برنامج المسار الوظيفي للعاملين بقطاع مياه الشرب والصرف الصحي

دليل المتدرب

البرنامج التدريبي فني معمل – الدرجة الثالثة

الاختبارات الميكروبيولوجية

تم اعداد المادة بواسطة الشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحي
قطاع تنمية الموارد البشرية - الادارة العامة لتخطيط المسار الوظيفي V1-7-2015

الفـهـرس

التحاليل الميكروبيولوجية في مياه الشرب والصرف الصحي ٣
مقدمة ٣
البكتريا ٣
١. البكتيريا المستديرةSpheres ٣
٢. البكتيريا العصويةrod like ٤
٣. البكتيريا الحلزونيةSpiral ٤
أشكال أخرى ٤
التركيب الداخلي للخلية ٥
حركة البكتيريا ٥
النمو في البكتيريا ٦
عملية التكاثر الخلوي ٦
بعض العوامل التي توثر في نشاط البكتريا: ٦
أطوار النمو: ٧
المعمل البكتريولوجي ٨
الأدوات المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية: ٩
التجهيز للمزارع البكتريولوجية ٩
أولا غسيل وتعقيم الأدوات الزجاجية ٩
طـرق التعقيم ١٠
التعقيم بواسطة الغليان: ١٠
التعقيم بواسطة الكحول: ١٠
التعقيم باستعمال الأوتوكلاف: ١٠
أنواع الأوساط الغذائية ١١
١. الأوساط الغذائية العامة (General Media): ١١
٢. الأوساط الغذائية العازلة (Isolation Media) ١١
٣. الأوساط الغذائية الاختيارية (Selective Media) ١١
طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية ١٢
١. الطرق العامة ١٢
طريقة تحضير محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer ١٣
الماءالمستخدم فى تحضير الأوساط الغذائية ١٤
أ. الخصائص: ١٤
وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة ٤° م: ١٥
الفترة ودرجة الحرارة للتعقيم بالاوتوكلاف: ١٥
شروط المياه المقطرة المستخدمة لاختبارات الميكروبيولوجي: ١٦
الاختبارات البكتريولوجية ١٦
تجهيز المياه المستخدمة في تخفيف العينات ١٦
العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباقPlate count Bactria ١٧

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria ١٨
أدلة التلوث في مياه الشرب ١٩
بكتريا المجموعة القولونية Coliform group ١٩
الأسباب التي دعت لاختيار المجموعة القولونية كدليل للكشف عن التلوث: ٢٠
طريقة الأنابيب المتعددة ٢٠
حساب وتسجيل العدد الأكثر احتمالا Computing and Recording of MPN ٢١
طريقة غشاء الترشيح (MF) Membrane Filter: ٢٢
الأدوات والكيماويات المستخدمة في الترشيح الغشائي ٢٣
طريقة تحضير محلول الوسط الغذائى M-Endo Culture Media ٢٤
الفحص البيولوجي Biological investigation ٢٥
أهمية عد الطحالب والتعرف على أنواعها ٢٥
تجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي Microscopically examination ٢٨

التحاليل الميكروبيولوجية في مياه الشرب والصرف الصحي

مقدمة

- حوالى ٢,٢ مليون من البشر يموتون كل عام من أمراض مرتبطة بأسباب صحية مثل الاسهال، معظم هؤلاء من أطفال الدول النامية.
- الصحة، النظافة، الامداد بالمياه أثبت أن لها دورها في التحكم في هذه الأمراض. ولقد اتضح أن الامداد بالمياه الآمنة والوسائل الصحية خطوة أساسية لخفض الاصابة بهذه الأمراض.
- وعلى الرغم من ذلك فان الامداد بمصدر جيد للمياه وتوفير الوسائل الصحية الأساسية ظل أمرا محيرا. والامداد بمياه شرب مقبولة من حيث الصفات المكروبيولوجية مع خفض مخاطر الاصابة بالأمراض المعدية يحتاج الى عناصر أساسية تتضمنها خطة المياه الآمنة.
- وفي أي خطة مياه آمنه فان التركيز يقع على التحكم والكشف عن التلوث البرازي لمياه الشرب وكذلك مصادره.
- والطرق المعتادة في قياس التلوث البرازي تعتمد على بكتريا أو مجموعة من البكتريا يعتد بها كدليل على التلوث البرازي.
- وقياس أي مؤشر بكتيري للتلوث البرازي يحتاج الى شخص متدرب، بيئات ومواد أخرى مدعمة وكذلك امكانيات تتوافر فقط في معمل الميكروبيولوجي أو استعمال وسائل للتحليل الميكروبيولوجي في الحقل.
- وتهدف هذه الدورة الى توجيه النظر إلى التعريف بالبكتريا عامة والعوامل المؤثرة في نموها وكذلك تسليط الضوء على معامل الميكروبيولوجي وطرق الاختبار لتحديد جودة مياه الشرب من حيث الصفات البيولوجية.

البكتيريا

أولا الصفات المظهرية للخلية البكتيرية (المورفولوجية)

- معظم الخلايا البكتيريا ٢- ٥ × ١,٥ نانوميتر

شكل وتجمع الخلايا البكتيرية

١. البكتيريا المستديرة Spheres

- Cocci ومفردهاcoccus وكثير من البكتيريا لها نظم تجمع لها أهميتها في أغراض التعرف عليها
- أزواج Diplococcus
- سلسة (سبحية) Streptococcus
- مجاميع Tetrads
- عناقيد غير منتظمة تشبه عنقود العنب Staphylococcus

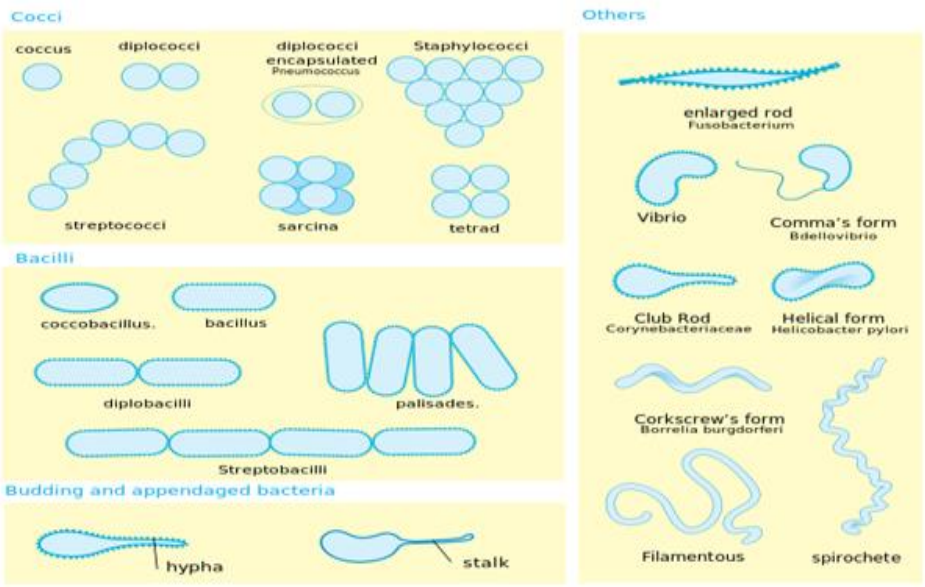
- أو في تركيب ذو ثلاثة أبعاد (مكعبات مكونة من ٨ خلايا او اكثر) Sarcina

٢. البكتيريا العصوية rod like

- تشبه العصا يطلق عليها Bacilli ومفردها Bacillus
- عادة لا تنتظم الخلايا العصوية في تجمعات مميزة لأجناسها كما يحدث في البكتيريا المستديرة ولكن أحيانا تشاهد في أزواج ويطلق عليها Diplobacilli أو في سلاسل Streptobacilli. منها شديد الطول ومنها طولها أطول قليلا من عرضها
- بعض البكتيريا العصوية قد تتحول إلى أطوار مقاومة للحرارة تعرف بالجراثيم الداخلية Endospores كما في الجنس Bacillus or Colstridium

