

معمل ميكروبيولوجيا المياه والصرف الصحي

“ 344 MBIO ”

نورة الكبيسي

Nalkubaisi@ksu.edu.sa

اختبار التلوث بمياه المجاري

Examination of water for sewage pollution





الماء.. عرضة للتلوث بمياه المجاري ويمكن الكشف عن هذا النوع من التلوث بالكشف عن

مجموعة بكتيريا القولون، حيث يعتبر الماء صالحاً للشرب إذا كان :

■ خالياً من الملوثات الكيميائية السامة .

■ خالياً من ميكروبات القولون .



اختبارات تلوث العينة بميكروبات القولون يتم هذا الاختبار على ثلاث مراحل (اختبارات)

Presumptive Test

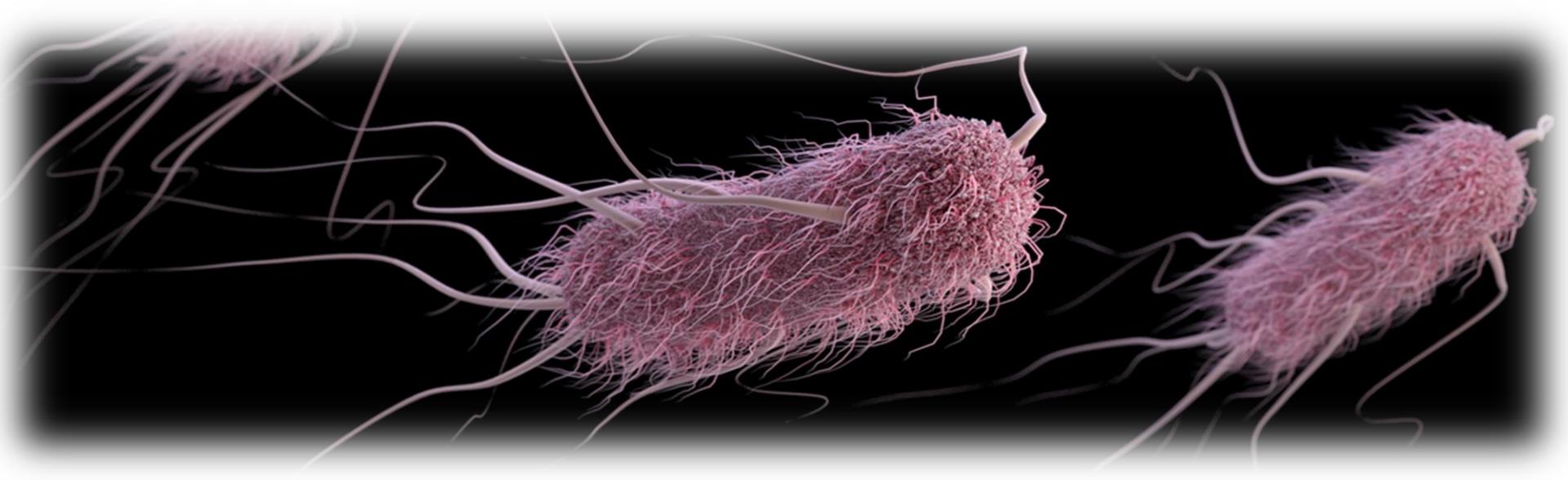
الاختبار الاحتمالي

Confirmatory Test

الاختبار التأكيدي

Completed Test

الاختبار التكميلي



اولاً

ما هي ميكروبات القولون..؟

Escherichia coli

❖ هي ميكروبات عسوية سالبة لجرام .

❖ غير متجرتمة ومتحركة بأسواط .

❖ تحلل سكر اللاكتوز مع إنتاج حمض وغاز .

❖ توجد عادة في أمعاء الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار .

❖ لذلك فوجودها في الماء دليل على تلوث العينة بمياه المجاري .

اولاً

الاختبار الاحتمالي

يجرى هذا الاختبار لمعرفة تلوث المياه بالمجاري، وحيث أن مياه المجاري تحتوي على مجموعة بكتيريا القولون ولهذه الأنواع قدرة على تخمر سكر اللاكتوز معطية حامض وغاز ولذلك تختبر العينات بزراعتها على بيئة تخمر السكريات المحتوية على سكر اللاكتوز وعلى دليل أحمر الفينول/ دليل بروموكريسل الارجواني ثم تحضن هذه الأنابيب وتفحص لوجود نتائج

هذا الاختبار.



