

الباب الرابع

الميكروبيولوجيا التطبيقية





الدرس العملى التاسع عشر

ميكروبيولوجيا المياه

Water Microbiology

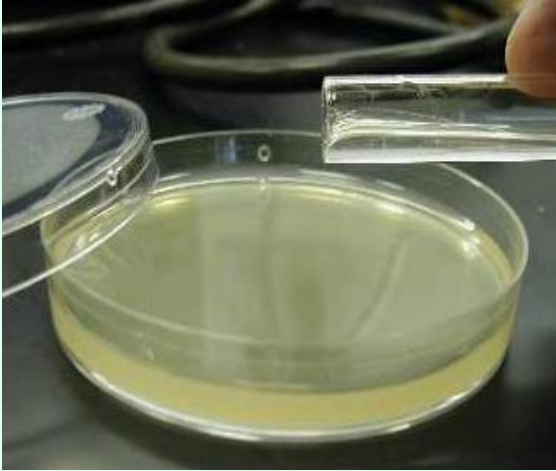
شروط أخذ العينة :

يجب أن تكون العينة المأخوذة ممثلة تماماً للمصدر المائي المراد إختباره ، مع ضرورة أخذ العينات تحت شروط التعقيم وسرعة إجراء التحليل حتى لا يتغير المحتوى الميكروبي للعينة ، وإذا تعذر ذلك فيجب أن تحفظ العينات فى الثلاجة على درجة حرارة ٥-١٠م° لحين إجراء التحاليل منعاً لحدوث هذا التغير بالعينة.

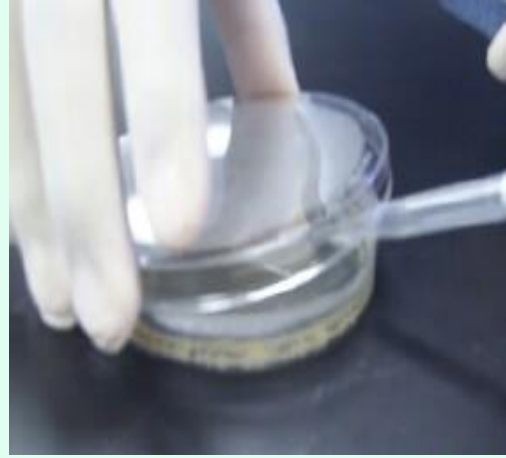
طريقة أخذ العينة :

يراعى عند أخذ العينات نوعية المياه المراد فحصها وإستخدام الطريقة الملائمة لأخذ العينة ، فإذا كانت العينة من ماء حنفية فيجب أن تعقم فوهة الحنفية باللهب أولاً ثم تترك مفتوحة لمدة ٥ دقائق قبل أخذ العينة ، أما إذا كانت العينة من مياه ظلمبات فيراعى ترك الطلمبة تعمل لفترة من الزمن للتخلص من المياه المخزنة قبل أخذ العينة ، وإذا كانت العينة من مياه معاملة بالكلور فيجب إضافة مسحوق ثيوسلفات الصوديوم بمعدل ٠.٠٢ جرام / لتر لتتحد هذه المادة مع الكلور المتبقى بالمياه وتوقف تأثيره ، وفي حالة ما إذا كانت عينة المياه مأخوذة من مياه جارئة فيجب توجيه فتحة زجاجة جمع العينات لتكون عكس التيار، أما إذا كانت العينة مأخوذة من مياه ساكنة فتؤخذ العينات من تحت سطح الماء لتجنب التلوث من المخلفات التى على السطح.

