Bacteriological examination of water

الكشف عن الادله البكتريولجيه لتلوث المياه

تعد المياه واسطه لنقل كثير من مسببات الامراض الخطره فوجود البكتريا والكائنات المسببه للامراض في المياه مؤشر خطوره ويعتبر الماء غير امن للشرب والاحياء المجهريه المرضيه تسبب مجموعه من الامراض مثل الاصابات المعويه Intestinal infection و Hepatitis وDysentery و Cholera و Typhoid .

غالبا ماتكون فضلات الحيونات والانسان هي المصدر الاساس للبكتريا في مياه الشرب ويمكن ان تدخل الفضلات الى الابار التي تكون مفتوحه وغير مغطاه باحكام ممايؤدي الى تلوثها .

مصادر تلوث المياه

1-المصادر الصناعيه:

تشكل مياه المصانع وفضلاتها 60% من مجموع المواد الملوثه للبحار والبحيرات والانهار ، ويصدر اغلب الملوثات من مصانع مثل مصانع الدباغه والرصاص والزئبق والنحاس ومصانع الدهانات والاسمنت والزجاج والمنظفات ومصانع تعقيم الالبان والمسالخ ومصانع تكرير السكر بالاضافه الى التلوث بالهيدروكربون الناتج عن التلوث النفطي. ان معظم المصانع في الدول المتقدمه والناميه لاتلتزم بضوابط الصرف الصناعي بل تلقي بفضلاتها في المياه . وتجدر الاشاره الى ان الطرق التقليديه لتنقيه المياه لاتقضي على الملوثات الصناعيه مثل الهيدروكاربونات والملوثات غير العضويه والمبيدات الحشريه والمركبات الكيميائيه المختلفه وقد يتفاعل الكلور المستخدم في تعقيم المياه مع الهيدروكاربونات مكونا مواد كربوهيدراتيه كلورينيه مسرطنه .

ونوع اخر من التلوث الصناعي هو استخدام بعض المصانع الماء للتبريد وبذلك يلقى الماء الساخن في الانهار او البحيرات مما يزيد حرارتها ويؤثر على الحياه الحيوانيه والنباتيه بها .

2-مصادر الصرف الصحي

تعتبر مياه المجاري واحده من اخطر المشاكل على الصحه العامه في معظم دول العالم الثالث ، لان اغلب هذه الدول ليس لديها شبكه صرف صحي متكامله تحتوي مياه المجاري على كميه كبيره من المركبات العضويه واعداد كبيره من الكائنات الحيه الدقيقه الهوائيه و اللاهوائيه

3-مصادر زراعيه:

ان استخدام المبيدات الحشريه والاسمده الكيميائيه في الزراعه يتسبب في تلوث الماء وذلك عند سقوط الامطار حيث يجرف تلك المواد الى الانهار او البحيرات وايضا الري قد ينقل تلك المواد الى المياه الجوفيه .

الفحص الميكروبي للمياه

بما ان المياه واسطه لنقل الكثير من مسببات الامراض الخطره لذلك لابد من وضع الطرق المختبريه للتحري عن هذه المايكروبات وعن المايكروبات الداله على تلوث المياه اذ بدأت عده دراسات حول التحليلات البكتريولوجيه للحياه كانت اهمها دراسه العالم Howton الذي ميز ثلاث مجاميع للبكتريا الداله على تلوث المياه بالمجاري والتي مازالت تستعمل الى يومنا هذا وهي بكتريا القولون (*E Coli*) Coliform والمسبحيات البرازيه *Streptococcus faecalis* وبكتريا اللكلوستريديم المكونه للغاز(Gas producing Clostridia) *Clostridium perfringens* وعلى اعتبار ان مصدر هذه المجاميع البكتيريه هي براز الانسان والحيوان والطيور لهذا تواجدها في الماء يدل على التلوث البرازي او احتماليه التلوث بالبكتريا الممرضه.