ثانياً

الأدوات والمواد اللازمة



1. عينة المياه المراد اجراء الاختبار عليها .

2. بيئة ماكونكي السائلة (MacConkey agar (MAC).

3. أنابيب اختبار كبيرة بأغطية ومعقمة .

4. أنابيب اختبار صغيرة معقمة .

5. ماصات ذات سعة 1 مل معقمة .

6. ماصات ذات سعة 10 مل معقمة .

مكونات بيئة ماكونكي (MAC) .MacConkey agar

النسبة

17 gm

3 gm

10 gm

1.5 gm

5 gm

0.03 gm

0.001 g

13.5 gm

Add to make 1 Liter

المكونات

Peptone (Pancreatic digest of gelatin)

Proteose peptone (meat and casein)

Lactose monohydrate

Bile salts

Sodium chloride

Neutral red / Bromocresol purple (BCP)

Crystal Violet

Agar

Distilled Water

مبدأ عمل بيئة آجار ماكونكي

تستخدم ماكونكي آجار لعزل البكتيريا المعوية السالبة لجرام كذلك للتفريق ما من البكتيريا المخمرة للاكتوز والغير مخمرة.

- **Peptone (Pancreatic digest of gelatin) و Proteose peptone (meat and casein):** توفير المواد الغذائية الأساسية، والفيتامينات وعوامل النيتروجينية اللازمة لنمو الكائنات الحية الدقيقة.
- **Lactose monohydrate:** مونوهيدرات اللاكتوز هي مصدر متخمّر من الكربوهيدرات يعزى اليها العمل التفريقي **differential media** لهذه البيئة ما بين المخمرة والغير مخمرة لسكر اللاكتوز.
- يعزى العمل الانتقائي لهذه البيئة **Selective media** الى **crystal violet and bile salts** والتي تثبط معظم أنواع البكتيريا الموجبة لجرام.

• Sodium chloride

كلوريد الصوديوم يحافظ على التوازن الاسموزي في الوسط.

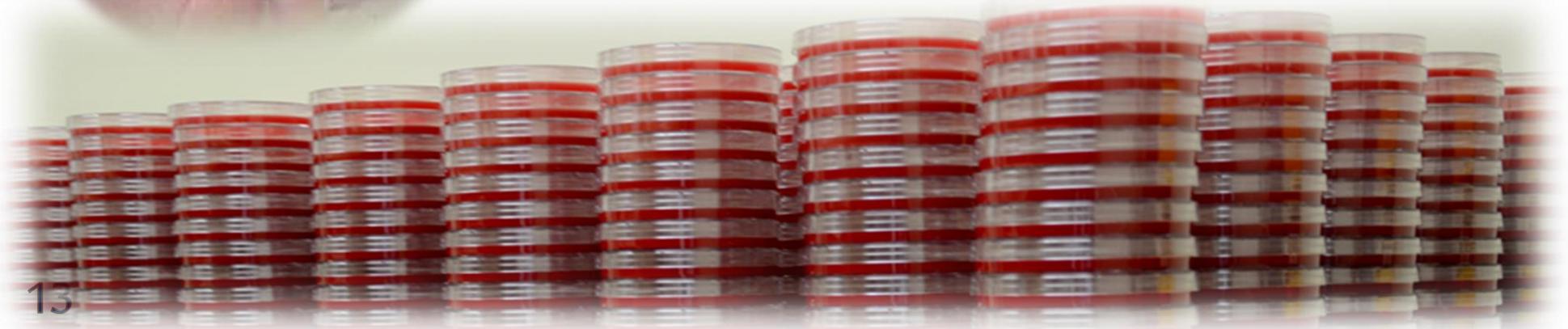
• **Neutral red Or Bromocresol purple (BCP)**

هو مؤشر الرقم الهيدروجيني الذي يعطي لوناً أحمر/ بنفسجياً في الرقم الهيدروجيني الأقل من 6.8،

وهو عديم اللون في الرقم الهيدروجيني الأكبر من 6.8.

• Agar

أجار هي عامل التصلب في الوسط.



استخدامات بيئة آجار ماكونكي

1. لعزل البكتيريا المعوية السالبة لجرام.