تقدير العدد الكلي لبكتيريا المياه



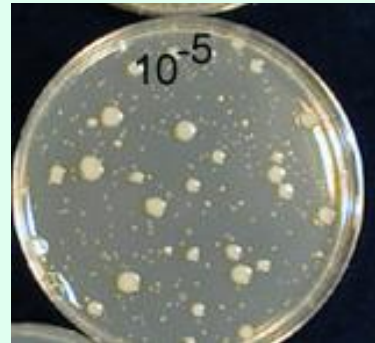
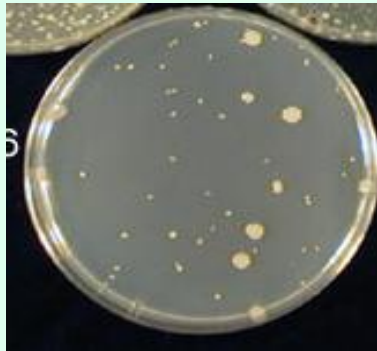
صب في كل طبق بتري من الأطباق السابقة أنبوبة من بيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة



خذ بماصة معقمة مبتدئاً بالتخفيفات العالية ١ سم^٣ من كل تخفيف وضعه في طبق بتري معقم وذلك تحت شروط التعقيم



قم بعمل سلسله من التخفيفات العشرية

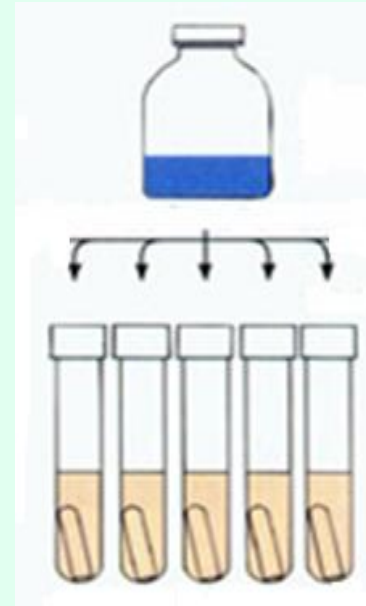
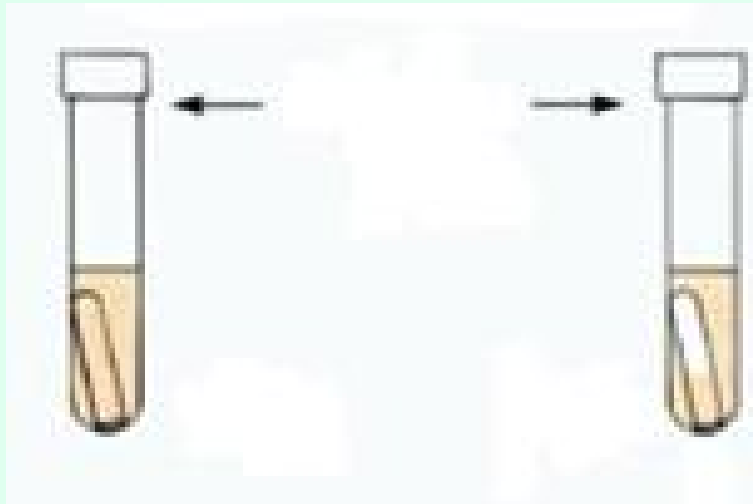


- إحص الأتباق فحصاً جيداً مستبعداً الأتباق التي تحتوي علي أعداد أقل من ٣٠ مستعمرة وتلك التي تزيد عن ٣٠٠ مستعمرة

التحليل القياسي للمياه

الإختبار الإحتمالي

تعتمد فكرة هذا الإختبار على قدرة بكتيريا القولون على تخمير سكر اللاكتوز وإنتاج حامض وغاز خلال ٢٤ ساعة من التحضين على درجة ٣٧°م بحيث يمثل الغاز نسبة ١٠٪ من حجم أنبوبة درهام، وفي هذه الحالة يعتبر الإختبار موجب وتكون العينة غير صالحة للشرب. وإذا لم يتكون غاز يعتبر الإختبار سالب والعينة صالحة للاستعمال الآدمي. أما إذا تكون غاز بنسبة أقل من ١٠٪ من حجم أنبوبة درهام فيجب السماح للعينة بالتحضين ٢٤ ساعة أخرى، فإذا لم يتكون غاز بعد ٤٨ ساعة دل ذلك علي عدم التلوث وبالتالي صلاحية المياه للاستعمال الآدمي. أما في حالة تكون غاز بأي نسبة بعد ٤٨ ساعة فتعتبر العينة مشكوكاً فيها **Doubtful presumptive test** ويجب أن يجري عليها باقي الإختبارات.

