دراسة بكتريولوجية لمياه الشرب

وليد محسن علي

رباب غازي لعيبي

كلية التربية – جامعة ميسان

الخلاصة : أجريت هذه الدراسة المعرفة مدى مطابقة مياه الشرب للمعايير الصحية والبكتريولوجية واختبار صلاحيتها للاستهلاك البشري في مدينة العمارة مركز قضاء العمارة من خلال فحص بكتريا مجموعة القولون البرازية والتيFecal coliform bacteria تعتبر من الميكروبات الدالة Indicator microbes وأوضحت .

الدراسة وجود فحص موجب (تلوث) في ثلاث عينات من أصل عشرة تم دراستها وأثبتت الفحوصات البكتريولوجية الاحتمالي ، التأكيدي والتكميلي(وجود إصابة ببكتريا القولون في العينات رقم (٨،٣،٢) وكان عدد بكتريا القولون الأكثر احتمالاً في العينات (٢،٣،٨) هو ١٦خلية / ١٠ مل .

المقدمة:

للماء أهمية خاصة في حياة الإنسان حيث يعد مصدر الحياة الأساس و تحتاج جميع الكائنات الحية إلى مصدر دائم من المياه العذبة ومن اجل ضمان وجود مصدر من المياه ذي نوعيه جيدة وصالح للاستهلاك البشري أصبح من الضروري تشخيص الملوثات الضارة لهذه المياه وإزالتها والسيطرة عليها (٨).

وهناك نوعان رئيسان من مصادر المياه هي المياه السطحية Surface water و المياه الجوفية Ground waterان المياه السطحية مصدرها الأنهار والجداول والبحيرات والآبار الضحلة وفي الغالب تكون هذه المياه أفضل لنمو البكتريا من المياه الجوفيه وذلك لاحتوائها على نسبه أكبر من المادة العضوية التي تستخدم كغذاء رئيسي لمعظم البكتريا وبالاضافه إلى ذلك فان درجة حرارتها أكثر ملائمة لنمو وتكاثر البكتريا عما هو عليه في المياه الجوفية ذات الطبيعة الباردة نسبياً والخالية تقريباً من المادة العضوية (١.)

والاحياء المجهرية الموجودة في المياه الطبيعية هي عبارة عن المجاميع الميكروبية الطبيعية Natural micro flora لهذه المياه وان عدد الأحياء المجهرية الموجودة في المياه العذبه فضلاً عن موقعها ونوعها يختلف حسب نوع الأملاح الذائبة او المعلقة في هذه المياه وحسب نسبة المادة العضوية . أن الطحالب والابتدائيات تشكل الكائنات الرئيسة التي توجد في المياه العذبة في حين تشكل البكتريا والفطريات و الفيروسات جزء صغير من المجموعه الميكروبية للمياه وتكون الأحياء المجهرية الهوائية هي السائدة في المناطق العليا من البحيرات ومسطحات المياه العذبة اذ توجد كميات كبيره من الأوكسجين الذائب في الوقت الذي تكون فيه الاحياء

المجهرية اللاهوائية و الاختيارية موجودة عادة في الطبقات السفلى أو في القاع (٧).

أن وجود الإحياء المجهرية المرضية في المياه العذبه هو نتيجة لتلوث هذه المياه من الأفراد المصابين أو من مياه الفضلات غير المعامله و نمو هذه الأحياء المجهريه وانتقالها في المياه يتمان نتيجة الحرارة الدافئة للمياه السطحية فضلاً عن وجود المادة العضوية التي توفر الغذاء لهذه الأحياء المجهرية (٩)

يجب أن تخضع المياه الخاصة بالشرب والطبخ لفحوصات دوريه للتأكد من خلوها من التلوث اذ ان المياه يمكن أن تكون ناقله للاحياء المجهرية المرضية و التي تسبب أمراضاً للإنسان و وضعت مواصفات قياسيه للمياه تتضمن طريقه فحص المياه و الحد الأعلى للأحياء المجهريه المسموح وجودها في المياه وذلك لحماية المستهلكين من الامراض التي تنتقل عن طريق المياه (٢)