2. للتفريق ما بين البكتيريا المخمرة للاكتوز
والغير مخمرة.

3. لعزل بكتيريا القولون ومسببات الأمراض
المعوية في المياه، منتجات الألبان والعينات
البيولوجية.



نتائج النمو على بيئة آجار ماكونكي الصلبة

- السلالات المخمرة للاكتوز تظهر حمراء أو وردية ويمكن أن تحيط بها منطقة من الحمض bile salt.
- اللون الأحمر بسبب الحمض الناتج تخمر سكر اللاكتوز وامتصاص محايدة أحمر وامتصاص الأحمر المحايد عندما ثم تنخفض حموضة الوسط الى أقل من 6.8.
- السلالات الغير مخمرة للاكتوز، مثل *Shigella and Salmonella* هي عديم اللون وشفافة وعادة لا تغير مظهر البيئة.
- قد تظهر *Yersinia enterocolitica*، المستعمرات صغيرة غير مخمرة للاكتوز بعد تحضينها في درجة حرارة الغرفة.

نتائج النمو على بيئة آجارماكونكي الصلبة

العلامة المميزة	اللون	الكائن
non-mucoid	red/pink	<i>Escherichia coli</i>
mucoid	pink	<i>Aerobacter aerogenes</i>
minute, round	red	<i>Enterococcus species</i>
opaque	pale pink	<i>Staphylococcus species</i>
fluorescent growth	green-brown	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