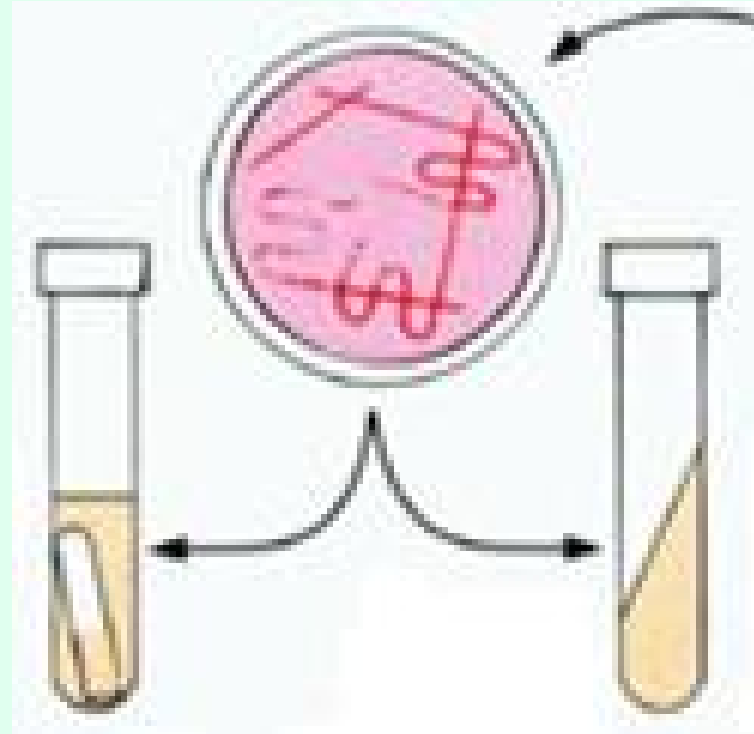


الإختبار التحقيقي

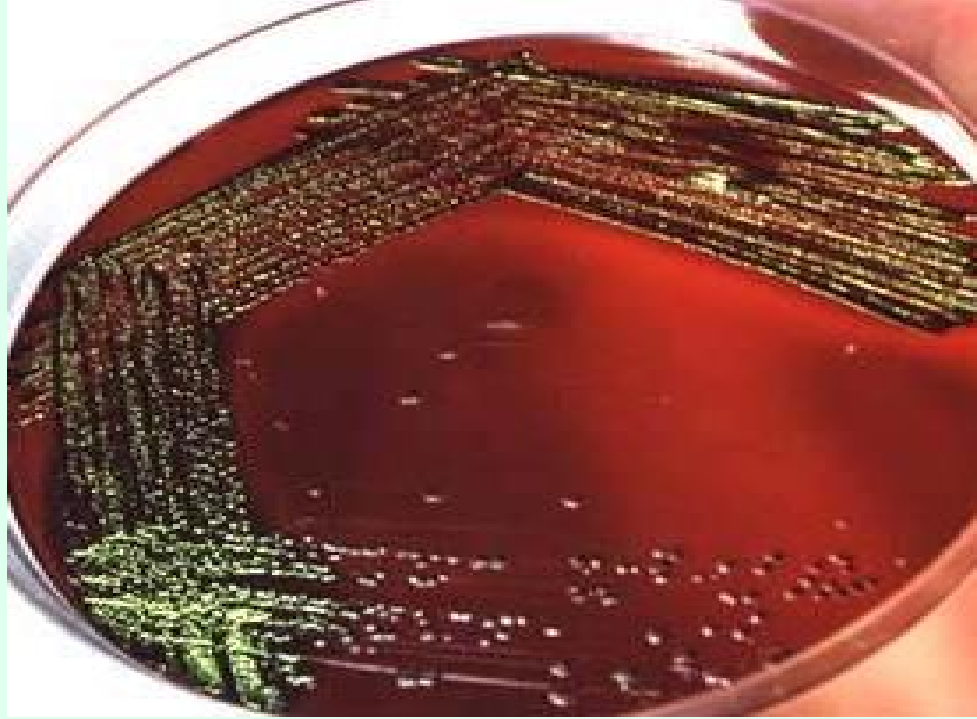
إذا كانت نتيجة الإختبار الإحتمالي السابق موجبة أو مشكوكاً فيها فيجب إجراء هذا الإختبار بإستعمال بيئة أجار الإيوسين وأزرق الميثيلين (EMB) Eosin methylene blue ، حيث تصب البيئة في أطباق بتري المعقمة ثم تترك فترة لتتصلب ثم تُلَقَح الأطباق وتحضن علي ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة ، بعدها تفحص من حيث لون المستعمرات البكتيرية الناتجة . ويلاحظ أن الميكروبات التي لا تخمر سكر اللاكتوز غالباً ما تكون شفافة علي هذه البيئة المغذية حيث أن الصبغة لا تمتص علي الخلايا .