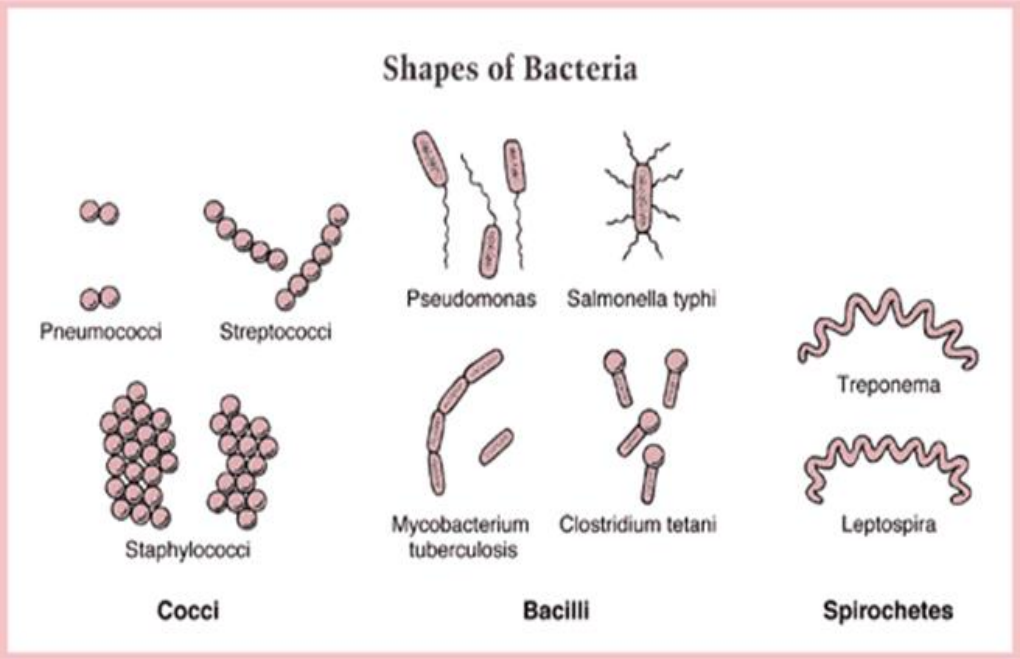
٣. البكتيريا الحلزونية Spiral

- عاده لا تتجمع خلايا البكتيريا الحلزونية ببعضها بل توجد مفردة دائما. ولكن لها أشكال مختلفة من حيث الطول.

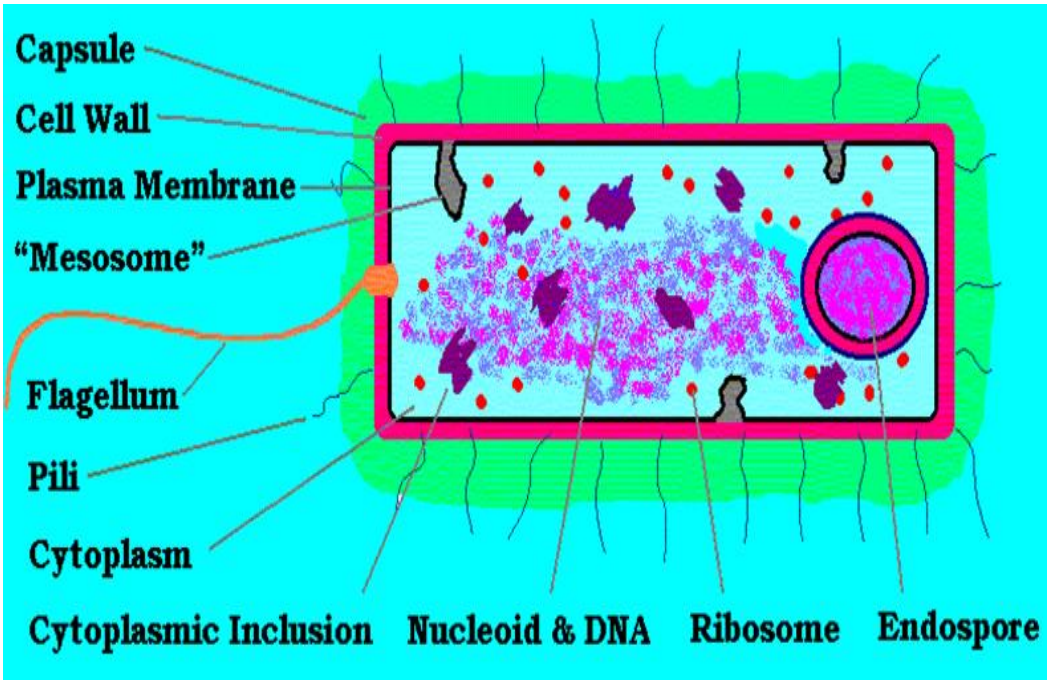


أشكال أخرى

- ابلسبيروكيتات Spirochaetes: خلايا مرنة طويلة ذات مظهر حلزوني متحركة بدون اسواط.
- الاكتينوميسيتات Actinomycetes شبة الفطريات. تتميز بتكوين خيط أو هيفات.
- الكوريني بكتيرات Coryne bacteria ضمت إلى الاكتينوميسيتات وهي عصويات مستقيمة أو منحنية قليلا.
- الميكوبكتيرات Myco bacteri
- البكتيرات الهلامية.



التركيب الداخلي للخلية



حركة البكتيريا

- الانزلاق gliding movement كما في البكتيريا الهلامية أو حركة دودية flexion movement
- معظم البكتيريا المتحركة تملك أعضاء دقيقة طويلة يطلق عليها الاسواط Flagella ومفردها Flagellum وهي خطوط دقيقة جدا من البروتين.

يوجد توزعين أساسيين للأسواط ويصنف على أساسهما البكتيريا:

١. عند طرف أو طرفي الخلية.

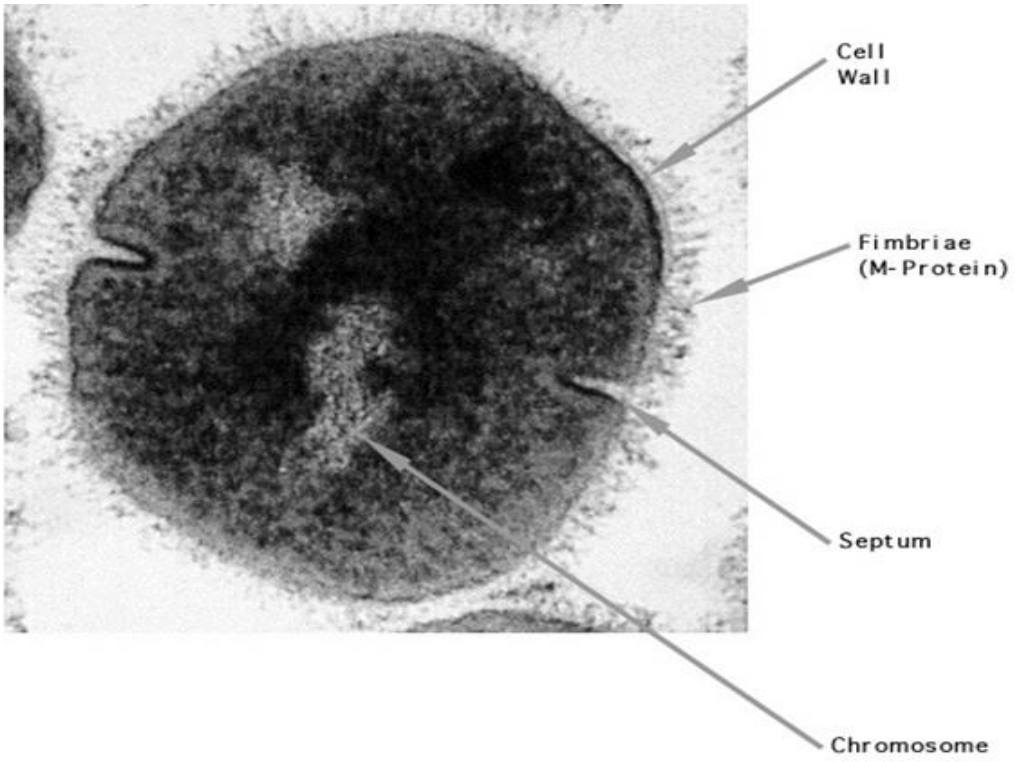
٢. توجد اسواط موزعة عند عدة نقط على امتداد جسم الخلية.