نتائج النمو على بيئة آجار ماكونكي الصلبة



Escherichia coli



Enterobacter aerogenes



↑
**Lactose
fermenting
colonies**

PINK

↑
**Non-lactose
fermenting
colonies**

COLORLESS



Proteus vulgaris



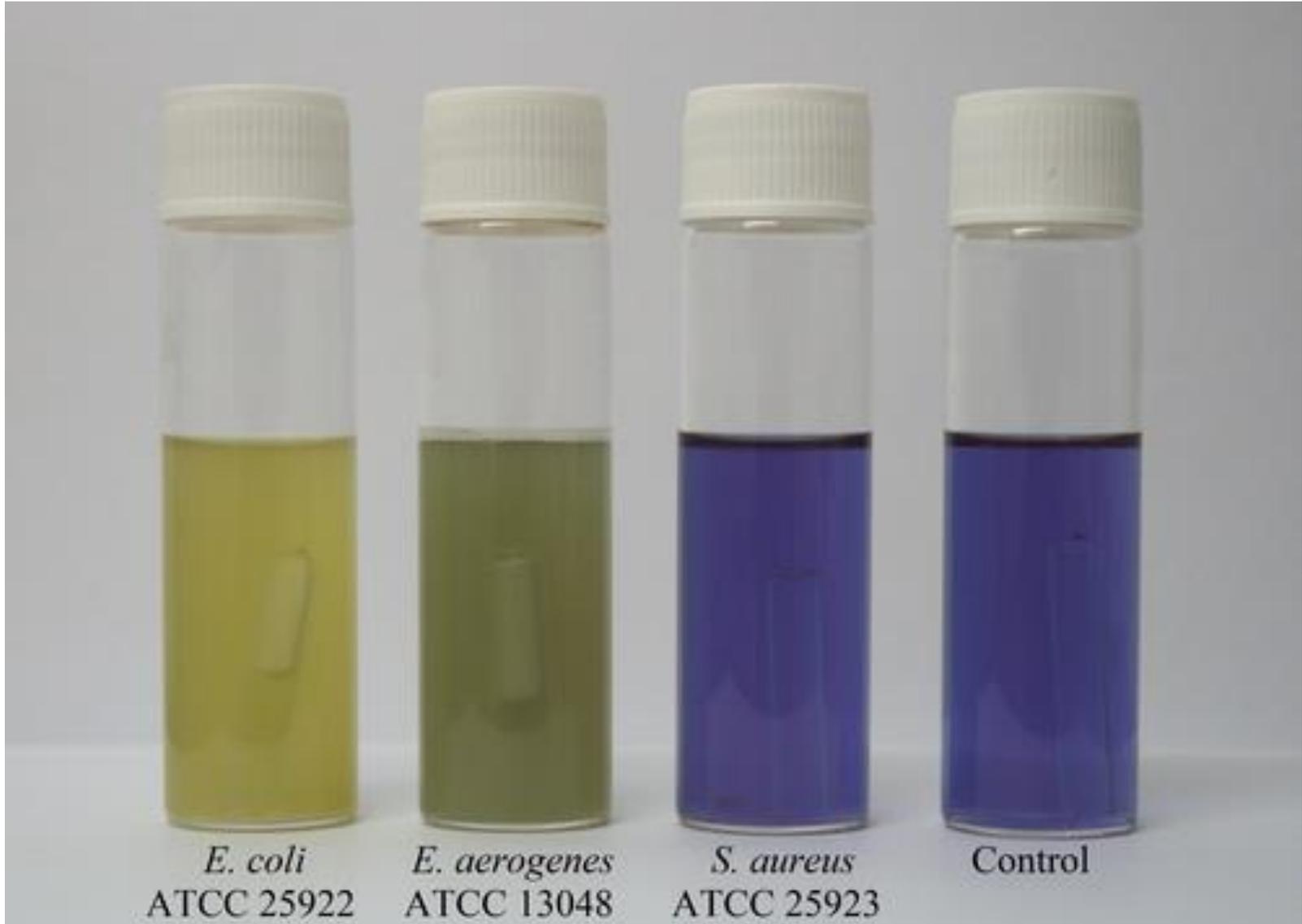
Salmonella typhimurium



Staphylococcus aureus

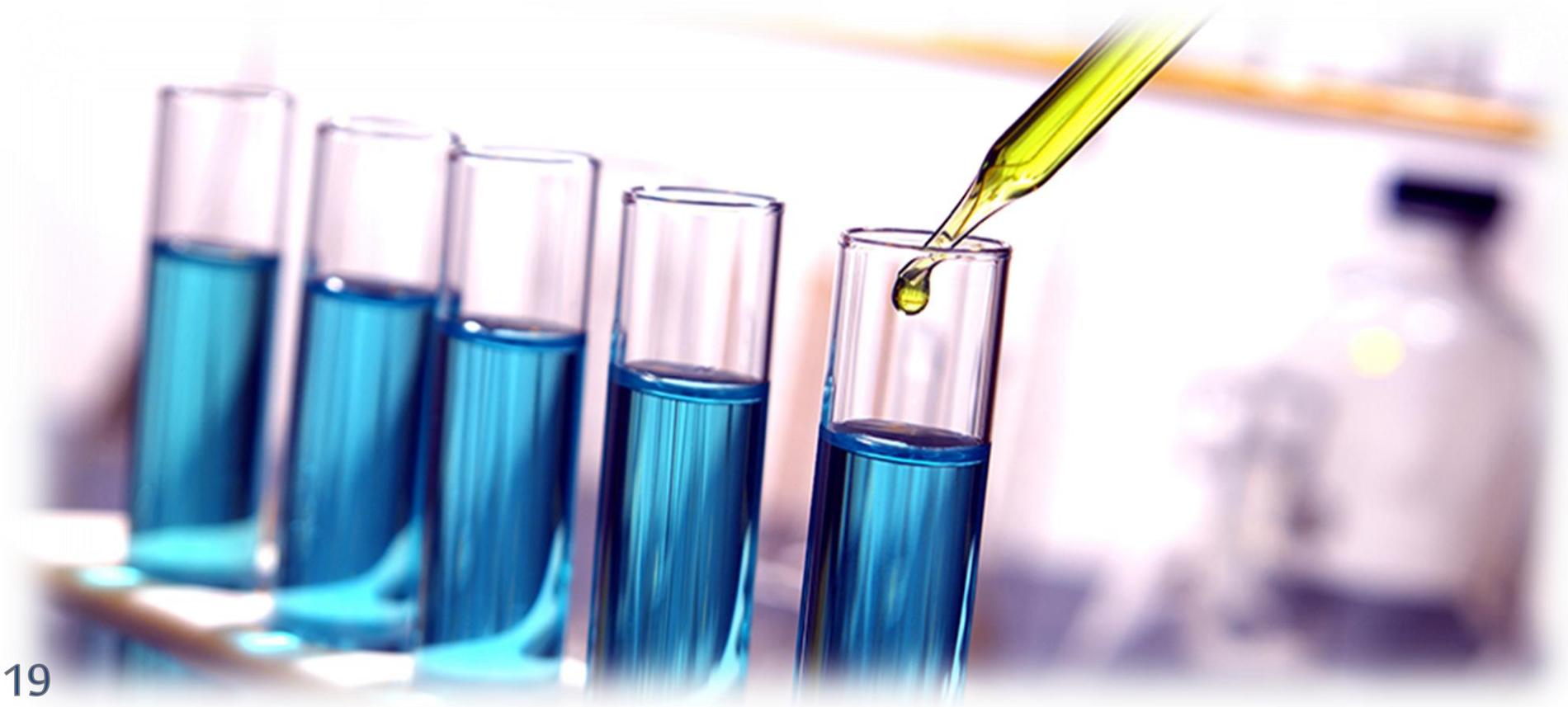
MacConkey's Agar

نتائج النمو على بيئة أجار ماكونكي السائلة



ثالثاً

خطوات العمل



1. تحت ظروف التعقيم يصب من البيئة مقدار 10 مل في كل الأنابيب الكبيرة .

2. توضع الأنبوبة الصغيرة (درهام) بصورة مائلة في داخل الأنبوبة الكبيرة.



DURHAM TUBE

3. تلقح الأنبوبة الكبيرة بعينة المياه المراد فحصها بعد رجها جيداً بما يقارب 0.5 – 1 مل من المياه .

4. تحضن عند 37 م° لمدة 24 ساعة.

5. تفحص النتائج .