ان اغلب الإحياء المجهرية المرضية التي توجد في المياه تجد طريقها إلى هذه المياه عن طريق فضلات الأشخاص المصابين لذلك اعتمد المختصون في الاحياء المجهرية طريقة تشخيص الاحياء المجهرية الدالة Indicator microbes وهي عادة توجد الى جانب الإحياء المجهرية المرضية في القناة الهضمية للانسان .(٧)

ان وجود الأحياء المجهرية داله في المياه يعد مؤشرا على التلوث بالبراق مما يزيد احتمال وجود مسببات المرض التي تنتقل بوساطة المياه وتستعمل بكتريا القولون البرازية Fecal coliform bacterial مثل بكتريا Escherichia coliعادة كدالة على تلوث المياه بالبراز WHO (٢٠٠٤) وذلك لعدة اسباب :

١.ان هذه البكتريا هي من الفلورا الميكروبية الطبيعية للجهاز الهضمي في الانسان ووجودها في الماء يعني على الأكثر التلوث بمخلفات الانسان.

٢ .تعد بكتريا القولون من البكتريا المقاومة للظروف وهي تستطيع العيش فترات طويلة خارج مضيفها وهذا يسمح بعزلها وتشخيصها بعد فترة من تركها جسم المضيف.

٣ .سهولة زراعة هذه البكتريا مختبرياً.

٤.وجود هذه البكتريا باعداد كبيرة وكافية في المياه الملوثة يساعد على أعطاء حسابات أو تقديرات معنوية من الناحية الإحصائية (APHA 1984).

وحسب منظمة الصحة العالمية WHO فان وجود خلية / ١٠٠ مل يعد مقبول صحياً(2004,WHO).

ويعد فحص بكتريا القولون البرازية Fecal coli form bacteria من اهم الفحوصات التي تجرى على الماء للحكم على صلاحيته للاستهلاك البشري وحجم تلوثه لأنها توجد بأعداد كبيرة جداً في البراز وفي المجاري بالاضافة الى ذلك فهي توجد بصورة طبيعية في امعاء الانسان والحيوانات ذات الدم الحار (توجد عادة بليون خليه / غم من البراز الحديث) ونادراً ما توجد في التربه او الماء أو النبات (١).

وقد هدفت الدراسة لمعرفة مدى مطابقة مياه الشرب في مدينة العمارة للمعايير الصحية والجرثومية واختبار صلاحيتها للاستهلاك البشري.

المواد وطرائق العمل:

تم الحصول على نماذج مياه الشرب من عشرة مواقع متفرقة ومتعددة في المدينة أذ تم تعقيم الحنفية المراد اخذ النموذج منها بواسطة مصباح كحولي او لهب ناري ثم تفتح الحنفية لمدة دقيقة واحدة وتملأ

القنينة قنينة زجاجية معقمة مثل قنينة التخافيف البكتيرية بهدوء وتغلق علماً ان القنينة الفارغة قد تم معاملتها بمادة ثايو سلفات الصوديوم حيث وضعت قطرة من محلول ثايو سلفات الصوديوم في القنينة ووضعت القنينة في الفرن لمدة نصف ساعة إلى أن يتبخر المحلول داخل القنينة ثم تخرج القنينة من الفرن وتغلق حتى لحظة ملأها وترفع السدادة بعناية وتمسك القنينة من أسفلها باليد ثم تغلق فوراً بعد أن تملأ بالعينة وقد تم تجنب الحنفيات غير المحكمة التي تسمح للماء بالجريان وعدم استعمالها كنقاط لجمع العينات والتأكد من ان الحنفية المأخوذ منها النموذج متصلة مباشرة بالشبكة وليس بخزان علوي (١٢)

بعد اخذ العينات بواسطة القنينة الزجاجية المعقمة وضعت عينات الماء في صندوق فليني يحتوي على الثلج المجروش ونقلت الى المختبر وبالسرعة الممكنة وتم أجراء الفحوصات الميكروبية مباشرة.