النمو في البكتيريا

هو الزيادة في تعداد الخلايا عن القدر الذي بدأت به المزرعة والذي كان موجودا باللقاح الأصلي.

عملية التكاثر الخلوي

إن نمو وانقسام الخلايا البكتيرية يمثل عملية دورية cyclical فكل خلية جديدة تتكون تصبح بدورها ذات قدرة على التكاثر. بمعنى أن الخلايا الجديدة الناتجة عن الانقسام تمتلك الخصائص الفسيولوجية التي كانت تميز آباءها القادرة على التكاثر.



بعض العوامل التي توثر في نشاط البكتريا:

١. الغذاء

- الغذاء هو مصدر الطاقة التي يستغلها الكائن الحي في أداء وظائفه الحيوية ونشاط البكتيريا يزداد بطبيعة الحال متى توافر الغذاء اللازم لها والعكس صحيح.

٢. الأكسجين

- يزيد نشاط البكتريا الهوائية بزيادة نسبة الأكسجين في الهواء إلى حد معين أما البكتيريا غير الهوائية فان زيادة الأكسجين يحد من نشاطها حتى يؤدى إلى قتلها في حين أن انعدام الأكسجين كلية يزيد من نشاطها.

٣. الرطوبة

- الرطوبة ضرورية لنمو البكتيريا، ذلك أن خلاياها الحية لابد لها أن تستمد غذائها من وسط سائل مذاب فيه فإن قلت الرطوبة لحد كبير في الوسط الذي تعيش فيه البكتيريا فإن نشاطها يقل حتى إذا ما حدث الجفاف فإن البكتريا (غير المتجرثمة) لا يمكنها إن تواصل الحياة لأكثر من ساعات قليلة.

٤. درجة الحرارة

- توجد درجة حرارة مثلي لنمو البكتيريا ودرجة حرارة دنيا وقصوى وبصفة عامة فإن أغلب الخلايا البكتيرية (غير المتجرثمة) تموت في درجة حرارة (55°C) إما البكتيريا المتجرثمة فإنها تقاوم الحرارة العالية حتى أنه يمكنها إن تظل حية في بعض الأحيان إذا وضعت في ماء يغلي لعدة ساعات.

٥. الضوء

- أغلب أنواع البكتيريا تنشط إذا قل الضوء والعكس صحيح فيما عدا البكتيريا اليخضورية فإن نشاطها يزداد إذا ما زادت شدة الإضاءة كما أن بعض الأنواع من الأشعة تؤثر في نشاط البكتيريا وفي حيويتها فقد دلت التجارب على أن الأشعة فوق البنفسجية ذات أثر فعال في قتل البكتريا.

٦. الأس الهيدروجيني

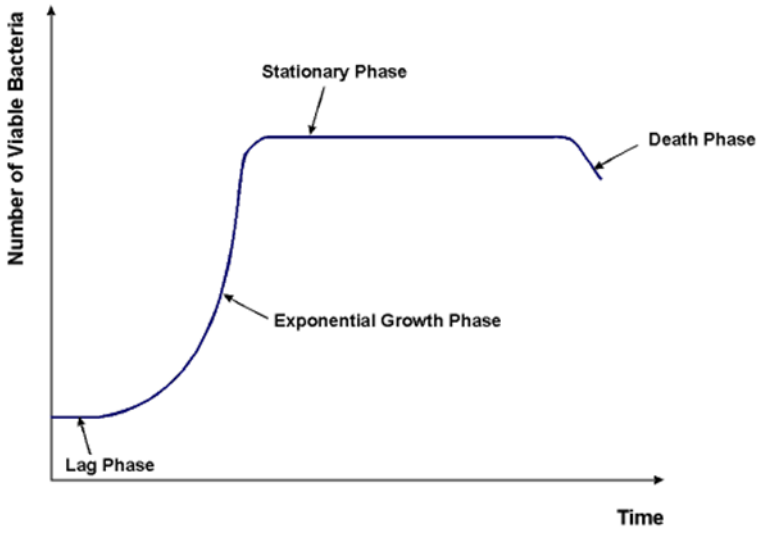
- لكل نوع من البكتيريا مدى معين من الأس الهيدروجيني تعيش فيه واختلاف هذا المدى يؤثر في نموها ونشاطها. فعلى سبيل المثال يمكن شرب كوب من الماء ملوث ببكتريا الكوليرا عند اضافة الليمون إليه.

٧. الضغط الأسموزي

- إذا ارتفع الضغط الأسموزي للوسط الذي تعيش فيه البكتيريا مثل البحار فإن عددا قليلا من أنواع البكتيريا هو الذي يستطيع مقاومة تلك الضغوط الأسموزية العالية وتواصل نشاطها أما أغلب البكتريا فإن نموها يقل أو يتوقف.

أطوار النمو:

١. طور الركود Lag phase
٢. طور النمو اللوغارتمي Log phase
٣. الطور الثابت Stationary phase
٤. طور تناقص النمو أو طور الموت The phase of decline or death



المعمل البكتريولوجي

الأجهزة المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية:

١. حضانة كهربائية للمزارع البكتيرية.
٢. أوتوكلاف رأسي للتعقيم ولتسييح الاجار وإعدام المزارع البكتيرية بعد إجراء الاختبار.
٣. فرن تعقيم.
٤. ميزان حساس برقميين عشريين.
٥. ثلاجة لحفظ المزارع البكتيرية.
٦. جهاز ترشيح غشائي.

ميزان حساس

أوتوكلاف رأسي

حضانة كهربائية

الأدوات المستخدمة في الاختبارات البكتريولوجية:

١. ماصات مدرجة بأحجام مختلفة.
٢. زجاجات جمع العينات سعه٢٥٠ مل بغطاء قلاووظ محكم.
٣. أطباق بتري من الزجاج أو البلاستيك الذي يستخدم للمرة الواحدة.
٤. أنابيب زجاجية بغطاء قلاووظ مقاس ١٦×١٦٠مم وبها دراهم زجاجيه (أنابيب تخمر).
٥. حاوية للماصات من الاستليس ستيل.

التجهيز للمزارع البكتريولوجية

كيفيه تجهيز وتعقيم الأدوات المستخدمة في الزرع البكتريولوجي:

أولا غسيل وتعقيم الأدوات الزجاجية

- تغسل الزجاجيات جيدا بالماء الدافئ والصابون.
- يعاد غسيلها مره أخرى بالماء الدافئ فقط للتخلص من أثار الصابون.
- تغسل بالماء المقطر جيدا.
- زجاجات العينات تغسل بالطريقة السابقة ويوضع في كل زجاجة (حجم ١٢٠ مل) ٠,١ مل من محلول ٣% ثيوكبريتات الصوديوم السابق تجهيزه لمعادله الكلور الحر المتبقي الموجود بالعينة وتغطى الزجاجة بالغطاء المخصص لها مع عدم احكام غلق الغطاء.
- تعقم الأدوات الزجاجية في فرن التعقيم عند درجه حراره ١٧٠°م لمده لا تقل عن ساعة كاملة.
- بعد التعقيم يحكم غلق الزجاجات جيدا وتحفظ مغلقه لحين ملئها بالعينة.

