتر على أنابيب اختبار تحتوى على أنابيب دورهام مقلوبة ويتم تعقيم هذا المحلول في درجة حرارة 110 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.

6 –الوسط الغذائي Lauryl sulphate broth (Lauryl tryptose broth)

1-Tryptose	40 غرام
2-Lactose	10 غرام
3-Sodium chloride	10 غرام
4-Di-potassium hydrogen phosphate	5.5 غرام
5-Potassium dihydrogen phosphate	5.5 غرام
6- (BDH 44244) Sodium lauryl sulphate, pure	0.2 غرام
7-Distilled water	1000 مليلتر

أضف الــ Tryptose و الــ Sodium chloride وسكر اللاكتوز و الــ Di-potassium hydrogen phosphate و الــ Potassium dihydrogen phosphate إلى الماء المقطر مع التسخين لإذابتهم، ثم أضف الــ Sodium lauryl sulphate مع التحريك بلطف وضبط الأس الهيدروجيني عند 6.8، ولتحضير التركيز المضاعف من هذا الوسط أضف نفس الكمية من الماء المقطرإلى نصف كمية المواد المذكورة أعلاه.

قم بتوزيع الوسط الغذائي المضاعف التركيز على أنابيب وقنينات تحتوى على أنبوبة دورهام مقلوبة بأحجام ذات سعة 10 مليلتر و 50 مليلتراً، والوسط الغذائي ذو التركيز العادي بحجم 5 مليلتر ويتم تعقيمهم في درجة حرارة 115 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.

7- الوسط الغذائي Litmus milk broth

تنتج البكتيريا المخمرة لسكر اللاكتوز عند تنميتها في هذا الوسط الغذائي حمضاً ليصبح لون الوسط الغذائي ورديا حيث أن كمية كبيرة من الحمض سترسب الــ Casein على هيئة تخثر وعند تكون الغاز يتكون ما يعرف بالتخثر العاصف (Stormy Clot). وفي حال وجود البكتيريا المحللة للبروتين فإن بروتين الحليب سيتحول إلى سائل شفاف

وبالتالي فإنه عند استعمال الوسط الغذائي Litmus milk broth سيتحول لونه إلى أرجواني غامق في خلال عدة أيام.

- الحليب المجفف Skimmed milk

قم بتسخين الحليب الطازج باستعمال البخار لمدة 20 دقيقة واتركه بعد ذلك لمدة 24 ساعة فتتكون طبقة قشدية القوام Creamy يمكن فصلها ويتم التخلص من الحليب المتبقي.

- محلول Litmus

1- Litmus granules	80 غرام
2- 40% Ethyl alcohol	300 مليلتر
3- 1 mol\l Hydrochloric acid	

يتم طحن الحبيبات وتُسكب في دورق يحتوى على 150 مليلتر من الكحول الإيثيلي ويُترك يغلى لمدة دقيقة بعد ذلك يتم اضافة الكحول الإيثيلي بتركيز 40 % حتى الحجم 300 مليلتر. ثم يُضاف قطرات من حمض الهيدروكلوريك مع التحريك حتى يتغير لون المحلول ليصبح أرجواني اللون.

للتأكد من التحضير الجيد لهذا المحلول يتم غلي أنبوبة اختبار تحتوى على ماء من الصنبور وأنبوبة اختبار أخرى تحتوى على ماء مقطر ويضاف لهم قطرة من هذا المحلول عندها سيتحول لون الأنبوبة التي تحتوى على الماء المقطر إلى اللون البنفسجي والإنبوبة التي تحتوي على ماء الصنبور إلى اللون الأزرق.

التحضير النهائي لهذا الوسط يتم بتوزيع 5 مليلتر من هذا الوسط في أنابيب وتعقم بالبخار لمدة 20 دقيقة لمدة ثلاث أيام متتالية مع اضافة الـــ Litmus مباشرة قبل التوزيع.

