



جمهورية العراق  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
جامعة القادسية - كلية العلوم  
قسم علوم الحياة

## عزل وتشخيص البكتيريا من ماء الاسالة

بحث تقدم به الطالب (هاشم حسن) الى مجلس كلية  
العلوم قسم علوم الحياة وهو جزء من متطلبات نيل  
شهادة البكالوريوس كلية العلوم/علوم الحياة

بإشراف: أ.د: ميثم غالي يوسف

2019م

1440هـ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((وجعلنا من الماء كل شيء حي أفلا يؤمنون))

صدق الله العظيم

سورة الأنبياء

الآية (30)

## الاحياء

الى صاحبة القلب الكبير العظيمة العطاء سديدة النصح وعنوان الوفاء

تلك التي حملتني وهنا على وهن وفصالي في عامين

ملهمتي وقودتي.....أمي

الى مساندي ومساعدتي في الحياة الذي لولاه لما وصلت لما انا عليه الان

ذلك الذي تكبد عناء الأيام ليخرجني بأهني صورة

مساعدتي في الحياة.....أبي

الى كل من ساندني ووقف معي تشجيعا لي

اخوتي بالله واصدقائي

اهدي هذا العمل المتواضع عرفانا واحتراما لكل من ساندني ووقف معي

## الشكر والتقدير

اتقدم بالشكر الى رئاسة قسم علوم الحياة وكذلك

اتقدم بالشكر والتقدير الى مشرف البحث الاساذ

الدكتور ميثم غالي يوسف كذلك الى كل من قدم يد

العون لمساعدتي في اكمال هذا البحث

متمنيا لهم الموفقية والنجاح الدائم

## Abstract الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الكشف عن نسبة تواجد الملوثات الميكروبية في مياه الشرب (ماء الاسالة) وتحديد الأنواع الممرضة ونسبة انتشارها والتي تعتبر خطرا يهدد الصحة العامة ومشكلة من اكبر المشاكل التي يواجهها العالم في وقتنا الحالي حيث أجريت الدراسة على عشرة مواقع مختلفة لمحطات الاسالة في محافظة الديوانية حيث زرعت العينات على أوساط غذائية مختلفة للكشف عن مختلف الأنواع الميكروبية المتواجدة وكانت النتائج ظهور مستويات مختلفة من انتشار الأنواع الميكروبية في المياه وسجلت اعلى نسبة لبكتريا E.coli والتي تعتبر ممرضة ووجودها دليل على تلوث المياه بشكل كبير ومن خلال النتائج توضح ان أسباب التلوث الذي يحدث في مياه الشرب (ماء الاسالة) كثيرة منها قدم شبكات توزيع المياه وقربها من شبكات الصرف الصحي مما يؤدي الى تداخل الملوثات المتواجدة في مياه الصرف الصحي مع شبكات توزيع المياه ومن الأسباب الأخرى هو عدم كفاءة تنقية المياه داخل محطات التنقية قبل توزيعها على المناطق السكنية.

المقدمة

INTRODUCTION

تعتبر مياه الشرب واحد من أهم نواقل الأم ارض في حالة تلوثها بسبب ارتباطها الوثيق بالإنسان

(WHO, 1989) أذ يمكن أن تكون مصدر اار للأوبئة والام ارض التي تسببها الأحياء المجهرية (Lechellier , *et al* ,1980)

تكمّن أهمية الماء وضرورته لدخوله في كل العمليات الإحيائية والصناعية ولا يمكن لأي كائن مهما كان ش كله أو نوعه أو حجمه أن يعيش بدونه، يعد تلوث المياه بأشكاله المختلفة من المشاكل الرئيسية على المستوى العالمي وتعاني مناطق مختلفة في العالم من تأثيراتها (طليع, 2000).

حيث تعرضت المياه بأنواعها للتلوث إذا فسدت خصائصها في مناطق كثيرة من العالم ويعد الماء ملوثا عند تغير تركيب عناصره، أو تغيرت حالته بصورة مباشرة أو غير مباشرة بسبب تغيرات طبيعية أو بسبب النشاط البشري أو كليهما بحيث تصبح هذه المياه اقل صلاحية للاستعمالات الطبيعية المخصصة لها (العبيدي, 2006) .