الإختبار التكميلي

يجري هذا الإختبار بغرض التأكد من أن الميكروبات التي ظهرت في الإختبار التحقيقي وتم إختيارها كميكروبات ممثلة لبكتيريا القولون تستطيع أن تخمر سكر اللاكتوز مرة ثانية وبأن لها نفس خصائص بكتيريا القولون وهي أنها عصوية قصيرة غير متجرثمة سالبة لصبغة جرام.



نتيجة الإختبار التحقيقي



- لاحظ مستعمرات ميكروب *E. coli* على بيئة EMB والتي تتميز بأنها صغيرة الحجم ذات لمعان معدني مخضر

ملحوظة : يمكن إستخدام بيئة Endo agar بدلاً من بيئة EMB وفي هذه الحالة تكون مستعمرات *E. coli* على هذه البيئة ذات مركز غامق وتلون البيئة حولها بلون أحمر ذات لمعان معدني . أما مستعمرات *E. aerogenes* فليس لها مركز غامق وتكون معتمة وردية اللون.

التفرقة بين أفراد مجموعة القولون

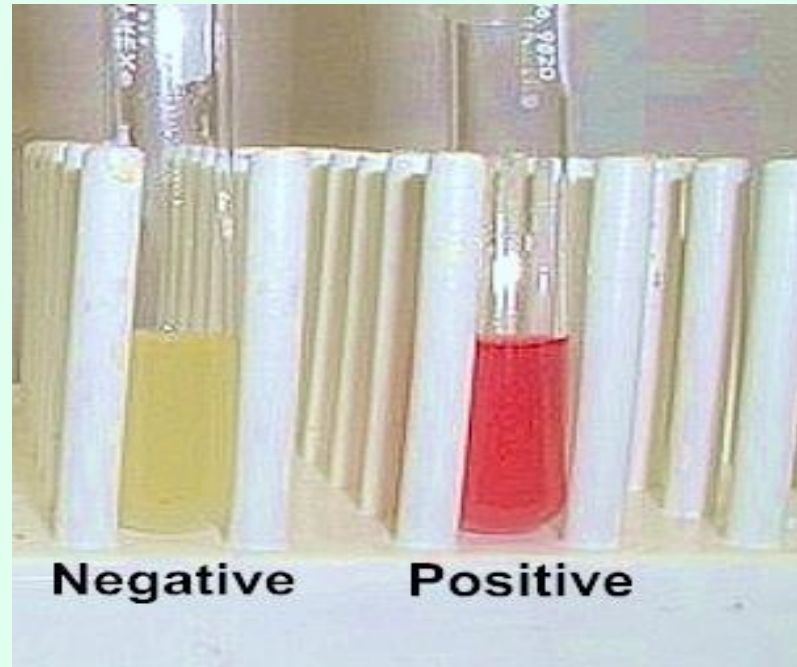
نظراً لوجود تشابه كبير بين أفراد مجموعة القولون وخاصة *E. coli* & *Enterobacter aerogenes* في الصفات الظاهرية لذا فإنه من الأهمية بمكان التفرقة بينهما من خلال بعض الإختبارات التي تعتمد علي بعض الأنشطة الفسيولوجية للميكروبين ويتم ذلك كما يلي :

• إختبار الإندول Indole Test:

تعتمد فكرة الإختبار على قدرة ميكروب *E. coli* على تحليل الحامض الأميني تريبتوفان وتكوين مادة الإندول الطيارة والتي يمكن الكشف عنها بورقة مبللة بحمض الأكساليك حيث تعطي لوناً أحمر.