- الماصات الزجاجية واطباق بترى المصنوعة من الزجاج توضع في حاويات من الاستليس ستيل يتم تعقيمها لمده لا تقل عن ساعتين وعند درجه حراره ١٧٠°م وفي حالة وضعهم بدون الحاوية يكون الزمن الازم للتعقيم ساعة واحدة عند نفس درجه الحرارة.

طـرق التعقيم

كلمة (تعقيم) تعني قتل جميع الجراثيم وفي عمليات الفحص البكتيريولوجي يلزم تعقيم جميع الأدوات والمحاليل قبل القيام بأي تحليل للعينات ومن الأجهزة الأكثر استعمالا في المعامل هي الأوتوكلاف حيث يتم التعقيم بواسطة الحرارة والبخار المضغوط هذا بالإضافة إلى أجهزة تعقيم بالأشعة فوق البنفسجية أو بواسطة الإشعاع.

التعقيم بواسطة الغليان:

يمكن تعقيم الأدوات قبل استعمالها بغمرها في ماء مغلي لمدة ١٠ دقائق وعقب استخراجها من الماء المغلي تغلف في رقائق الألمنيوم الذي تم حرقة في النار ويتم استخدام مثل هذه الأدوات بعد تبريدها.

التعقيم بواسطة الكحول:

يمكن التعقيم بواسطة كحول الإيثيل بتركيز ٧٠%.

التعقيم باستعمال الأوتوكلاف:

يستعمل جهاز الأوتوكلاف في التعقيم بواسطة الحرارة الرطبة تحت الضغط، وقبل استخدام جهاز الأوتوكلاف يمكن قتل جميع الكائنات الحية في درجة حرارة ١٢١ْ م تحت درجة ضغط ١٥ رطل على البوصة المربعة في مدة ١٥ دقيقة ومن المهم ضرورة الالتزام بتعليمات طرق التعقيم حتى لا تعرض بعض محاليل المستنبطات إلى التحليل وبالأخص البكتيريا مثل اللكتوز في درجات الحرارة العالية أو طول مدة التسخين. وتتلخص طريقة عمل الأوتوكلاف فيما يلي:

- سخن الماء ليعطي بخار.
- يطرد بخار الهواء إلى الخارج.
- تغلق فتحة خروج البخار عند تمام طرد الهواء.
- ارتفاع الحرارة يرفع الضغط إلى ١٥ رطل على البوصة المربعة وعند هذا الضغط تصبح درجة حرارة البخار ١٢١ °م.
- يحافظ على الضغط والحرارة لمدة من الزمن المحدد وبعد ذلك يبدأ في تصريف البخار ببطيء حتى تصل إلى الضغط الجوي ومن المهم أن نوضح هنا أن التصريف السريع للبخار يسبب غليان السوائل.

- ترفع المواد المعقمة وتترك لتبرد.

ملحوظة:

يجب ملاحظة أن جميع الأوعية الزجاجية والأدوات التي سيتم تعقيمها تكون ملفوفة في ورق كرافت وأن لا تكون الأغطية على الزجاجات التي تحتوي محاليل محكمة الغلق بل يجب تركها مغطاة بغير إحكام ولا يستعمل إطلاقا أي سدادات من المطاط.

أنواع الأوساط الغذائية

يتم تصنيف الأوساط الغذائية علي حسب الأغراض التي يتم الزرع لها

١. الأوساط الغذائية العامة (General Media):

وتسمى أيضا بالأوساط الغذائية الأساسية (Minimal Media) حيث يتم عليها تنمية لجميع أنواع البكتيريا وهي عبارة عن خليط من أنواع السكر المختلف (مصدر للكربون والطاقة) والبروتين (مصدر للنيتروجين) والأملاح ومن أمثالها Nutrient Agar

٢. الأوساط الغذائية العازلة (Isolation Media)

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوع واحد أو مجموعة واحدة من البكتيريا عليها دون السماح للأنواع الأخرى بالنمو وذلك عن طريق اختيار نوع واحد من السكر والبروتين والأملاح لا يستطيع أي نوع أخر من البكتيري أن يخمرها (Fermentation) ومنها Brilliant Green و E.C. Media و Lauryl Tryptose

٣. الأوساط الغذائية الاختيارية (Selective Media)

وهي أوساط غذائية يتم تنمية نوعان أو اكثر من البكتيريا لإجراء بعض التجارب أو المقارنات بينها.

طرق تحضير وحفظ الأوساط الغذائية

١. الطرق العامة

أ. تخزين الأوساط الغذائية:

يجب تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في العبوات الخاصة بحيث تكون مغلقة جيدا لمنع تسرب الرطوبة إليها مما ينتج عنه تغيرات كيمائية وفيزيائية غير مرغوبة (تغير اللون والشكل).

١. تخزين الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" في درجة حرارة اقل من ٣٠ درجة مئوية ومكان مظلم جاف.
٢. لا يمكن استخدام الأوساط الغذائية الخالية من الماء "البودرة" عند تغير لونها أو تصبح كتل " تحجر" أو عندما تفقد خاصيتها.
٣. يجب أن تستهلك العبوة في خلال ٦اشهر من تاريخ فتح العبوة.
٤. تحضر الأوساط الغذائية الكافية لأسبوع "أسبوعيا"
٥. إذا حفظت الأوساط المغذية المجهزة في زجاجات مغلقة جيدا بغطاء قلاووظ يمكن أن تصل صلاحية استعمالها حتى ٣ شهور من تاريخ التحضير.
٦. احفظ الأوساط المغذية المحضرة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر والتلوث والتبخير الشديد
٧. الأوساط الغذائية السائلة تخزن في الثلاجة أو في درجات حرارة منخفضة .
٨. يجب حفظ أنابيب الأوساط الغذائية على الأقل ليلة في الثلاجة قبل استخدامها لتجنب تكوين فقاعات هواء داخل الأنابيب.
٩. عند بدء استعمال الأنابيب يجب استبعاد الأنابيب الموجود بداخلها فقاعات هواء.

١٠. عند حدوث تبخير للوسط الغذائي السائل الموجود داخل الأنابيب اكثر من (١ مل) تستبعد الأنبوبة.

ب. ضبط تفاعل التحضير:

١. عن طريق قياس pH للوسط الغذائي.
٢. عادة ما يحدث تغير طفيف في pH الوسط الغذائي بعد التعقيم حسب نوع جهاز التعقيم المستخدم .
٣. عند تحضير الأوساط الغذائية يكون التغير في pH عادة ±٠,١ أو± ٠,٢ لكن قليلا ما تكون ± ٠,٣ كما يحدث في الأوساط مزدوجة القوة.
٤. يمكن اختبار pH للأوساط الغذائية بواسطة جهاز الـ pH .
٥. عند خروج معدل التغير في الـ pH عن المكتوب على العبوة الخاصة بالوسط الغذائي لا يمكن استخدام هذا الوسط الغذائي .

طريقة تحضير محلول الفوسفات المنظم Phosphate Buffer

يستعمل هذا المحلول في غسل غشاء الترشيح عدة مرات بعد تمام عملية ترشيح العينة وكذلك يستعمل في عمل التخفيف الملائم للعينات عند اللزوم ويمكن تحضيره كما يلي:

- **محلول رقم (١):**

قم بتذويب ٣٤ جرام من ثنائي فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4) Potassium Dehydrogenate Phosphate في ٥٠٠ ملليلتر ماء مقطر ثم اضبط الرقم الهيدروجيني إلى ٧,٢ وبعد ذلك أكمل حجم المحلول إلى ١ لتر بواسطة إضافة كمية من الماء المقطر – ضع هذا المحلول في الثلاجة وعند إعادة استخدامه لاحظ وجود أي عكارة، وفي حالة وجود العكارة لا يستعمل.