مما يجعل هذه المياه مصدرا لكثير من البكتريا الممرضة وكذلك بكتريا القولون البرازية التي تستعمل كدليل للتلوث البرازي الحديث في المياه (WHO, 1996).

وتتفاقم هذه المشكلات عند حدوث تلوث أنابيب مياه الشرب بمياه الصرف الصحي إذ يتسبب ذلك بتفشي بعض الأوبئة والأمراض كالتيفويد والزحار الجرثومي والكوليرا (محمد, 1986). ان لمياه الفضلات المنزلية والصناعية والزراعية تأثيرا مباشرا على المياه الطبيعية للنهر أو البحيرة، عندما يصل هذا التأثير إلى حد يجعل معه ذلك الماء غير ملائم للاستخدام المرجو منه إذ يصبح الماء ملوثا(محمد, 2001).

اتجهت الدراسات إلى الفلورا البكتيرية للمياه بالتركيز على الممرضة منها ووضع مواصفات قياسية بكتريولوجية لمياه المجاري والتحري عن مصادر تلوث المياه بالبكتريا ومن أمثلة الممرضات هي بكتريا *Escherichca coli* و *Salmonella* و *Shigella* ومن جهة أخرى تسبب بعض الأحياء الدقيقة أمراضا انتهازية وخاصة لذوي المناعة الطبيعية الضعيفة مثل المسنين والناشئة الصغار والأشخاص ذوي المناعة المتوسطة ومن أمثلتها *Klebsiella* و

(WHO, 1996). Pseudomons إذ أشارت الدراسات والتقارير إلى ارتفاع وفيات الأطفال في الدول النامية بسبب الإسهال مقارنة بالدول المتقدمة بسبب تلوث مصادر المياه (Tom and Arely, 1977) .

يحصل التلوث في مياه الشرب عن طريق المعاملة الغير جيدة للمياه داخل محطات التصفية (العزاوي, 2002)

ويعتبر تلوث مياه الشرب بالبكتيريا من المشاكل التي تواجه المستهلكين لمياه الشرب وأن الطريقة الوحيدة للتأكد من وجود او خلو نماذج المياه من البكتيريا هي عن طريق فحص نماذج المياه في المختبرات المتخصصة والتأكد من كونها مطابقة للمواصفات الخاصة بمياه الشرب والموضوعة من قبل المنظمات الدولية مثل منظمة الصحة العالمية ( WHO ) ووكالة حماية البيئة ( EPA ).. ولا يعتبر وجود كل انواع البكتيريا هو مكن الخطورة وانما يتم التركيز فقط على البكتيريا المرضية وخاصة المعوية منها و التي تسبب العديد من الأمراض مثل اصابات الجهاز الهضمي ، الدزنتري ، التهاب الكبد، حمى التيفوئيد و الكوليرا ( Sharon, et al, 2009) .

وضعت منظمة الصحة العالمية ( WHO ) عام 1958 عدة معايير للمياه الشرب في حالة تجاوزها يعتبر الماء غير صالح للشرب ومن هذه المعايير حيث تم استخدام بعض الادلة الحيوية لتحديد مياه الشرب منها الدلائل البكتيرية هذا ويعتبر وجود بكتيريا القولون *Escherichia coli* بشكل خاص دليلا على التلوث البرازي Lechevallier et al.,1996) ووجود بعض الكائنات مثل *Clostridium & Streptococci faecalis* *perfringens* قد تستخدم في تحديد منشأ التلوث البرازي (WHO, 1985) تعد بكتيريا القولون جزء من عائلة البكتيريا المعوية *Enterobacteriaceae* وهي بصورة عامة لها القدرة على النمو في درجة حرارة تتراوح بين 35-37م وتنتج حامض وغاز بعد 24-48 ساعة سائلة لصبغة كرام وغير مكونة للصبورات سائلة لفحص الاوكسيداز لها القدرة على اختزال النترات الى نترت وتعيش هذه البكتيريا في بيئات طبيعية متعددة كذلك تعيش في امعاء الانسان والحيوان فيمكن ان توجد في الفضلات لذلك لا تعتبر مؤشر كافي لحصول حالة تلوث برازي للماء الا ان الكشف عنها في المياه الصالحة للشرب يشكل خطورة كبيرة اذ ان وجودها في مياه الشرب يدل على ان عمليات التنقية مياه الشرب غير كاملة او حدوث حالة تلوث بعد المعاملة او دخول الملوثات الى شبكة الانابيب مما يزيد من انتقال الكثير من الامراض (WHO-1995) وقد استخدمت منذ زمن بعيد كدلائل لتعقيم نوعية مياه داخل الانابيب الناقلة لها (BLOCK et al, 1997) اما بكتيريا القولون البرازية