*اهداف الفحص البكتريولوجي للمياه *

وبذلك اتفق من قبل الهيئات الصحيه على القيام بفحوصات بكتريولولجيه لمياه الشرب والمياه الخام المجهزه للاساله **وتهدف الفحوصات البكتريولوجيه للمياه الى مايلي** :

1-التحري عن التلوث البرازي لمصدر المياه الذي يجهز الاساله من اجل تحديد الطريقه الملائمه لمعالجه هذه المياه.

2-التأكد من دقه المعاملات التي تجري على المياه

3-التأكد من صحه الماء قبل توزيعه على المستهلكين

4-بالفحوصات البكتريولوجيه المتكرره والمنتظمه يمكن الابقاء على الماء داخل انابيب التوزيع سليم وليس فيه خطوره على المستهلك.

5-التقليل من التكلفه الاقتصاديه في معامله المياه والتخلص من المشاكل في انابيب التوزيع، حيث بمعرفه نوع البكتريا الملوثه يمكن اجراء معاملات تحد من نموها في انابيب التوزيع.

لذلك محطات معامله المياه تتنوع في التحليلات البكتريولجيه فلا تشمل البكتريا المرضيه بل بكتريا اخرى كبكتريا الحديد والكبريت والفطريات والطحالب من اجل منع نموها وحدوث مشاكل في انابيب التوزيع او تغير من طعم ولون وحتى جريان المياه في الانابيب .

وهناك العديد من بكتريا الامعاء تصل للمياه والتي قد تدل على تلوثه بالبراز

Coliforms (Citrobacter , Enterobacter ,Klebsiella)Streptococcus faecalis (human)

Str. durans (nonhuman)و Str. equines (non human)

Pseudomonas aeruginosa, Clostridium prerfringens

وغير هذه البكتريا ، بعض الباحثين يقترح التحري عن جميع هذه البكتريا في المياه في حين الهيئات الصحيه تؤكد ليس بالضروره الكشف عن جميع هذه الانواع بل حددت مجاميع منها للكشف عنها من اجل الاستدلال على احتماليه تلوث المياه ببكتريا ممرضه تكون موافقه لهذه البكتريا في الامعاء .

ويكشف عن البكتريا داله على التلوث (Coliform) بدلا عن الكشف المباشر عن البكتريا الممرضه للاسباب التاليه :

1-تتواجد هذه البكتريا باعداد هائله اكثر من الممرضه

2-تكون اكثر مقاومه من الممرضه لظروف المياه والمعاملات الجاريه عليه

3-سهوله الكشف عنها وتميزها

4-تواجدها يكون ملازم لتواجد البكتريا الممرضه في الامعاء.

وبمعرفه اعداد البكتريا داله على التلوث يمكن بحسابات افتراضيه تخمين عدد البكتريا الممرضه في المياه .فعند وضع المواصفات البكتريولوجيه الاميركيه للمياه ثم افتراض انه يجب ان لاتحوي المائه مليلتر من الماء على اكثر من بكتريا واحده من بكتريا القولون على افتراض ان في مجاري البيوت عدد البكتريا الممرضه مثلا بكتريا التيفوئيد اقل من واحد لكل مليون بكتريا قولون ومتوسط عدد الفايروسات المعويه واحد لكل مائه الف بكتريا قولون :

In Domestic wast-water

$$\frac{\text{Salmonella typhi}}{\text{coliforms}} = \frac{1}{10^6}$$

$$\frac{Enteric\ viruses}{\text{coliforms}} = \frac{1}{10^5}$$

المفروض لايحتوي على اي بكتريا ممرضه احصائيا واحتماليه لكن ليس بالضروره دائما الفرضيات والاحتمات مطابقه للواقع ولهذا ظهرت اعتراضات وتبعا لهذه الفرضيات الماء الذي فيه اقل من بكتريا قولون واحده لكل مائه مليلتر هذه الفرضيات ولذلك الاسالات التي تتبع شروط صحيه جيده بالاضافه الى التحري عن ادله التلوث تتحرى عن البكتريا الممرضه نفسها خاصه عنده حدوث وباء او انتشار امراض سببها الماء بل الاكثر من هذا بعض الاسالات تتحرى عن الفايروسات ايضا .