- **محلول رقم (٢):**

قم بتذويب ٣٨ جرام من كلوريد الماغنسيوم اللامائي أو ٨١,٤ جرام من كلوريد الماغنسيوم المائي في لتر من الماء المقطر.

ج. التعقيم:

١. لا يتم تخزين الأوساط الغذائية بعد حلها في الماء بدون تعقيم .
٢. لا يتم تعقيم الأوساط الغذائية السائلة الموجود بها أحد أنواع السكر مع غيرها
٣. تعقم الأوساط الغذائية السائلة في الأوتوكلاف عند درجة حرارة 121°م لمدة ١٥ دقيقة.
٤. عند انتهاء التعقيم وانخفاض الضغط (عندما يصل إلى صفر) يتم تبريد الأوساط الغذائية بسرعة حتى لا يحدث تكسير لمركبات السكر الموجودة بها بتعريضها إلى درجة حرارة مرتفعة لفترة طويلة.

٥. من اجل الحصول على توزيع جيد لدرجة الحرارة في حالة تعقيم الأوساط الغذائية وأيضا لسهولة تبريدها بعد إتمام عملية التعقيم توزع الأوساط الغذائية في زجاجات صغيرة (يفضل ١٠ مل) وأيضا لا تربط غطاء الزجاجات بشدة .

٦. أقصى مده لمكوث الأوساط الغذائية السائلة بتعقيمها في الأوتوكلاف ٤٥ دقيقة (من بدء تشغيل الجهاز حتى إخراج الأوساط منه)

الماءالمستخدم فى تحضير الأوساط الغذائية

أ. الخصائص:

١. لتحضير الأوساط الغذائية والكواشف يستخدم ماء مقطر أوDemineralized water الذى يتم اختباره للتأكد من خلوه من آثار المعادن والمواد القاتلة المثبطة للبكتيريا.

٢. Toxicity في الماء المقطر ربما يحدث نتيجة لاحتواء الماء على فلوريد مع وجود نسبة مرتفعة من السيليكا.

٣. المصادر الأخرى للـToxicity هي الفضة والرصاص والمركبات العضوية غير المحددة .

٤. الكلور الحر والكلورامينات يمكن ان تتواجد في الماء المقطر .

٥. في حالة وجود مركبات الكلور في الماء المقطر يمكن معادلته بواسطة Sodium thiosulfate OR Sodium sulfate

٦. الماء المقطر يجب ان يكون خالي من التلوث بالمواد المغذية للبكتيريا التي يمكن ان تحدث من Flashover of organics أثناء التقطير ويمكن التغلب عليها باستخدام وسادة من الفلتر الكربوني أو إعادة شحن عمود إزالة الأيونات.

٧. يمكن أن يحدث تلوث عن طريق استخدام زجاجات أو ماصات غير نظيفة أو بواسطة الأبخرة الكيميائية أو الغبار.

٨. تخزن المياه المقطرة بعيدا عن ضوء الشمس المباشر لكي يتجنب نمو الطحالب.

٩. يجب غلق زجاجات المياه المقطرة جيدا وسريعا.

وقت حفظ الأوساط الغذائية المحضرة وعينات البكتريولوجي عند درجة حرارة ٤° م:

الوسط	مدة التخزين
ترشيح عشائي سائل في دورق بغطاء قلاووظ	٩٦ ساعة (٤ أيام)
ترشيح عشائي صلب في أطباق جيدة الغلق	أسبوعان
سائل أو صلب في أنابيب غير محكمة الغلق	أسبوعان
صلب أو سائل في أنابيب أو حاويات جيدة الغلق	٣ شهور
صلب في أطباق غير محكمة الغلق مغلفة بأكياس بلاستك	أسبوعان
عينات البكتريولوجي	٢٤ ساعة

الفترة ودرجة الحرارة للتعقيم بالاوتوكلاف:

المادة	الفترة عند ١٢١ م°
الوسط المحتوى على كربوهيدرات (لوريل تربتوز – بريلينت جرين)	١٢–١٥ دقيقة
زجاجات العينات (فارغة)	١٥ دقيقة
حرق الأوساط المستخدمة والمخلفات	٣٠ دقيقة
مياه التخفيف ٩٩ مل في زجاجة بغطاء قلاووظ	١٥ دقيقة

ملحوظة:

– مع اتباع تعليمات الشركة المصنعة.

– لا يتم ترك الأوساط الغذائية في الأوتوكلاف اكثر من ٤٥ دقيقة.

شروط المياه المقطرة المستخدمة لاختبارات الميكروبيولوجي:

الاختبار	الفترة	أقصى حد مسموح
الاختبارات الكيميائية		
التوصيل	عند كل استخدام	< ٠,٠٥ ميكروسيمينز
pH	كل استخدام	٥,٥ – ٧,٥
المواد العضوية الكلية	شهريا	<١ ملليجرام / لتر
المعادن الثقيلة (Cu–Cr–Cd–Zn–Pb–Ni)	سنويا	< ٠,٠٥ ملليجرام / لتر
المعادن الثقيلة مجمعة	سنويا	< ٠,١ ملليجرام / لتر
الامونيا– النيتروجين العضوي	شهريا	< ٠,١ ملليجرام / لتر
الكلور المتبقي	عند كل استخدام	٠,١ ملليجرام / لتر
الاختبارات البكتريولوجية		
العد الطبقي	شهريا	<١٠٠٠ خلية/ مل

ملحوظة:

– يتم تعقيم الماء المقطر قبل استخدامه في التحاليل البكتريولوجية.

– تخزن المياه المقطرة في زجاجات محكمة الغلق في مكان مظلم لمنع نمو الطحالب بها.

– يضاف كمية كافية من ثيوسلفات الصوديوم في حالة وجود بقايا للكلور لإزالة تأثيره.

الاختبارات البكتريولوجية

تجهيز المياه المستخدمة في تخفيف العينات

المواد المستخدمة:

١. فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية (KH_2PO_4)
٢. كلوريد الماغنسيوم ($MgCl_2.6H_2O$)
٣. ماء مقطر سبق تعقيمه
٤. محلول ١ عيارى من هيدروكسيد الصوديوم.

الأدوات المستخدمة:

١. ٢ كأس زجاجي سعه لتر
٢. ٣ دورق عياري سعه لتر
٣. ماصه مدرجه ٥ مل و٢ مل
٤. ١٠٠ أنبوبه زجاجيه بغطاء قلاووظ

خطوات إجراء التجهيز:

١. زن في الكأس الزجاجي على ميزان برقمين عشريين ٣٤ جم من فوسفات البوتاسيوم الهيدروجينية.
٢. أذب الوزنة السابقة في ٥٠٠ مل من الماء المقطر السابق تعقيمه.
٣. اضبط الاس الهيدروجيني للمحلول السابق بحيث يكون٠,٥±٧,٢ بواسطه محلول هيدروكسيد الصوديوم.
٤. قم بوضع المحلول السابق في دورق عياري وأكمل الحجم الى لتر بالماء المعقم.
٥. حضر محلول كلوريد الماغنسيوم بوزن ٨١,١ جم من كلوريد الماغنسيوم وأذب الوزنة السابقة في قليل من الماء المعقم وأنقل المحلول السابق الى دورق عياري ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء السابق تعقيمه.
٦. خذ ١,٢٥ مل من محلول الفوسفات المركز باستخدام الماصة ٢ مل وضعه في الدورق العياري وضع عليه ٥ مل من محلول كلوريد الماغنسيوم السابق باستخدام ماصه ٥ مل ثم اكمل الحجم الى لتر بالماء المقطر السابق تعقيمه.
٧. يتم تعبأة المحلول السابق في الأنابيب الزجاجية بحيث تحتوى كل أنبوبه على ٩ مل من المحلول السابق وتحكم غلقها بالغطاء القلاووظ .
٨. يتم تعقيم الأنابيب السابقة في الاوتوكلاف لمده ١٥ دقيقه عند درجه حراره ١٢١ ْم

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria

- العد الكلى للبكتريا لا يمثل كل البكتريا الموجودة بالمياه ولكنه يمثل فقط البكتريا التي تستطيع النمو على الوسط الموجود بالأطباق تحت الظروف المعملية من درجة الحرارة والمدة التي تركت فيها الأطباق داخل الحضانات.
- تستخدم هذه الطريقة لتقييم المحتوى البكتيري للمياه بصفة عامة.
- العد الكلى للبكتريا يتم في درجة حرارة ٢٢ °م لتحديد العد الكلى للبكتريا الموجودة بصورة طبيعية في المياه وليس لها علاقة بالتلوث الآدمي " البراز."