فتتميز بكونها لها القدرة على تخمر سكر اللاكتوز عند درجة حرارة ( 44-45) وتكون حامض وغاز (WHO,1995) تشكل هذه المجموعة من البكتيريا نسبة تتراوح (60-90%) من مجموع بكتيريا القولون حيث تشمل الاجناس *Escherichia-Citrobacter-Klebsiella* – حيث تشكل بكتيريا *Escherichia* نسبة (90%) من مجموع بكتيريا البرازية اذ ان وجودها في مياه الشرب يدل على حدوث تلوث برازي لان هذه المجموعة تعيش في امعاء الانسان والحيوانات ذوات الدم الحار. لقد عملت بعض الهيئات الصحية على تصنيف مياه الشرب بالاعتماد على بكتيريا القولون الى اربعة اصناف كما في الجدول المبين

جدول رقم (1) تصنيف مياه الشرب حسب محتواها من بكتيريا القولون (المصلح 1988)

عدد بكتيريا القولون خلية 100\مل	صنف الماء
اقل من 1	ماء مقبول جدا
2-1	ماء مقبول
3----10	ماء مشكوك فيه
اكثر من 10	ماء غير مقبول

لهذا اشترطت المواصفات القياسية العراقية لسنة 1998 ضرورة ان لا يتجاوز عدد البكتيريا البرازية عن خلية واحدة لكل (100) مليلتر من مياه الشرب.

في حين اشترطت ايضا ان لا يتجاوز عدد بكتيريا القولون الكلي عن (5) خلية لكل (100) مليلتر من الماء (WHO , 1996) يجب الاشارة الى ان خلو المياه من بكتيريا القولون لا يعني بشكل قاطع ان الماء صالح للشرب. اكدت المواصفات العراقية لمياه الشرب لعام 1989

ومنظمة الصحة العالمية (WHO 1996) على ان مياه الشرب يجب ان تكون خالية تماما من البكتريا حيث أصبح الحصول على مياه نقية يمثل تحديا نظرا لتزايد انتشار الامراض المختلفة في مناطق كثيرة من العالم حيث اظهرت الاحصائيات ان حوالي 81 مليون شخص سنويا يتوفون بسبب التلوث الميكروبي للمياه.

المواد وطرق العمل

**MATERIAL AND  
METHODS**

## المواد وطرق العمل: -

تم جمع 10 عينات من محطات الاسالة في مدينة الديوانية لغرض التحري عن التلوث الميكروبي في مياه تلك المحطات

## المواد والاجهزة المستخدمة: -

1-اطباق بتري عدد 50 50 Petri dishes

2-انابيب اختبار عدد 50

3-زجاجيات مختبرية

4-كابينة الزرع المختبري Hood

5-الحاضنة Incubator

6-مصباح بنزن Lamp burner

7-صفحة حرارية Hot plate

8-وسط اكار الماكونكي Macckonky agar

9-وسط المانيتول السائل Mannitol Broth

وتم تعقيم جميع الأدوات قبل العمل المختبري

## طريقة اخذ العينات: -

تم أخذ العينات من محطات ماء الاسالة في مدينة الديوانية وتحديدا من 10 محطات مختلفة وتم وضع العينات في حافظات معقمة لمنع تلوث العينات