- بعد تحضين 24 ساعة -

عدم ظهور حمض وغاز

ظهور حمض و غاز

تحضن لمدة 24 ساعة

موجبة



بعد تحضين الأنابيب
لمدة 24 ساعة أخرى

عدم ظهور حمض وغاز

العينة سليمة

ظهور حمض و غاز

مشكوك
فيها

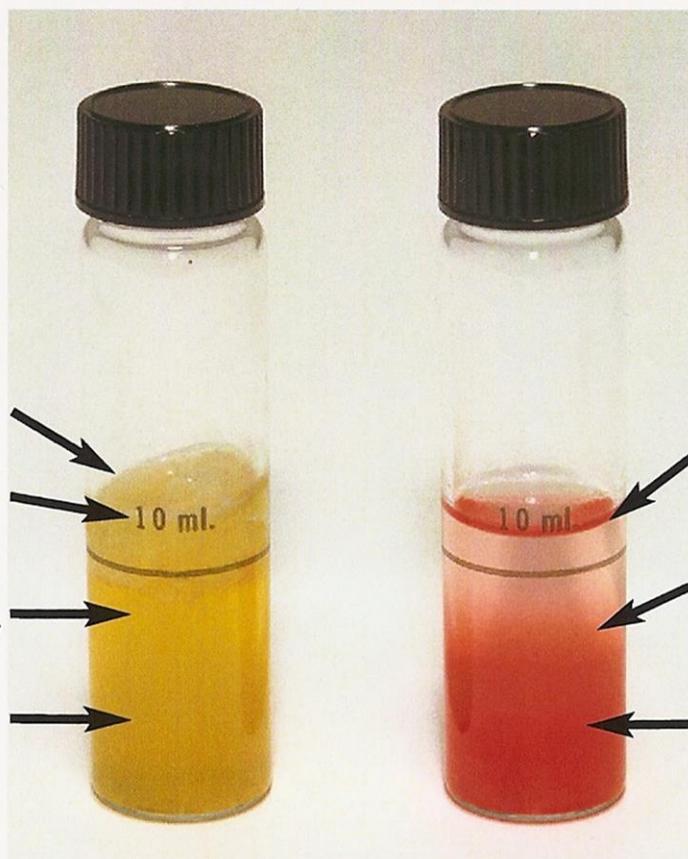


استعراض بعض النتائج

TOTAL COLIFORM INDICATOR COLOR CHART

POSITIVE TEST

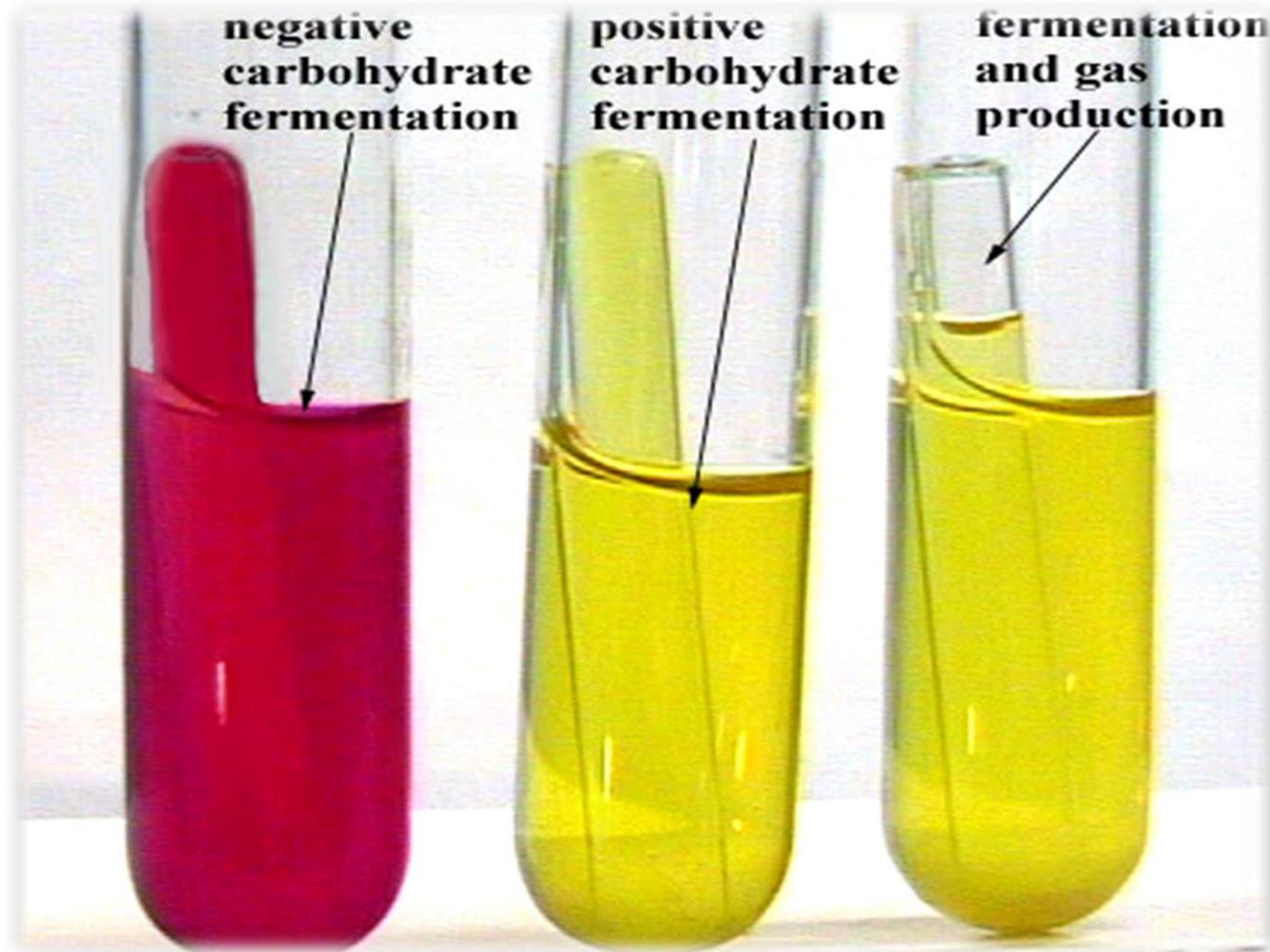
many gas bubbles present
gel rises to surface
liquid below gel is cloudy
indicator turns yellow