8- الوسط الغذائي MacConkey broth

1- Peptone	20 غرام
2- Lactose	10 غرام
3- Bile salts	5 غرام
4- كلوريد الصوديوم	5 غرام
5- Neutral red	0.075 غرام
6- Distilled water	1000 مليلتر

ويتم تعقيمهم في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة مع ضبط معدل الأس الهيدروجيني عند 7.4

9- الوسط الغذائي Nutrient agar

1- Lab-Lemco powder	1 غرام
2- yeast extract	2 غرام
3- Peptone	5 غرام
4- Sodium chloride	5 غرام
5- Agar	15 غرام
6- Distilled water	1000 مليلتر

ويتم تعقيمهم في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة مع ضبط معدل الأس الهيدروجيني عند 7.4

10- الوسط الغذائي Tryptone water

1- Tryptone water	10 غرام
2- Sodium chloride	5 غرام
3- Distilled water	1000 مليلتر

ويتم تعقيمهم في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة مع ضبط معدل الأس الهيدروجيني عند (0.2 +/−) 7.4 .

11- الوسط الغذائي Modified Starkey's medium A :

وهو يتكون من :

1- Hydrogen phosphate di-potassium (anhydrous)	0.5 غرام
2- Amonium chloride	1.0 غرام
3- Calcium chloride(dehydrate)	0.1 غرام
4- (heptahydrate) Magnesium sulphate	2.0 غرام
5- Sodium lactate solution (60 – 70%)	5.0 مليلتر 100في مليلتر ماء مقطر
6- Sodium thioglycolate	0.1 غرام
7- Ascorbic acid	0.1 غرام
8- (heptahydrate) ferric (II) sulphate	0.001 غرام
9- Deionized or Distilled water	1 لتر

يتم إذابة جميع المواد السابقة (فيما عدا محلول لاكتات الصوديوم) في 800 مليلتر من الماء المقطر مع التسخين إن استلزم الأمر ولفترة وجيزة. ويتم ضبط معدل الأس الهيدروجيني في حدود 7.2 (± 0.2). ويُضاف مامقداره 5 مليلتر من محلول لاكتات الصوديوم إلى 100 مليلتر من الماء ويتم غلي المحلول، بعد ذلك يُضاف المحلول إلى بقية المواد المذابة سابقاً ليصل الحجم النهائي إلى 1000 مليلتر وذلك بعد اضافة الماء المقطر.

يُوَزع الوسط الغذائي الجاهز على أنابيب اختبار ذات سعة أكثر من 10 مليلتر وذلك بوضع 9 مليلتر من هذا الوسط في كل أنبوبة لإجراء التخفيفات اللازمة، ومن المهم جداً اضافة النيتروجين للتخلص من الأكسجين المتبقي وتوفير أفضل الظروف البيئية لنمو البكتيريا المختزلة للكبريت وبعد ذلك يتم تعقيم الأنابيب في درجة حرارة 121 درجة مئوية

لمدة 15 دقيقة. كما يجب التأكيد على ضرورة تحضير الوسط الغذائي مباشرةً قبل البدء في إجراء التحليل.

12- الوسط الغذائي Modified API RP-38 medium:

وهو يتكون من:

1- Sodium sulphate	1 غرام
2- Sodium lactate solution (60 – 70%)	4 مليلتر 100في مليلتر ماء مقطر
3- Yeast extract	1 غرام
4- Ascorbic acid	0.1 غرام
5- كبريتات الماغنيسيوم (heptahydrate)	0.2 غرام
6- فوسفات الهيدروجين ثنائي البوتاسيوم	0.01 غرام
7- Iron(II)ammonium sulphate hexahydrate	0.2 غرام
8- Distilled water or Deionized	1 لتر

يتم إذابة جميع المكونات السابقة (فيما عدا محلول لاكتات الصوديوم) في 800 مليلتر من الماء مع التسخين إن استلزم الأمر ولفترة وجيزة، ويتم ضبط معدل الأس الهيدروجيني في حدود 7.2 (± 0.2). ويُضاف مقدار 5 مليلتر من محلول لاكتات الصوديوم إلى 100 مليلتر من الماء ويتم غلي المحلول، بعد ذلك يُضاف المحلول إلى بقية المواد المذابة سابقاً ليصل الحجم النهائي إلى 1000 مليلتر وذلك بعد اضافة الماء المقطر.