- أما العد الكلى للبكتريا في درجة حرارة ٣٧ °م يحدد العد الكلى للبكتريا الناتجة من تلوث المياه بالمواد البرازية الآدمية أو من الحيوانات Warm – blooded.
- العد البكتيري عند درجة حرارة ٢٢ °م ليس له أهمية من الوجهة الصحية ولكنه هام في تقييم كفاءة المياه وخاصة خطوات الترويق والترسيب والترشيح والتعقيم حيث أن الهدف هو التخلص من جميع البكتريا إلى أقل عدد ممكن.
- وكذلك يفيد العد الكلى عند درجة ٢٢ °م في تقييم نظافة وسلامة شبكة توزيع المياه وملائمة المياه في تصنيع الأطعمة والمشروبات حيث أن زيادة العد البكتيري في المياه يساعد على فساد الأطعمة والمشروبات.
- أية زيادة في العد البكتيري عند درجة ٣٧ °م بالمقارنة بالنتائج السابقة يعتبر إشارة أو إنذار مبكر لبدء تلوث المياه.
- عند درجة٢٢ °م لمدة ٤٨ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم^{٣}
- عند درجة٣٧ °م لمدة ٢٤ ساعة لا يزيد العد الكلى للبكتريا عن ٥٠ خلية / ١سم^{٣}

العد الكلى للبكتريا بطريقة الصب بالأطباق Plate count Bactria

خطوات إجراء التجهيز:

١. يعقم البنش جيدا بقطنه مبلله بمحلول مطهر مثل الديتول او السافلون.
٢. قم بإسالة الآجار المحضر في حمام مائي بحيث لا تزيد درجه الحرارة عن ٤٥– ٤٦ °م.
٣. جهز أطباق بترى بعدد العينات المراد زرعها.
٤. باستخدام ماصة ١ مل معقمة ضع في كل طبق ١ مل من العينات المراد زرعها.
٥. صب ٩ مل من الآجار السائل في الطبق البتري وقم بتحريك الطبق.
٦. يترك الطبق قليلا حتى يبرد الآجار به بحيث لا يزيد الوقت عن ٢٠ دقيقه بين صب العينة وصب الآجار.
٧. اكتب مصدر العينة بالقلم الفلومستر على غطاء الطبق.
٨. حضن الأطباق المزروعة في الحضانة عند درجة حرارة ٣٧ °م لمده ٢٤ ساعة مع مراعاة أن توضع الأطباق مقلوبة في الحضانة (الغطاء الى اسفل).
٩. يراعى ألا يزيد الفقد في الرطوبة أثناء التحضين عن ١٥% ضع إسفنجة مبللة بالماء في الحضانة إذا لزم الأمر.
١٠. بعد ٢٤ ساعة من التحضين تعد الأطباق على عداد بكتيري

جهاز عد بكتيرى

Bacterial counter

أدلة التلوث في مياه الشرب

بكتريا المجموعة القولونية Coliform group

- تسبب المياه الحاملة لميكروبات مرضية مشاكل صحية خطيرة، إذ ينتقل عن طريق المياه، الميكروبات التي تسبب عدوى للجهاز المعوي، مثل بكتريا التيفود، والكوليرا، والدوسنتاريا وفيروسات شلل الأطفال، والالتهاب الكبدي الوبائي، وتوجد هذه المسببات المرضية، في بول وبراز المرضى وحاملي العدوى.
- الكشف عن الميكروبات المرضية بالماء، أمر بالغ الصعوبة للأسباب الأتية:
  - هذه الميكروبات قد توجد بأعداد قليلة، مما يجعل من الصعب عزلها في مزارع نقية.
  - الكشف عنها وتمييزها يتطلب عملاً ومجهودا كبيراً، ووقتاً طويلاً.
  - قد يحدث أثناء الكشف عنها خطر على العاملين.
  - فنلجأ للكشف عن الميكروبات المرضية، بطريقة غير مباشرة.

من المعروف، أن أمعاء الإنسان، والحيوانات ذات الدم الحار، تحتوي على أعداد كبيرة من البكتريا، أغلبها من النوع غير الضار، ومن هذه البكتريا، بكتريا المجموعة القولونية.

فوجود بكتريا المجموعة القولونية في ماء الشرب، يؤخذ كدليل على تلوث هذه المياه، بمياه المجاري، إذ تعتبر هذه البكتريا كاشفات للتلوث، ويعني هذا، أن المياه التي يوجد بها كاشفات التلوث، يحتمل أن يوجد بها ميكروبات مرضية معوية، مثل التيفود، والكوليرا، والدوسنتاريا، والفيروسات المعوية، مثل المسببة لشلل الأطفال.

- وتتصف أفراد بكتريا المجموعة القولونية، بأنها، عصوية قصيرة غير متجرثمة، متحركة، اختيارية للهواء، تحلل سكر اللاكتوز وتنتج حامضاً وغاز عند درجة حرارة ٣٧ °م خلال ٢٤ ساعه.

الأسباب التي دعت لاختيار المجموعة القولونية كدليل للكشف عن التلوث:

١. الكشف عنها سهل.
٢. غير ممرضة، ولا تضر القائمين بالعمل.
٣. تعيش بالمياه لمدة أطول من الميكروبات المرضية.
٤. مصدرها برازي، وتوجد دائماً بالمياه الملوثة، مادامت البكتريا المرضية موجودة بها.

طريقة الأنابيب المتعددة

١. المرحلة الافتراضية Presumptive Phase

استعمل بيئة Lauryl tryptose broth في المرحلة الافتراضية لاختبار الأنابيب المتعددة. اذا كانت البيئة مبردة بعد التحضير والتعقيم، تترك على درجة حرارة الغرفة (٢٠ مئوية) خلال الليل وقبل الاستعمال. يتخلص من الانابيب التي يظهر بها نمو أو فقاعات أو كلاهما.

رتب الأنابيب في صفوف من ٥ أو ١٠ أنابيب في حامل أنابيب. عدد الصفوف وحجم العينة يعتمد على نوعية وخصائص المياه المختبرة لمياه الشرب استعمل ٥ أجزاء من العينة كل ٢٠ مل، ١٠ كل ١٠ مل، أو زجاجة واحدة ١٠٠ مل، وللمياه الغير مستعملة في الشرب استعمل ٥ أنابيب لكل تخفيف (١٠، ١، ١, مل أو غيرها).

حضن الأنابيب الملقحة أو الزجاجات عند ٣٥ °م. وبعد ٢٤ ساعة اختبر الأنابيب أو الزجاجات لوجود نمو، غاز، تفاعل حامضي (لون أصفر)، اذا لم يكن هناك غاز أو حامض، أعد التحضين، اعد الكشف في نهاية ٤٨ ساعة، سجل النتيجة.