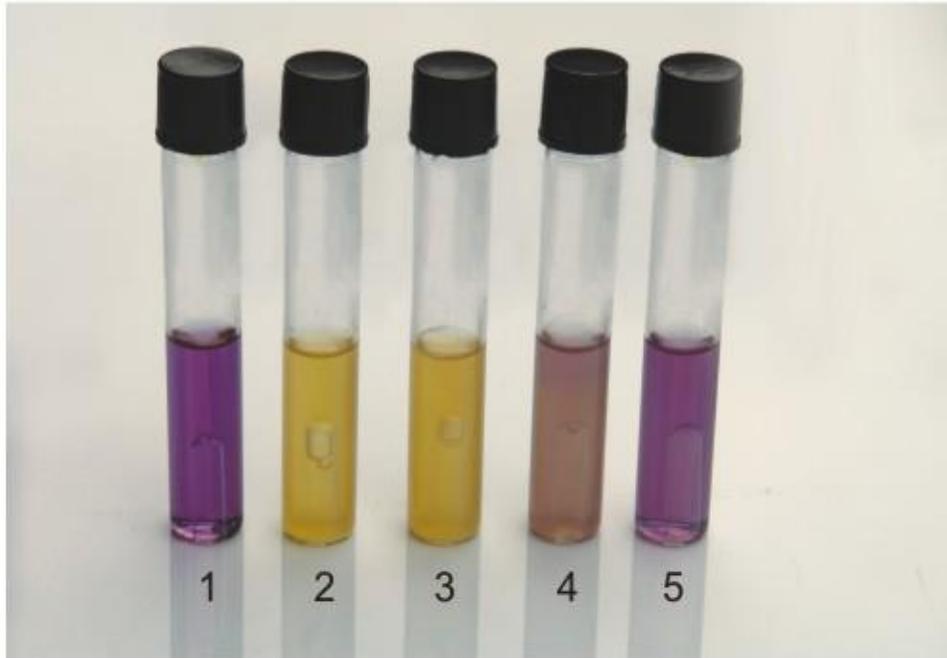


NEGATIVE TEST

liquid above gel is clear
indicator remains red or turns yellow with no gas bubbles
gel remains at bottom of tube