يُوزع الوسط الغذائي الجاهز على أنابيب اختبار ذات سعة أكثر من 10 مليلتر وذلك بوضع 9 مليلتر من هذا الوسط في كل أنبوبة لإجراء التخفيفات اللازمة، ومن المهم جداً اضافة النيتروجين حتى يتم التخلص من الأكسجين المتبقي وتوفير أفضل الظروف البيئية لنمو البكتيريا المختزلة للكبريت. وبعد ذلك يتم تعقيم الأنابيب في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة. كما يجب التأكيد على ضرورة تحضير الوسط الغذائي مباشرةً قبل البدء في إجراء التحليل.

13- الوسط الغذائي Modified W-R single strength medium:

يتكون هذا الوسط من:

1- Hydrogen phosphate di-potassium	0.5 غرام
2- Maghnesiu sulphate (heptahydrate)	0.5 غرام
3- Ammonium nitrate	0.5 غرام
4- Calcium chloride (dehydrate)	50 مليغرام
5- Iron(III) ammonium citrate	6 غرام
6- Distilled water	1 لتر

يتم تحضير هذا الوسط بتركيز مضاعف، بحيث يتم إذابة المواد في الماء ويتم ضبط الأس الهيدروجيني إلى 6.7 (± 0.2) وتوزيعه بحجم قدره 15 ملليتراً في قنينات ذات سدادات محكمة الإغلاق ذات سعة 50 ملليتراً، أو باضافة حجم قدره 25 ملليتراً في قنينات ذات سعة 100 ملليتر ويتم تعقيمها في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة كما يجب التأكيد على ضرورة تحضير الوسط الغذائي مباشرةً قبل البدء في إجراء التحليل.

وكطريقة بديلة يمكن تحضير محلول مضاعف التركيز 20 مرة من الوسط الغذائي سالف الذكر. ويتم نقل 0.75 ملليتر من هذا المحلول إلى قنينة ذات سعة 25 ملليتر وتجفيفها في درجة حرارة 65 درجة مئوية. ويتم بعد ذلك غلق هذه القنينات جيداً ومن الممكن حفظها في درجة حرارة 2-8 درجة مئوية لفترة قد تدوم سنة من تاريخ التحضير.

14- الوسط الغذائي Tryptose sulphite cycloserine agar بدون Egg yolk:

1- Yeast extract	5 غرام
2- Tryptose	15 غرام
3- Soya peptone	5 غرام

4- Sodium metabisulphite	1 مليغرام
5- Iron(III) ammonium citrate	1 غرام
6- Agar	14 غرام
7- Distilled water	1 لتر

يتم وضع جميع المواد في الماء المقطر لإذابتها بالتسخين مع التحريك المستمر بعد ذلك يتم تعقيم الوسط الغذائي في الأوتوكلاف عند درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة ويترك ليبرد وعندما تصل درجة حرارته إلى 45 – 48 درجة مئوية يضاف إليه مقدار 4 مليلتر من محلول D- cycloserine المُعقم بالترشيح بتركيز 100 مليغرام لكل لتر وبعد المزج الجيد يتم توزيع الوسط الغذائي على أطباق بثري مع تعديل معدل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.6 (± 0.2). مع مراعاة أن يتم تخزين الوسط الغذائي بعد تحضيره في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية لمدة لاتزيد عن اسبوع والأطباق التي يتم إخراجها من الثلاجة ولم تُستعمل لاتعاد للثلاجة من جديد ويتم التخلص منها.

15- الوسط الغذائي Buffered nitrate-motility medium:

1- Beef extract	3 غرام
2- Peptone	5 غرام
3- Potassium nitrate	5 غرام
4- D- Galactose	5 غرام
5- Glycerol	5 غرام
6- Disodium hydrogen phosphate	2.5 غرام
7- Agar	3 غرام
8- Distilled water	1 لتر

قم بإذابة المواد في الماء المقطر وتوزيعها بمقدار 10 مليلتر في انابيب اختبار ذات حجم مناسب وتحتوي على غطاء مُحكم، ويتم تعقيمها في جهاز الأوتوكلاف في درجة

حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك يتم تعديل الأس الهيدروجيني ليكون مابين 7.3 (± 0.2)، وتُخزن الأوساط الغذائية التي يتم تجهيزها في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية.