٢. المرحلة التأكيدية Confirmed phase

كل الأنابيب الايجابية أو الزجاجات التي أعطت نتيجة ايجابية في المرحلة الافتراضية Presumptive phase (أية كمية من الغاز، عكارة، حامض) خلال ٢٤ساعة (أو قبل ذلك وينصح بالفحص بعد ١٨ ساعة للإيجابية) من التحضين يتم اجراء الاختبار التأكيدي.

هز برفق الأنابيب الايجابية من المرحلة الافتراضية (حامض وغاز) لتعليق النمو من الكائنات في الأنابيب. باستعمال لوب معقم (قطر فتحتها ٣ – ٣,٥ مم) انقل لوب واحدة أو أكثر من المزرعة من كل انبوبة ايجابية الى انبوبة بريلينت جرين.

حضن انابيب البريلينت جرين عند ٣٥ °م، تكون غاز في انبوبة درهام بعد فترة تحضين (من ٦ ساعة الى ٢٤ ساعة).

٣. المرحلة الكاملة أو النهائية Complete phase

يجرى هذا الاختبار كبيانات للتحكم في الجودة على ١٠% على الأقل من الانابيب الايجابية من المرحلة السابقة. يتم حقن انابيب بريلينت جرين لبكتريا القولون الكلية ومرق EC أو بيئة مرق EC with MUG (بكتريا E.coli) (كلاهما يتم التحضين عند ٤٤,٥ °م) والنتيجة الايجابية في الحالات الثلاث تدل على أن الاختبار النهائي إيجابي. وايجابية أنابيب البريلينت جرين فقط دل على الايجابية لبكتريا القولون الكلية.

حساب وتسجيل العدد الأكثر احتمالا Computing and Recording of MPN

لحساب كثافة بكتريا القولون يعبر عنها في صورة عدد أكثر احتمالا MPN. قيم العدد الأكثر احتمالا، لسلسلة من نتائج الزرع، تتضح في الجدول التالي.

وتلك الجداول تشتمل على ٩٥ % حدود ثقة Confidence limits لكل قيمة مقدرة من قيمة العدد الأكثر احتمالا المقدرة. اذا كان حجم العينة المستعملة من تلك الموجودة في الجداول، سجل النتيجة منسوبة الى عدد النتائج الايجابية والسلبية في السلاسل كعدد أكثر احتمالا / ١٠٠ مل أو سجل النتيجة كوجود أو غياب بكتريا القولون الكلية أو البرازية (P/A).

TABLE 9221.IV. MPN INDEX AND 95% CONFIDENCE LIMITS FOR VARIOUS COMBINATIONS OF POSITIVE RESULTS WHEN FIVE TUBES ARE USED PER DILUTION (10 mL, 1.0 mL, 0.1 mL)

Combination of Positives	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits		Combination of Positives	MPN Index/ 100 mL	95% Confidence Limits	
		Lower	Upper			Lower	Upper
				4-2-0	22	9.0	56
0-0-0	<2	—	—	4-2-1	26	12	65
0-0-1	2	1.0	10	4-3-0	27	12	67
0-1-0	2	1.0	10	4-3-1	33	15	77
0-2-0	4	1.0	13	4-4-0	34	16	80
				5-0-0	23	9.0	86
1-0-0	2	1.0	11	5-0-1	30	10	110
1-0-1	4	1.0	15	5-0-2	40	20	140
1-1-0	4	1.0	15	5-1-0	30	10	120
1-1-1	6	2.0	18	5-1-1	50	20	150
1-2-0	6	2.0	18	5-1-2	60	30	180
2-0-0	4	1.0	17	5-2-0	50	20	170
2-0-1	7	2.0	20	5-2-1	70	30	210
2-1-0	7	2.0	21	5-2-2	90	40	250
2-1-1	9	3.0	24	5-3-0	80	30	250
2-2-0	9	3.0	25	5-3-1	110	40	300
2-3-0	12	5.0	29	5-3-2	140	60	360
3-0-0	8	3.0	24	5-3-3	170	80	410
3-0-1	11	4.0	29	5-4-0	130	50	390
3-1-0	11	4.0	29	5-4-1	170	70	480
3-1-1	14	6.0	35	5-4-2	220	100	580
3-2-0	14	6.0	35	5-4-3	280	120	690
3-2-1	17	7.0	40	5-4-4	350	160	820
				5-5-0	240	100	940
4-0-0	13	5.0	38	5-5-1	300	100	1300
4-0-1	17	7.0	45	5-5-2	500	200	2000
4-1-0	17	7.0	46	5-5-3	900	300	2900
4-1-1	21	9.0	55	5-5-4	1600	600	5300
4-1-2	26	12	63	5-5-5	≥1600	—	—

طريقة غشاء الترشيح Membrane Filter (MF):

تتخلص الطريقة ببساطة في القيام بترشيح حجم معلوم من العينة على غشاء ترشيح قطره ٤٧ ملليمتر وثقوبه ٤٥ ميكرون وسطحه مقسم إلى مربعات وبعد تمام عملية الترشيح والغسيل عدة مرات ينقل الغشاء من قمع الترشيح إلى طبق بتري Petri Dish الذي يحتوي على مخدة من البلاستيك مثل الإسفنج مشبعة بمحلول الوسط الغذائى المخصص لكل نوع من البكتيريا لكي تنمو وتنتج مستعمرات مميزة لنوع البكتريا.

وللكشف عن البكتيريا القولونية Total Coliform يستعمل محلول الوسط الغذائى M Endo Culture Media ويوضع في حضانة على درجة حرارة ٠,٥ ±٣٥°م لمدة ٢٤ ساعة ± ساعتان. فإذا ظهرت مستعمرات من الكائنات الحية ذات لون أخضر ذهبي معدني لامع Golden Green Sheen فيدل ذلك على وجود البكتيريا القولونية.

الأدوات والكيماويات المستخدمة في الترشيح الغشائي

- جهاز التعقيم الأوتوكلاف Autoclave Sterilizer.
- حضانة Incubator يمكن ضبط حرارتها أوتوماتيكيا على درجات حرارة من ٣٥ إلى ٤٤°م.
- ميزان حساس Analytical Balance.
- جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH–Meter.
- مضخة تفريغ الهواء Vacuum Pump.
- كؤوس Beakers سعة ٥٠–١٠٠–١٠٠٠–٢٠٠٠ ملليلتر.
- مخبار Cylinder سعه ١٠٠ ملليلتر.
- دورق مخروطي بغطاء بلاستيك سعه ٢٥٠ ملليلتر.
- سخان كهربائي / محرك Stirrer Hot Plate.

الأدوات والكيماويات المستخدمة

- ماصة من ١ مل إلى ١٠ مل.
- زجاجات عينات.
- زجاجات تخفيف عينة.
- ملقاط من الحديد الغير قابل للصدأ Stainless Steel Forceps.
- دوارق الترشيح بالتفريغ مزودة بخرطوم التوصيل لمضخة التفريغ.
- قمع الترشيح بقاعدة قطرها ٤٧ ملليمتر.
- موقد بالكحول أو الغاز.

- ميكروسكوب للتكبير ١٠-٢٠ مرة.
- غشاء الترشيح Membrane Filter بقطر ٤٧ ملليمتر وثقوبه ٤٥ ميكرون.
- أطباق بتري Petri Dishes مزودة بوسادات إسفنجية Pads قطرها ٤٧ ملليمتر.
- محلول الوسط الغذائى M-Endo Culture Media حقن ٢ ملليلتر.
- محلول الاستنباط M-FC حقن ٢ ملليلتر
- حامض روزالك Rosalic Acid.
- ملح كلوريد الماغنسيوم $MgCl_2$.
- ملح ثيوكبريتات الصوديوم $Na_2S_2O_3$.
- هيدروكسيد الصوديوم NaOH.
- كحول الإيثانول.
- ماء مقطر.