جمع وتكرار العينات للفحوصات البكتريولوجيه :

تغير الدقه في اخذ العينات مهمه جدا لان اي خطا مهما كان صغيرا او اي تلوث للعينه خلال جميعها ونقلها وفحصها قد يؤدي الى اعطاء نتائج واتخاذ اجراءات غير صحيحه تؤي الى خسائر

اقتصاديه وتعطيل العمل وتجهيز المياه للمستهلكين كما يجب اخذ العينات بحيث تمثل كل المياه ولهذا تحدد نقاط مسبقه على نظام التوزيع لتمثيل كل نظام التوزيع كذلك تحدد عدد المكررات واوقاتها بحيث تعطي صوره صحيحه ودقيقه عن الحاله الصحيه للحياه .

وعند اخذ العينات تعمل كل الاحتياطات لمنع تلوثها فتستعمل زجاجات ذات فوهات واسعه بحدود ربع لتر ويجب ان تقفل العينه جيدا بسداده زجاجيه واذا كان الماء معامل بالكلور يوضع في الزجاجه المعقمه كميه من ماده ثايوسلفات الصوديوم $Na_2S_2o_3$ من اجل ازاله تأثير الكلور Dechlorination على الاحياء المجهريه في العينه خلال فتره الفحص اما المياه التي فيها كميه كبيره من المعادن الثقيله مثل الزنك والنحاس فتضاف ماده EDTA Ethylene diaminetetra acetic acid لتقليل سعه هذه المعادن على بكتريا المياه .

عند اخذ المياه من الحنفيه يجب التاكد بان الحنفيه تاخذ ماءها مباشره من انابيب الاساله وليس من خزان المياه في البنايه او البيت حيث تعقم فوهه الحنفيه ويترك الماء يجري لدقائق ثم تؤخذ العينه . من مياه النهر تدخل القنينه بصوره مقلوبه الى تحت سطح الماء ثم غرف فوهتها باتجاه معاكس لتيار الماء وتقفل تحت الماء وهناك اجهزه خاصه لاخذ العينه من مياه النهر water sampler تفتح وتغلق القنينه تحت سطح الماء اتوماتيكيا .

يفضل فحض العينه مباشره لان المحتوى الكيميائي والمايكروبي والغازي في العينه يتغير خاصه عند حفضها عند درجه حراره عاليه ، حيث تتكاثر المايكروبات وتتحلل الماده العضويه ويحدث اختلاف في كميه الاوكسجين وثاني اوكسيد الكاربون وتتاكسد الامونيا لذلك عند تاخير التحليل لمده اكثر من ست ساعات يجب حفظ العينه في صندوق ثلج عند درجه حراره (4) درجه مئويه وذلك لان الست ساعات تعتبر بصوره عامه معدل تكاثر البكتريا في المياه .

بالنسبه لحجم العينه يتراوح مابين عشره ومائه مليلتر يختلف حسب درجه تلوث المياه كلما كان اشد تلوثا كلما كان حجم العينه اصغر وبصوره عامه تفضل الاحجام الكبيره التي تمثل الواقع بدرجه افضل وفي حاله استخدام طريقه الترشيح بالاغشيه يكون حجم العينه كبير قد يصل إلى عدة التار .

اما بالنسبه لتكرار العينات فكلما زاد عدد العينات كلما كانت النتائج ادق وتكرار اخذ العينات ومواعيدها يختلف من اساله الى اخرى وعاده يعتمد على عدد المستهلكين الذين يجهزون من قبل الاساله . وفي الاسالات الصغيره تؤخذ العينات على شهر او شهرين ، اما عند فتح اساله جديده تكرر الفحوصات بدرجه اكبر لمده سنه بعدها يعطي نظام ثابت لاخذ العينات ومعدلها بعد التأكد من تقلبات صفات المياه البكتريولجيه في مصدر تجهيز الاساله .