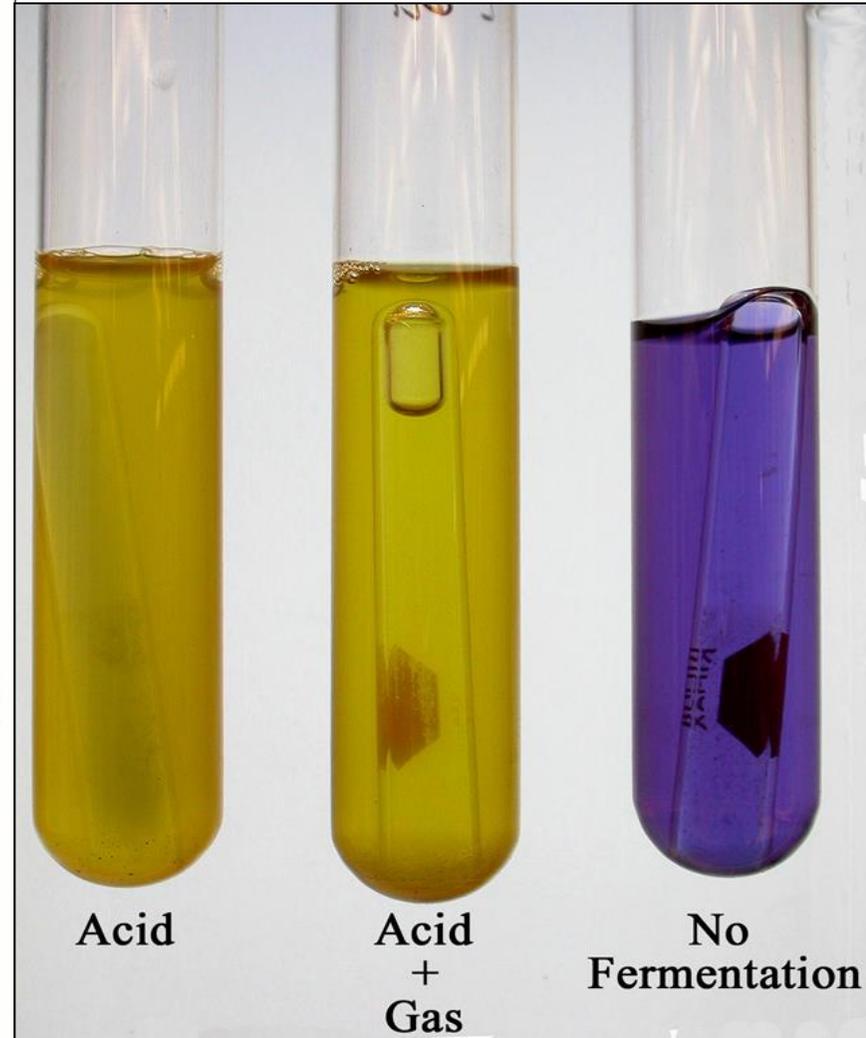
استعراض بعض النتائج





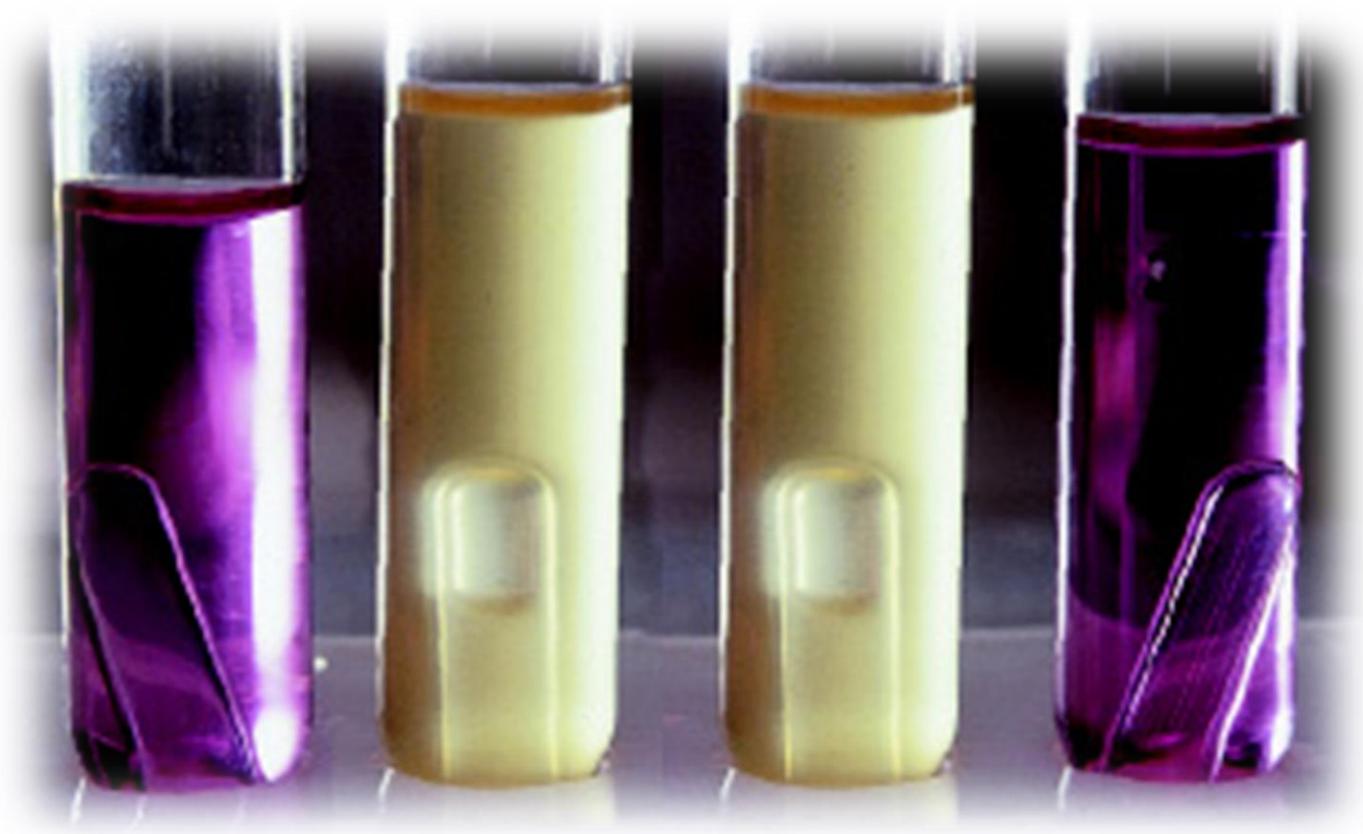
MacConkey Broth Purple w/BCP (M083)

1. Control
2. *Escherichia coli* ATCC 25922
3. *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048
4. *Salmonella Choleraesuis* ATCC 12011
5. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق



الآن عزيزتي دورك هو الأتي :

التعليق على التجربة ومناقشة التعليق





نهاية المعمل الثالث