16- الوسط الغذائي Lactose-gelatin medium:

1- Tryptose	15 غرام
2- Yeast extract	10 غرام
3- Disodium hydrogen phosphate	5 غرام
4- Gelatin	120 غرام
5- Lactose	10 غرام
6- Phenol red (0.4% m\v)محلول	12.5 غرام
7- Distilled water	1 لتر

يتم إذابة المواد في الماء المقطر (ما عدا Lactose و محلول Phenol red) مع تعديل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.5 (± 0.2) بعد ذلك يُضاف إليهم سكر اللاكتوز ومحلول Phenol red، ويُمزج الخليط ليوزع بعد ذلك في انابيب اختبار بمقدار 10 مليلتر ، ويتم تعقيمها في جهاز الأوتوكلاف في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك يتم تعديل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.5 (± 0.2). مع مراعاة أن يتم تخزين الوسط الغذائي بعد تحضيره في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية لمدة لا تزيد عن شهر.

17- الوسط الغذائي Membrane enterococcus agar:

1- Tryptose	20 غرام
2- Yeast extract	5 غرام
3- Dipotassium hydrogen phosphate	4 غرام
4- Sodium azide	400 مليغرام

5- Glucose	2 غرام
6- Agar	12 غرام
7- 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (1%m\v) solution	10 مليلتر
8- Distilled water	1 لتر

يتم إذابة المواد في الماء المقطر(ما عدا triphenyltetrazolium chloride) مع التسخين في درجة حرارة معتدلة، بعد ذلك يتم تعديل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.2 (± 0.2). يضاف إليه محلول triphenyltetrazolium chloride المُعقم بالترشيح ويُصب مباشرةً في أطباق بتري. يجب أن لايتم تخزين الأوساط الغذائية المُحَضرة وقد يتم تخزين الأطباق المحضرة في درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية لمدة لاتزيد عن شهر. مع مراعاة عدم التسخين في درجة حرارة عالية حتى لا تتأثر كفاءة الوسط الغذائي، وإذا ما لوحظ تغير لون الوسط الغذائي إلى اللون الوردي أو البرتقالي عند إذابته في درجة حرارة 50 درجة مئوية فيجب عدم استعماله والتخلص منه.

18- الوسط الغذائي Kanamycin aesculin azide agar:

1- Tryptone	20 غرام
2- Yeast extract	5 غرام
3- Iron(III) ammonium citrate	500 مليغرام
4- Sodium citrate	1 غرام
5- Aesculin	1 غرام
6- Sodium chloride	5 غرام
7- Sodium azide	150مليغرام
8- Kanamycin sulphate	20 مليغرام
9- Agar	12 غرام
10- Distilled water	1 لتر

قم بإذابة المواد في الماء المقطر، ويتم تعقيم المحلول في جهاز الأوتوكلاف في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة، بعد ذلك يتم تعديل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.0 (± 0.2). مع مراعاة أن يتم تخزين الوسط الغذائي بعد تحضيره في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية لمدة لا تزيد عن شهر.

19- الوسط الغذائي Bile aesculin agar:

1- Peptone	8 غرام
2- Bile salt	20 غرام
3- Aesculin	1 غرام
4- Agar	15 غرام
5- Iron(III)citrate	500 مليغرام
6- Distilled water	1 لتر

قم بإذابة المواد في الماء المقطر، بعد ذلك يتم تعديل الأس الهيدروجيني ليكون ما بين 7.1 (± 0.2) ويُعَقَّم المحلول في جهاز الأوتوكلاف في درجة حرارة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة، مع مراعاة أن يتم تخزين الوسط الغذائي بعد تحضيره في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية لمدة لا تزيد عن شهر.