اما في حاله حدوث وباء مائي فالعينات تكون متكرره جدا والفترات متضاربه جدا وقد تعمل بالساعات على المياه لحين زوال الوباء .

ا-الفحوصات البكتريولوجيه:

اولا : العدد الكلي للبكتريا 1-Total bacterial count

وتتم بعد البكتريا الهوائيه واللاهوائيه اختياريا ذاتيه التغذيه في المياه بطريقه العدد الاطباقات Standard plate count والعدد هذا يكون تقريبي لانه لايمكن توفير وسط غذائي وظروف ملائمه موحده لكل بكتريا المياه ولهذا فالبكتريا التي تحوي الاطباق هي اقل بكثير من عددها الواقعي في الماء. ولهذا يجب تحضير وسط ملائم قدر الامكان لاكبر عدد من بكتريا المياه مثلا تحضير الوسط من نفس المياه المفحوصه وليس في ماء مقطر حيث لوحظ ان الوسط المحضر مثلا بماء البحر يعطي اعداد بكتريا اكثر من الوسط المحضر بماء مقطر في حاله عد البكتريا البحريه .

واجراء هذا الفحص يمكن ان يعطينا صوره عامه ومبدئيه من تكون الماده باعتبار كلما زاد عدد البكتريا في الماء زادت احتماليه تلوثه وتنوعت مصادر تكونه ودل ذلك على ان الماء فيه كميه وافيه من الماده العضويه بحيث تسمح لذلك العدد بالنمو وتظهر اهميه هذا الفحص عند استخدام هذه المياه في الصناعات الغذائيه و تصنيع العصائر لان زياده العدد يؤدي الى تلفها . كما ينفع هذا الفحص في تقييم المعاملات الجاريه على المياه كالترسيب والتلازن والترشيح والتعقيم .

كما يمكن استخدام طريقه الترشيح بالاغشيه .Membrane filter technique لعد البكتريا الكلي في المياه وذلك بترشيح كميه كبيره من المياه اذا كانت غير ملوثه او كميه قليله في حاله الشك بانها جدا ملوثه من خلال المرشح الغشائي .

2- بكتريا القولون Coliforms

3 - بكتريا القولون البرازية Fecal –coliform

بلا شك الافضل الكشف عن البكتريا الممرضه التي مصدرها امعاء الانسان مثل بكتريا التيفوئيد والزحار والكوليرا الا انه يكشف عاده عن بكتريا القولون المرافقه لها في الامعاء وذلك لان عددها اكبر وبقاءها في المياه اطول و الكشف عنها اسهل لذلك تم اعتمادها كدليل على تواجد البكتريا الممرضه المعويه في المياه .

وبكتريا القولون هي مجموعه من البكتريا الهوائيه واللاهوائيه اختياريه سالبه لصبغه كرام غير مكونه للسبورات مخمره لسكر اللاكتوز مع تكوين غاز وحامض خلال فتره 24 - 48 ساعه بدرجه حراره 35 درجه مئويه وبالرغم من ان الكشف عن بكتريا القولون : *E coli* معمول به عالميا في جميع المختبرات كدليل لتلوث المياه وعدم صلاحيتها للشرب لكن يجب ملاحظه ان *E coli* ليس بالضروره مصدرها امعاء الانسان فهي ايضا توجد في امعاء الحيونات ذات الدم الحار.