## وسط اكار الماكونكي Macckonky agar

بيئة تفريقية للتفريق بين البكتيريا المخمرة للاكتوز Lactose fermenting والتي تأخذ اللون الأحمر مثل E.coli و Klebsiella و Enterobacter ، وبين البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز Non-lactose fermenting والتي ليس لها لون (شفاف) مثل Proteus و Salmonella و Shigella تحتوي على Crystal violet أو Bile Salts بحيث تسمح للبكتيريا السالبة لصبغة جرام بالنمو وتنشط نمو الموجبة لصبغة جرام

## وسط المانيتول السائل Mannitol salt Broth

بيئة تفريقية للتفريق بين Staphylococcus aureus و Staphylococcus species التي تخمر المانيتول بتأثيرها على لون الكاشف Phenol Red وتعطي اللون الأصفر بينما الـ Staph. الأخرى لا تخمر المانيتول. بيئة اختيارية لأن تركيز الأملاح العالي (NaCl 7.5%) الموجود فيه يثبط نمو الميكروبات الأخرى.

## طريقة الزرع: -

بعد ان تم أخذ العينات يتم تحضير الوسط الزرعى ويصب في اطباق بتري يتم تعليمها لكل عينة ويتم عمل تخافيف لكل عينة ويتم الزرع بطريقتين اما بطريقة صب الاطباق او بطريقة التخطيط بعد ان يتصلب وسط اكار الماكونكي وبعدها يحضن الوسط في الحاضنة بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة. واما انابيب الاختبار فيتم زرع العينة في وسط المانيتول السائل وتحضن في الحاضنة لمدة 24 ساعة بدرجة 37 درجة مئوية

## حساب العدد الكلي للبكتيريا الهوائية Total count of aerobic bacteria

تم استخدام طريقة التخفيف تبدا من ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ..... $10^{-10}$ ) ثم سحب 0,1 مل من على تخفيف ثم أضيق الى الوسط الزرع Nutrient agar وحرك بصورة دائرية على الوسط ثم حضن بدرجة حراره 37م لمدة ساعة وتم حساب العدد الكلي للبكتيريا بضرب معدل السنتمترات لكل طبق في مقلوب التخفيف للحصول على العدد الكلي للبكتيريا معبرا عنه بوحدة تكوين مستعمرة 1 مل ثم مقارنتها بالحدود الميكروبية المسموح بها وفق المواصفات القياسية العراقية

## العدد الكلي لبكتيريا القولون Total Coliform bacteria:

في هذه الطريقة تم استخدام الوسط الزرع Macronkey azar للكشف عن البكتيريا المخمرة و غير المخمرة لسكر اللاكتوز عن طريق صب الوسط المذكور بعد تحضيره في اطباق بتري معقمة ثم سحب 0.1 مل من ماء العينة ونشره على الوسط باستخدام ناشر معقم وتحضن الاطباق بدرجة 37 م بصورة مقلوبة لمدة 24 ساعة ثم يم حساب عند المستعمرات لكل طبق

## الفحوصات الكيمو حيوية

### - Indol Production: اختبار إنتاج الأندول

تم تلقيح وسط Peptone agar بالبكتيريا المراد تشخيصها والتنمية في وسط المكوني الذي يحتوي الأحياء المجهرية التي تم ترعها في وسط GIBB3 حضنت الاوساط حيث ظهور الحلقة الحمراء على الوسط يدل على ايجابية اختبار الأندول

### - Methyl Red test: اختبار أحمر المثيل

تم تلقيح وسط Paptot Water بالبكتيريا المراد تشخيصها على وسط ماکونكي وحضنت الأوساط المزروعة بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ثم اضيفت قطرات من كاشف النيل الأحمر وتركت لمدة 2دقيقة حيث ظهور اللون الأحمر بكل أن الاختبار موجب 2000 (Macfaddin