تحضير العينات

قبل البدء بإجراء الفحوصات على عينات المياه تم رج القناني التي تحتوي على عينات الماء جيداً ما لا يقل عن ٢٥ مرة لكل قنينة ثم أجريت التخافيف اللازمة حيث تم رج التخافيف مباشرة قبل نقل الماء للزراعة ولغاية ٢٥ مرة(Cappuccino and Sherman, 1987)

فحوصات بكتريا القولونColiform bacteria tests

أولا. الفحص الاحتمالي (التخميني)Presumptive test

أ- تم تحضير خمسة عشر انبوبة كبيرة حاوية على ١٠ مل من وسط اللاكتوز السائل وقسمت هذه الأنابيب الى ثلاثة مجاميع . زرعت المجموعة الأولى (خمسة انابيب ب ١٠ مل من عينة الماء وزرعت الثانية (خمسة انابيب) ب (١) مل من عينة الماء اما الثالثة (خمسة انابيب)

فزرعت ب (٠،١) مل من عينة الماء اضافة الى خمسة انابيب يحتوي كل منها على ١٠ مل من الماء المقطر كمجموعة سيطرة.

ب- حضنت الأنابيب بدرجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٢٤ - ٤٨ ساعة.

ت- تم اختبار أنتاج الحامض والغاز بعد مرور ٢٤ و ٤٨ ساعة.

بعد أنتاج الغاز في الانابيب بعد مرور ٢٤ ساعة دليل على الفحص الاحتمالي (التخميني) الموجب (positive presumptive) وبعد ظهور الغاز بعد مرور ٤٨ ساعة فحص مشكوك فيه . أما عدم ظهور الغاز بعد مرور ٤٨ ساعة فهو دليل على الفحص السالب أي أن عينة الماء غير ملوثة (١٦)

ثانياً. الفحص التأكيدي (الاثباتي): Confirmed test

يعمل هذا الفحص لكل نماذج الفحص الموجب والمشكوك فيها للأنابيب في الخطوة الأولى.

أ- تؤخذ كمية قليلة من انابيب الفحص الموجب لوسط اللاكتوز وتخطط لغرض Eosin Methylen blue (EMB)على اطباق Streak الحصول على مستعمرات معزولة.

ب- حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٤٨ ساعة وتلاحظ النتيجة خلال هذه الفترة بظهور المستعمرات المثالية Typical لبكتريا E. coli وهي دليل على الاختبار الموجب للفحص التأكيدي (الاثبائي) (١٣)

ثالثاً. الفحص التكميلي (الكامل): Completed test

أ. أخذت مستعمرتان من وسط E.M.B والتي تكون مشابهة لمستعمرات بكتريا القولون وزرعت احداهما في مائل الاكار المغذي Nutrient agar slop والأخرى في أنبوب حاوي على وسط اللاكتوز (تظهر مستعمرات

بكتريا القولون على وسط .E.M.B. غامقة اللون وغالباً ما تعطي بريق معدني اخضر).

ب – حضنت الأنابيب بدرجة ٣٧ م ولمدة ٤٨ ساعة.

ت– يعمل غشاء من مائل الاكار ويصبغ بملون كرام وصبغة السبور.

أن أنتاج الغاز في وسط اللاكتوز والشكل العصوي غير المكون للسبورات بالاضافة إلى التصبيغ السالب بملون كرام يؤكد وجود مجموعة بكتريا القولون في نموذج الماء وهذا دليل على تلوث الماء بفضلات البراز (٥،٦،١٠).