20- الوسط الغذائي *Pseudomonas* agar with cetrimide & nalidixic acid:

1- Casein Or Peptone	10 غرام
2- Gelatin peptone	16 غرام
3- Potassium sulphate (anhydrous)	10 غرام
4- Magnesium chloride(anhydrous)	1.4 غرام
5- Glycerol	10 مليلتر
6- Cetrimide	200 مليغرام

7- Nalidixic acid, sodium salt	15 مليغرام
8- Agar	11 غرام
9- Distilled water	1 لتر

21- الوسط الغذائي Milk agar with citrimide:

1- Peptone	0.075 غرام
2- Yeast extract	16 غرام
3- Sodium chloride	1.25 غرام
4- Skimmed milk powder	100 غرام
5- Cetrimide	0.3 مليغرام
6- Agar	51 غرام
7- Distilled water	1 لتر

22- محلول التخفيف Peptone saline:

1- Peptone	1 غرام
2- Sodium chloride	8.5 غرام
3- Distilled water	1 لتر

الكـــواشـــــف

1- كاشف كوفاك

1- p- Dimethylaminobenzaldehyde	2 غرام
2- Amyl alcohol	30 مليلتر
3- Hydrochloric acid (Conc.)	10 مليلتر

أذب الـــ p- Dimethylaminobenzaldehyde في الكحول الأميلي ثم أضف حمض الهيدروكلوريك المركز مع الخلط الجيد. ويحفظ في قنينة معتمة في درجة حرارة تتراوح مابين 2 و 8 درجة مئوية على أن لاتتراوح مدة التخزين شهر.

2- كاشف الأوكسيداز

يتم تحضيره مباشرة قبل الاستعمال

1- Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride	0.1 غرام
2- Distilled water	10 مليلتر

3- كواشف اختبار اختزال النترات:

- الكاشف (أ):

1- Sulphanilic acid	0.8 غرام
2- 5N acetic acid	100 مليلتر

يتم إذابته بالتسخين في درجة حرارة غير عالية.

- الكاشف (ب):

1- N,N-dimethyl α-naphtylamine	0.6 غرام
2- 5N acetic acid	100 مليلتر

يتم مزج المركبين معاً. مع مراعاة أن يتم حفظ الكواشف في الثلاجة عند درجة حرارة 2 – 8 درجة مئوية.

المـــــــواد

1- طريقة العدد الأكثر احتمالاً

- **الأدوات**

- ماصة: 0.1 مليلتر، 1 مليلتر، 5 مليلتر، و 10 مليلتر.
- أنابيب درهام.
- أنابيب اختبار.
- حاوية ذات سعة 200 ملليلتر على الأقل وقابلة للتعقيم.
- حمام مائي بدرجة حرارة 44 – 45 درجة مئوية.
- حاضنة (37 درجة مئوية).
- حاملة أنابيب.
- البصله المطاطية.
- إبرة التلقيح.
- لهب بنزن.

- **ا لكواشف**

- كاشف كوفاك.

- **الأوساط الغذائية**

- حساء ماكونكي
- حساء Brilliant green lactose bile
- Tryptone water

2- طريقة عد البكتيريا *ستريبتوكوكس* الغائطية

- **الأدوات**

- Screw capped test tubes
- Pipettes 5ml
- Petri dishes
- Inoculating loop
- Incubator ($44^{o}C$)

- **الأوساط الغذائية**

- Glucose azide broth
- Bile Aesculin azide agar

3- طريقة عد البكتيريا *كلوستريديوم بيرفرينجنز*

- **الأدوات**

- دورق مخروطي : 50 مليلتراً
- أنابيب اختبار.
- ماصة: 1، 10 و25 مليلتر.
- حاضنة 37 درجة مئوية.
- مسمار حديدى
- حمام مائي 75 مئوية.

- **الأوساط الغذائية**

- Differential reinforced clostridial medium (DRCM)
- Freshly steamed & cooled Litmus milk broth

العد الافتراضي التأكيدي للبكتيريا القولونية والبكتيريا *إيشيريشيا كولاي* باستعمال طريقة الترشيح الغشائي

- **الأدوات**

مرشح غشائي (0.45 ميكرون)

وحدة الترشيح الغشائي

أطباق بثري

أنابيب اختبار

إبرة تلقيح

حاضنة (37 ، 44 درجة مئوية)

- **الكواشف**

- Kovac's reagent.

- Oxidase reagent.

- **الأوساط الغذائية**

- Tryptone water.

- Lactose peptone water.

- Nutrient agar.

- MacConkey agar.