### - Voges - proskauer test ( VP)

لقح وسط peptot water بالبكتيريا النامية على وسط ورتي وحضنت الأوساط المزروعة بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ثم اضيفت قطرات من كشف p m الي الوسط الزرع وتركت لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 37م وسجلت النتيجة ساليه لعدم تغير لون الوسط الى اللون الاحمر Macfaddin

2000

### - Catalase test فحص الكاليز

يتم من خلال سحب عينة من النمو البكتيري المراد تشخيصه والتامي على وسط EMB بواسطة عود خشبي ووضع العينة على شريحة زجاجية ثم اضيفت قطرات من الهيدروجين بتركيز 3% عند ملاحظة ظهور فقاعات يدل على قابلية البكتيريا النتاج الزيت الكتان

النتائج والمناقشة

## RESULTS AND CONCLUSION

اشترطت منظمة الصحة العالمية (WHO) عام 1958 خلو مياه الشرب من الأحياء المجهرية الضارة (WHO,1973). كما أن وجود بعض المغذيات في المياه قد تكون سبب ملائم لنمو وتكاثر تلك الأحياء (Hassan et al, 2008). صنفت مياه الشرب اعتمادا على محتواها البكتيري إذ أن المياه التي تحوي على أقل من 10 خلية أحياء مجهرية/سم<sup>2</sup> تعتبر تامة النقاوة (Prescotte et al,1950).

يعتبر فحص العدد الكلي للملوثات الحية من الفحوص المهمة جدا والتي تعطي صورة واضحة عن مدى تلوث المياه بالأحياء المجهرية وتلوث تلك المياه من خلال عملية التعبئة والنقل (Taylor and Geldrich, 1979) كما تعطي صورة واضحة عن المخاطر الصحية الناتجة عن تلك الأحياء المدروسة (Lechelliera et al, 1980) تراوح العدد الكلي للبكتيريا في المياه المدروسة بين (100 و أكثر من 1000) بكتيريا/مل وهذا يدل على عدم مطابقة بعض العينات للمواصفات القياسية ويرجع السبب الى عدم استخدام طرق التعقيم الدقيقة أو حصول تلوث أثناء عمليات النقل (يحيى وآخرون، ٢٠٠٢).

تعتبر بكتريا القولون (Coliform Bacteria) من الأنواع البكتيرية التي يشير وجودها إلى تلوث المياه بالفضلات سواء كانت بشرية أم حيوانية (Harwood,2002) وتشير النتائج الى وجود هذه البكتيريا بمديات تتراوح بين المتوسطة الخطورة والخطرة وهذا دليل على سوء وعدم كفاءة شبكات ماء الاسالة في العينات المدروسة وهذه يدل على أن التلوث معوي أي أن التلوث مصدره الفضلات المعوية (WHO,1999).

أن ما لوحظ عن التلوث في العينات المأخوذة يرجع إلى عدة أسباب منها أن تلوث هواء المحيط الذي تتم فيه التصفية وكذلك تلوث وقدم الآلات المستخدمة في التصفية (Bennett,1997).



## العدد الكلي لبكتيريا القولون Total Coliform bacteria

في هذه الطريقة تم استخدام وسط الزرعي Macconkey agar للكشف عن البكتيريا المخمرة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز عن طريق صب الوسط المذكور بعد تحضيره في أطباق بتري معقمة ثم سحب 1 مل من ماء العينة ونشره على الوسط باستخدام ناشر معقم وتحضن الاطباق بدرجة 37 م بصورة مقلوبة لمدة 24 ساعة ثم ليم حساب عدد المستعمرات لكل طبق وبعد انتهاء فترة الحضانة يتم عد بكتيريا القولون E.coli النامية وإذا لم يكن هناك نمو تحضن المستعمرات 24 ساعة إضافية ويمكن حساب العدد الكلي لبكتيريا القولون من خلال القانون التالي

العدد الكلي للبكتيريا = عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف

وتظهر بكتيريا E.coli على وسط اكار الماكونكي بلون وردي دلالة على تخميرها لسكر اللاكتوز وتعطي حامض وغاز وهذا يفسر تكون الرغوة على سطح المستعمرات الوردية النامية على وسط الماكونكي دلالة على وجود بكتيريا القولون.