استخراج العدد الاكثر احتمالاً لبكتريا القولون Most probable Number (MPN):

تم تحضير تخافيف عشرية وبعد ذلك تم نقل ١،٠ سم ٣ من كل تخفيف الى انابيب اختبار تحتوي على وسط النمو الزرعيNutrient agar (خمسة أنابيب) وبعد ذلك تم استخراج قيم MPN أو العدد الأكثر احتمالا لبكتريا القولون باستعمال جداول خاصة وباستعمال المعادلة الآتية:

الوسط الذي فيه نمو العدد البكتيري الأكثر احتمالا= قيمة MPN من الجدول× تخفيف

١٠٠

النتائج:

عدد الانابيب الموجبة (أي التي تكون غاز في سائل اللاكتوز بعد حضنها على درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية

ويوضح الجدول رقم (٢) نتائج الفحص التأكيدي (الاثباتي) Confiremd Test

رقم العينة	بعد ٢٤ ساعة / ٣٧ درجة مئوية
٢	Typical shape
٣	Typical shape
٨	Typical shape

ويبين الجدول رقم (٣) نتائج الفحص التكميلي (الكامل) Completed Test

رقم العينة	ملون غرام	تكوين الغاز بعد ٢٤ ساعة /٣٧°م
٢	سالبة	+
٣	سالبة	+
٨	سالبة	+

ويوضح الجدول رقم (٤) نتائج العدد الاكثر احتمالا Most probable Number (MPN)

رقم العينة	عدد بكتريا القولون الاكثر احتمالا MPN
٢	١٦
٣	١٦
٨	١٦

المناقشة:

حسب منظمة الصحة العالمية WHO فان وجود ٣ خلية / ١٠٠ مل من خلايا بكتريا القولون E. coli في مياه الشرب يعتبر مقبول صحيا ، وعندما تكون مثل هذة المياه حاوية على اعداد أكثر من ٣ خلية / ١٠٠ مل من بكتريا القولون كما في العينات (٢،٣،٨) فيشك حينئذ اما في عمليات التنقية أو في كيفية اخذ العينات إضافة إلى أمكانية حدوث عطب في شبكة التوزيع ادى الى حصول تلوث WHO (٢٠٠٤)

ويتضح من الجدول (١) وجود تلوث بالأحياء المجهرية الدالة في بعض عينات المياه قيد الدراسة وهذا يعطي مؤشراً على التلوث بالبراز مما يزيد من احتمال وجود مسببات الأمراض التي تنتقل بواسطة المياه (١٤،١١،١٥)

وتبين من الجدول (٢) ان اشكال المستعمرات مثالية Typical لذا بعد الفحص التأكيدي ايجابياً وهذا يعزز وجود تلوث ببكتريا مجموعة القولون في العينات (٨،٣،٢) (٤)

وكما يتضح من الجدول (٣) ان العينات التي تم فحصها كونت او انتجت الغاز في انابيب التخمر كما كانت العينات سالبة لملون كرام وهذا اعطانا دليلاً تكميلياً على وجود تلوث ببكتريا القولون البرازية في العينات (٢،٣،٨) وأوضح الدليمي (١٩٨٨) و خلف (١٩٨٧) أن الفحص التكميلي أن كان موجباً فانه يعطي دليلاً تكميلياً (كاملاً) على وجود تلوث ببكتريا مجموعة القولون البرازية.

وأوضح الجدول (٤) وجود (١٦) خلية بكتيريا من خلايا بكتريا القولون البرازية في العينات (٨،٣،٢) مما يدلل على وجود تلوث ببكتريا القولون البرازية (٥).

ويتبين من النتائج المتحصل عليها وجود تلوث بيكتريا مجموعة القولون البرازية في ثلاث عينات من الماء قيد الدراسة (٢،٣،٨) وهذا يمكن أن يعزى الى وجود خلل في عمليات التنقية كانخفاض نسبة الكلور المضافة أو أمكانية حدوث عطب في شبكات التوزيع أو قد يدلل على وجود خلل في كيفية اخذ العينات مما يتطلب اتخاذ مجموعة من الإجراءات اللازمة لمعالجة هذه المشكلة وذلك عن طريق:

١-إضافة النسب العالمية المطلوبة من الكلور وبالطريقة الصحيحة اثناء عمليات التنقية والتصفية والتعقيم.