مواقع إليكترونية ينصح بالإطلاع عليها

www.cdc.gov

www.eleint.co.uk

www.epa.gov

www.fda.gov

www.hach.com

www.hc-sc.gc.ca/food-aliment

www.oxoid.co.uk

www.sartorius.com

www.who.int

www.cred.be

www.odi.org.uk

www.fao.org

المراجـــــع

1 Al-tomi A S., Manual of bacteriological examination of drinking water, biotechnology research center, 2007, Libya.

2 Bartram, J. , *et al*. Heterotrophic Plate Count and Drinking –Water Safety, WHO, 2003, Geneva.

3 Bartram, J. , Fewtrell L. Water Quality: Guidelines, Standards and Health. Assessment of risk and risk management for water-related infectious disease (IWA, SMI, WHO), Water Quality: Guidelines, Standards and Health. IWA Publishing, 2001, London, UK

4 Bidlack WR., Wang W., Clemens R., Journal of Food Science-vol.69, Nr. 2, 2004 The World,s Most Precious Resource. Institute of Food Technologists.

5 Bridosn EY. , The Oxoid Manual, 8th ed. 1998, UK

6 Cappuccino J. and Sherman N. , Microbiology: A Laboratory Manual, 3rd ed. 1992, California.

7 Cheesbrough M. , Medical Laboratory Manual for Tropical Countries, 1st ed. Tropical Laboratory Technology, 1984, England.

8 Collee JG. , *et al*. Practical Medical Microbiology, 13th ed. Churchill Livingstone, 1989, Edinburgh.

9 Copeland J., Biological Denitrification, California Energy Commission, 2002, California.

10 Environmental Protection Agency's Office of Water August 1997, USA.

11 Hach Company. , Water Analysis Handbook Publication; Pour Plate Method, Methods 8241 and 8242, 2002, USA.

12 Howard, G. and Bartram, J. , Domestic Water Service Level and Health, WHO, 2003, Geneva.

13 Jolly R. , Global Water Supply and Sanitation Assessment Report, WHO, 2000, USA.

14 LeChevallier M.W. and Au K K., Water Treatment and Pathogen Control: Process Efficiency in Achieving Safe Drinking Water, WHO; 2004, UK.

15 Mark D. Sobsey and Frederic K. Pfaender., Evaluation of the H2S Method

for Detection of Fecal Contamination of Drinking Water, World Health Organization, 2002, Geneva.

16 Medema, G. , *et al.* Assessing Microbial Safety of Drinking Water, 1st ed. UK: TJ International(Ltd), Padstow, 2003, Cornwall.

17 Microbiological examination of water in sealed containers and prepackaged ice for coliform bacteria, health protection branch, MFO-18,july 2002, Ottawa.

18 Microbiological examination of water in sealed containers and prepackaged ice for total aerobic bacteria, health protection branch, MFO-17,july 2002, Ottawa.

19 P.V. Morais and M.S. Da Costa, Alterations in the Major Heterotrophic Bacterial Populations Isolated from a Still Bottled Mineral Water, J. Applied Bacteriol, v. 69, (1990).

20 Percival, S. , *et al*. Microbiology of Waterborne Diseases, 1st ed.: Elsevier Academic Press, 2004, UK.

21 Polyscience Publications. , Microbiological Examination of Mineral Water. 1993.

22 Schmidtke. J., and *et al.*Bottles in the sun, Swiss agency for development and cooperation, 2001, Uzbekistan.

23 Sobsey M D., Managing Water in the Home: Accelerated Health Gains from Improved Water Supply, WHO; 2002.USA

24 Standing Committee of Analysts., The Microbiology of Drinking Water Part 5-A method for the isolation and enumeration of *enterococci* by membrane filtration, Environment Agency, 2002,Uk.

25 Standing Committee of Analysts.The Microbiology of Drinking Water Part 6-A method for the isolation and enumeration of sulphite reducing clostridia and *Clostridium perfringens* by membrane filtration, Environment Agency, 2002,Uk.

26 Standing Committee of Analysts.The Microbiology of Drinking Water Part 12- method for the isolation and enumeration of micro-organisms associated with taste, odour and related aesthetic problems, Environment Agency, (2004),Uk.

27 World Health Organization. , Guidelines for Drinking Water Quality, 3th ed.

WHO, 2004, Geneva.

28 منظمة الصحة العالمية. ؛ دلائل جودة مياه الشرب، المكتب الإقليمي لشرق البحر المتوسط ؛1989 ؛ مصر,

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

2008