## عدد المكورات العنقودية الذهبية (Staphylococcus aureus count) :

ويتم استخدام وسط المانيتول السائل Mannitol salt broth في هذه الطريقة وهو وسط اختياري لتنمية أنواع بكتيريا Staphylococcus وهذا الوسط ذو لون اصفر حيث تم زرع العينات على هذا الوسط في انابيب اختبار وضعت في الحاضنة مدة 24 ساعة وأكدت النتائج بعد انتهاء مدة الحضانة تواجد بكتيريا Staphylococcus ولكن بشكل غير منذر بالخطر وقد استخدم وسط المانيتول السائل Mannitol salt broth للتفريق بين بكتيريا Staphylococcus aureus وبقية أنواع Staphylococcus الأخرى كون الأولى تخمر المانيتول وتظهر النتيجة بشكل عكورة في انابيب الاختبار وهذه البكتيريا كذلك موجبة لاختبار Coagulase.

أن وجود هذه البكتيريا يعتبر مؤشرا على تلوث مياه الشرب بما يجعله غير صالح للاستهلاك وبالعودة للنتائج فقد لوحظ ظهور أنواع من البكتيريا المرضية الخطرة والمسببة لحالات

الإسهال الشديد بمختلف انواعه فقد لوحظ تواجد البكتيريا shigella sp

طبقا لهذه الدراسة فقد تم التوصل إلى استنتاج مفاده بان مياه الشرب المأخوذة من الاسالة في مناطق المحافظة المختلفة غير صالحة للشرب بسبب وجود أنواع مختلفة من البكتيريا المرضية

والمسببة لحالات التسمم والإسهال الشديد طيلة فترة الدراسة و عليه نوصي بالاستعانة بوسائل  
التثقيف وأجهزة الإعلام لزيادة الوعي البيئي في توضيح خطر استعمال مثل هذه المياه و الحد  
من تلوث مياه النهر وخاصة في القرى والمناطق المحاذية له. ومتابعة وجود الإحياء المجهرية  
المرضية في محطات مياه الشرب ومن شبكات التوزيع والتخلص منها بالطرق المناسبة  
وإصلاح الخلل في الأنابيب القديمة المخصصة لتوزيع المياه من هذه المحطات.

المصادر

REFERENCES

## المصادر

- طليع، عبد العزيز يونس والبرهاوي، نجوى إبراهيم. (2000). تلوث مياه نهر دجلة بالفضلات السكنية شمال مدينة الموصل، مجلة التربية والعلم، العدد 21.
- العبيدي، عبد اللطيف. (2006). الإنسان وتلوث البيئة، كلية الزراعة - جامعة الأزهر.
- محمد، أميرة محمود. (1986). دراسة عن المكورات المسببة البرازية وعلاقتها بمصادر التلوث المياه في محافظة نينوى، رسالة ماجستير، كلية العلوم - جامعة الموصل.
- محمد، نهلة خلف علي. (2001). البيئة في سؤال وجواب، دائرة صحة نينوى، مركز التعليم الطبي المستمر، سلسلة الكتب 10.
- العزاوي، ابتسام حبيب (2002). دراسة التلوث البكتيري في مياه الشرب في محافظة بابل. , كلية العلوم, جامعة بابل.
- World Health Organization (1989) Guide line for drinking water quality. Volume 2. Geneva.
- Lechellier, M.W., Seidler, R.J. and Evans, T.M (1980)Enumeration and characterization of stander Plate Count Bacteria in Chlorinated and Raw water Supplies:40,922-930.
- Sharon,O.,Bruce , I.,Wayne , W., and Shery, W. (2009) . Drinking Water: Bacteria , Nebraska Dept . of Health and Human Services , University of nebraska , Lincoln.
- W. H. O. (1996). Guidelines for Drinking Water Quality 2nd ed. Vol. 2- Health Criteria and other Supporting Information, Geneva.
- . Tom. Mc Cutchen & Arely. Goodenkauf. (1977). Water and Waste Water Technoloy. John Wiley and Sons, Inc, U. S. A.