٢-معالجة التشققات والتخسفات التي تعاني منها شبكات توزيع الماء بسبب قدمها مما يساعد على الحصول على ماء نقي وخالي من الاصابات البكتيرية وبالتالي صالح للاستهلاك البشري.

٣-توخي الدقة عند اخذ عينات الماء لغرض الفحص المختبري من اجل الحصول على نتائج صحيحة ودقيقة (١٦)

جدول رقم (١) نتائج الفحص الاحتمالي (التخميني) البكتريا القولونcolifcr bacrcda Presumptive test of

رقم العينة	بعد ٢٤ ساعة/37°م									بعد ٤٨ ساعة/37°م								
	(١٠) مل من عينة الماء			(١) مل من عينة الماء			(٠،١) مل من عينة الماء			(١٠) مل من عينة الماء			مل من (١) عينة الماء			(٠،١) مل من عينة الماء		
١	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
٢	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
٣	+	+	+	+	+	+	+	+	+ *	+	+	+	+	+	+ *	+	+	+ *
٤	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
٥	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
٦	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
٧	−	−	−	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
٨	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ *	+	+	+ *
٩	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
١٠	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

المصادر:

١.باقر عبد الواحد ولوزان أمين علي والراوي أنيس مالك وآخرون البكتريا (١٩٨٩) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد بيت الحكمة.

٢.الحديث، هديل توفيق، الأحياء المجهرية المائية. (١٩٨٦) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الموصل مديرية دار الكتب للطباعة.

٣.خلف صبحي حسين علم الأحياء المجهرية المائية (١٩٨٧) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الموصل.

٤.الرجب وفاء جاسم وقزاز حسن محمد علي علم الأحياء المجهرية الجزء الأول (١٩٨٤) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الموصل، مترجم.

٥.الدليمي، خلف صوفي، علم الأحياء المجهرية للاغذية الجزء العملي (١٩٨٨) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد

٦.عبد الكريم، الهام سعيد وإبراهيم ضم ياء، محمود، علم ٦. الزيدي حامد الأحياء المجهرية العملية (١٩٨٧) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد

٧.العاني فائز عزيز وبدوي أمين سليمان مبادئ الأحياء المجهرية (٢٠٠٠) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة الموصل.

٨.السعدي، حسين علي والاعظمي، أحمد شريف: مولود، بهرام خضر علم البيئة والتلوث. (١٩٩٢) وزارة التعليم العالي والبحث العلمي جامعة بغداد كلية التربية للبنات.

9.Alcamo, I.E. “Fundamentals of microbiology” (1986) 2nd Ed. The Benjamine\Cumings Publishing Company, Inc. Menlo Park, Californai.

10. APHA "American Public Health Association" (1984). Standard methods for the examination of water and water waste, 14th ed., New York.

11. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (1984), Baltimore, The Williams and Wilkins CO.

12. Bonde, G.J. Bacterial Indication of Water Pollution (1977), pp. 273-364. "Advances in Aquatic Micrology", Editors: Droops, M.R. and Janasch, H.V., London and New York Academic Press.

13. Cappuccino, J.G. and Sherman, N. "Microbiology Laboratory Manual" (1987), 2nd ed., The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc., California

14. Paul, Singleton, Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine (1997). 4th ed. John Wiley & Sons Chichester. New York.

15. Van Duuren, FA (Editor) Water Purification works Design, Water Research Commission, 1997. 16. WHO, World Health Organization Guidelines for drinking water quality, volume 1: Recommendation, 3rd Edition 2004.

Bacteriological Study of Fresh Water

Waleed.M. Ali

Rabab.G. Laebi

College of Education

University of Missan

Abstract: This study was done to determine the corresponding fresh water in Amara city to standard specification. Samples were tested to detect the presence of fecal coliform bacteria, which are considered as indicator microbes. The study showed a positive test in three samples out of ten. The presumptive, confirmed, and completed tests proved the presence of coliform bacteria in samples (2, 3, 8), and the most probable number in samples (2, 3, 8) was 16 cells/10 ml .