2-طريقه الانابيب المتكرره

تتمثل بطريقه Most Probable Number (MPN)

3-طريقه الترشيح Membrane Filter Method

تتم باستخدام غشاء سليلوزي Porous Cellulose Acetate Membrane قطر ثقوبها 0.45 مايكرومتر

المسبحيات البرازيه 4-fecal streptococci

المجموعه الثانيه من البكتريا البرازيه التي يكشف في الفحوصات البكتريولوجيه للمياه هي المسبحيات البرازيه وهي بكتريا كرويه تتصل فيما بينها لتكوين مسبحه تكوين موجبه لصبغه كرام بعض انواعها تتوطن امعاء الانسان والبعض الاخر امعاء الحيوانات وتوجد فيها العديد من السلالات والانواع منها

Streptococcus bovis, Streptococcus faecalis, Streptococcus faecium,

Streptococcus equines

وقد تفضلها بعض محطات الاسالات على بكتريا E.coli حيث يمكن معرفه مصدر التلوث فمثلا اذا كانت الانواع الشائعه في المياه هي St. bovis , St. equines يمكن الاستدلال على ان المصدر الرئيسي لتلوث المياه هي حقول الحيوانات خاصه الابقار والخيول وليست مجاري البيوت او فضلات الانسان وفعلى كثير من الدراسات لاسالات المياه يتتبع مصادر التلوث وجد ان حقول تربيه الخيل والابقار والخنازير وغيرها وبكتريا القولون يمكن ان يكون مصدرها الانسان او الحيوانات ذات الدم الحار او البارد ، لكن لاتوجد اختيارات تميز التي مصدرها من الانسان حيونات الدم الحار . الا في حاله تتبع حوض النهر الى ان نصل الى المصدر التلوث هي تربيه الحيوانات ام فضلات مجاري البيوت الحاويه على مخلفات الانسان .

وهناك عده طرق عالميه ومعتمده للتحري عن بكتريا القولون Standard method وهي الطريقه الاكثر شيوعا وتعمد في كل انحاء العالم مع بعض التحويرات الطفيفه من بلد لاخر وتعتمد هذه الطريقه على ثلاث مراحل لاجراء الاختبارات وهي :

الاختبار الافتراضي Presumptive test

الاختبار التأكيدي Confirmed test

الاختبار التكميلي Completed test

الاختبار الافتراضي يشير الى وجود مجموعه coli-aevogenes بينما الاختبار التاكيدي والتكيملي للتاكد من وجد E. coli ، وقد اجريت بعض التحويرات على هذه الاختبارات من اجل البحث عن E coli التي مصدرها الانسان والحيوانات ذات الدم الحار لذلك يعمل اختبار

Eijkman test بتحضين وسط اللاكتوز الملقح في حمام ما في على درجه حراره 44.5 درجه مئويه لانه في هذه الدرجه لاتنمو الا E coli النمط البرازي fecal type والتي مصدرها الانسان والحيوانات ذات الدم الحار . حيث تكون الحوامض والغاز عند هذه الدرجه .

مصانع الالبان واللحوم تلقي مع فضلاتها اعداد هائله من هذين النوعيتين وبما ان هذين النوعيين يعيشان فتره قصره خارج احشاء الحيوانات لهذا وجودهم باعداد كبيره يدل على حداثه التلوث ، واهم نوعيين مصدرهما امعاء الانسان هما St .faecalis و St. faecium ولهذا سياده هذين النوعيين في الماء دلاله على ان المصدر الرئيسي للتلوث هي المجاري وفضلات الانسان .

ويتم الكشف عن المسبحيات البرازيه بنفس الطرق السابقه والتي ذكرت لعد بكتريا القولون وهي

1-استخدام طريقه MPN

باستخدام وسط Azide_dextrose broth

2-طريقه الترشيح

باستخدام اوساط متعدده مثل وسط Tyrosine Sorbitol Thallous Acetate

البكتريا السبوريه **5-*Clostridium perfringens***

وهذه البكتريا عباره عن عصيات موجبه لصفه ترام تكون سبورات وهي ايضا تستوطن امعاء الانسان والحيوانات ذات الدم الحار ولهذا وجودها ايضا يدل على التلوث البرازي او سبورات هذه البكتريا كما تبقى فتره طويله في المياه ولهذا وجودها قد يدل على ان التلوث قديم كما انها مقاومه للظروف الغير ملائمه ، ولايتم الكشف عنها لوحدها بل مع بكتريا القولون والمسبحيات من اجل تاكيد التلوث .