• إختبار أحمر الميثيل (Methyl Red Test (MR):

تعتمد فكرة هذا الإختبار على قدرة ميكروب *E. coli* على تمثيل سكر الجلوكوز وتكوين كمية كبيرة من الحامض تغير لون دليل أحمر الميثيل، في حين أن كمية الحامض المتكونة بواسطة ميكروب *E. aerogenes* تكون غير كافية لتغيير لون الدليل.



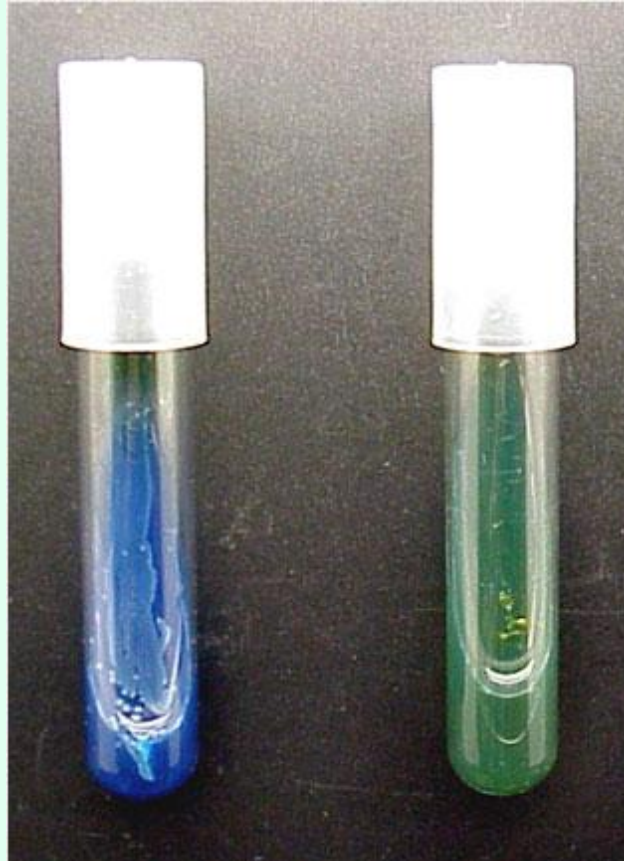
• إختبار الحلقة الحمراء (V.P) Voges-Proskauer Test :

يعتمد هذا التدريب على قدرة ميكروب *E. aerogenes* على تكوين مادة أستيل ميثيل كاربينول acetyl methyle carbinol (amc) أثناء عملية التمثيل الغذائي والتي تكون حلقة حمراء على السطح ناتجة من تكون هذه المادة في وجود المادة القلوية والهواء الجوى وعند توافر الألفانفتول والحامض الأميني الأرجنين ، بينما لا تستطيع أفراد الـ *E. coli* ذلك



• إختبار تمثيل الستراتات **Koser's Test**:

تعتمد فكرة هذا الإختبار على قدرة ميكروب *E.aerogenes* على استخدام أملاح الستراتات كمصدر وحيد للكربون ونموها، بينما لا تستطيع أفراد *E.coli* النمو على هذه الأملاح نتيجة عدم قدرتها على تمثيلها.



يمكنك زيارة المواقع التالية على الشبكة الدولية للإتصالات

- http://www.mmc.edu/microb/dentmicro/PQ/Quizes/Cl_in_cases99/Lab%20Enterics/Lab_EntCase8.html
- <http://www2.austincc.edu/microbugz/31citrate.htm>