يمكن شراء الأدوات مثل أطباق بتري والوسادات معقمة وجاهزة للعمل بالإضافة إلى محاليل الاستنباط معبأة في حقن ٢ ملليلتر وربما يكون شراءها ارخص في التكاليف عن تحضيرها في المعمل وتعقيمها.

طريقة تحضير محلول الوسط الغذائى M-Endo Culture Media

- زن ٤,٨ جرام من المسحوق.
- في مخبار مدرج سعه ١٠٠ ملليلتر أضف ٢ ملليلتر كحول الإيثيل المركز ٩٥% وأكمل بالماء المقطر إلى ١٠٠ ملليلتر.
- ضع حوالي ٢٠ ملليلتر من محلول الكحول المخفف في الكأس المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها ما تم وزنه من مسحوق م – إندو وابدأ في التحريك والرج.
- أضف الكمية الباقية بالمخبار المدرج من الكحول المخفف وامزج الخليط بشدة.
- ضع الكأس المخروطي ومحتوياته في حمام مائي مع مراعاة ترك الغطاء غير محكم الربط على الكأس وابدأ في رفع درجة الحرارة بدون السماح للمحلول بالغليان.
- استمر في التسخين لمدة تتراوح ما بين ٣-٥ دقيقة بدون السماح للمحلول بالغليان.
- ابدأ في التبريد لدرجة حرارة ٤٥°م وقس درجة الأس الهيدروجيني لتكون ٧,١-٧,٣.
- أضف ٢ ملليلتر من محلول الوسط الغذائى على المخدات الجاهزة داخل أطباق بتري.
- يمكن الاحتفاظ بالكمية الباقية من محلول الوسط الغذائى في ثلاجة مبردة لدرجة حرارة ٢-١٠°م ولمدة ٩٦ ساعة فقط.
- يستعمل هذا المحلول لاستنباط مستعمرات البكتيريا القولونية البرازية ويمكن تحضيره كما يلي:

- زن ٣,٧ جرام من مسحوق M-FC اللامائي M-FC Dehydrated Media.
- ضع ١٠٠ ملليلتر من الماء المقطر في الدورق المخروطي ذو السدادة البلاستيكية وأضف إليها وزنه المسحوق M-FC.
- في دورق آخر قم بإضافة ١٠٠ ملليلتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم قوة ٠,٠٢٠ عياري (١٠٠ ملليلتر ماء مقطر + ٠,٨ جرام من مسحوق هيدروكسيد الصوديوم) إلى ١ جرام حامض روزالك Rosalic Acid لتكوين حامض روزالك قوة ١%.
- أضف ١ ملليلتر من محلول حامض روزالك ١% إلى محلول M-FC.
- ابدأ بالتسخين لدرجة الغليان مع ترك غطاء الدورق مكشوف.
- ابدأ في تبريد المحلول لدرجة حرارة ٤٥°م واضبط درجة الأس الهيدروجيني ٧,٤.
- أضف ٢ ملليلتر من محلول الاستنباط على كل المخدات الجاهزة على كل الأطباق الجاهزة داخل أطباق بتري.
- يمكن الاحتفاظ بالكمية الباقية من محلول الاستنباط في ثلاجة مبردة ٢-١٠°م ولمدة ٩٦ ساعة فقط.

الفحص البيولوجي Biological investigation

- عند فحص المياه ميكروسكوبيا يجب أن تكون خالية تماما من البروتوزوا وجميع أطوار الديدان المسببة للأمراض والطحالب الزرقاء المخضر Blue green algae
- يستخدم الميكروسكوب العادي للبحث عن الكائنات الحية الدقيقة التي لا ترى بالعين المجردة سواء كانت نباتية أو حيوانه مثل الطحالب والبروتوزوا الحية.
- الطحالب هي كائنات دقيقة تحتوي علي الكلوروفيل(المادة الخضراء) وذات ألوان متعددة والطحالب ذاتية التغذية (تصنع غذاءها بنفسها) وحيدة الخلية أو مستعمرات (ثابتة أو متحركة) وتختلف أنواع الطحالب الموجودة في مياه النيل باختلاف درجات الحرارة.

أهمية عد الطحالب والتعرف على أنواعها

١. نظرا لما تسببه من رائحة وطعم غير مستساغ في المياه وهذه الروائح تختلف تبعا لكمية ونوع هذه الطحالب.
٢. تحدث متاعب كبيرة في عمليات التشغيل إذ تتسبب في سد مسام رمل المرشحات بسرعة تدعو إلى وقف تشغيل المرشحات في فترات متقاربة لغسلها وإعدادها للتشغيل مره أخرى.
٣. تستهلك كميات اكبر من الكلور.

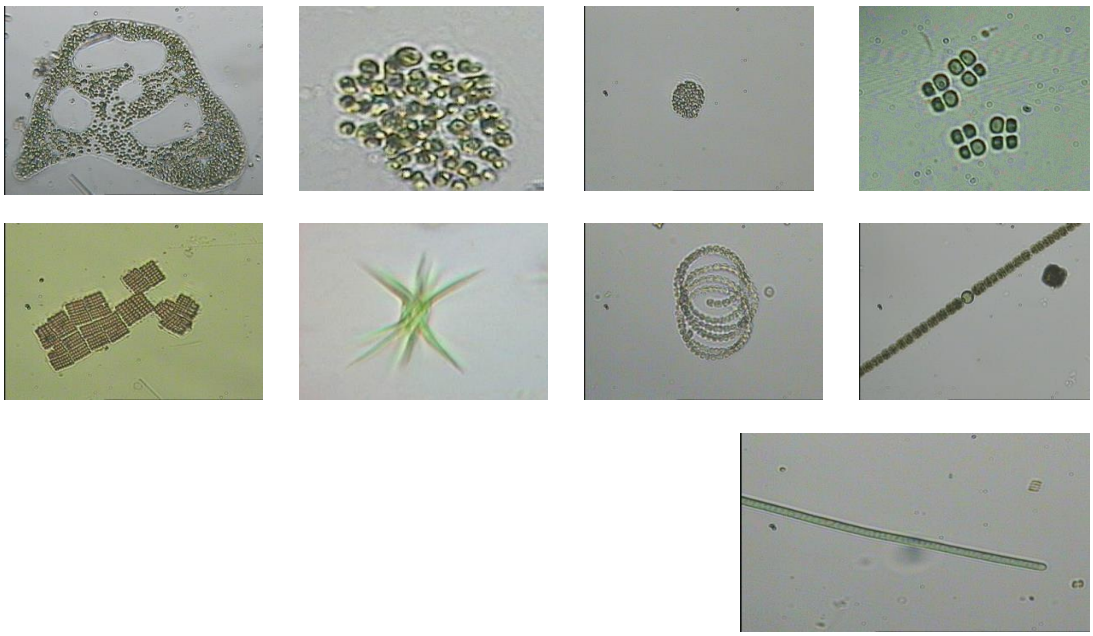
ولذلك يجب التخلص من اغلب الطحالب في عمليات الترويق لرفع كفاءة عمليه الترشيح.

وتصنف الطحالب إلى:

١. دياتومات.
٢. الطحالب الخضراء.
٣. الطحالب الخضراء المزرقه.

دياتومات Diatoms

الطحالب الخضراء المزرقة Blue green



الطحالب الخضراء Green

تجهيز العينات للفحص الميكروسكوبي Microscopically examination

الهدف من التجهيز:

تركيز العينة من مياه النيل والمروقات والمرشحات والخزنات والطرود والشبكة تمهيدا لفحصها تحت الميكروسكوب.

الأدوات والأجهزة المستخدمة:

١. جهاز الطرد المركزي (centrifuge)
٢. أنابيب زجاجيه شفافة مدوره من أسفل سعه ١٥ مل

جهاز الطرد المركزي

خطوات إجراء التجهيز:

١. تجلب العينات في زجاجات سعه لتر وتغطى بغطائها ثم ترج جيدا ثم تترك قليلا.
٢. يتم التخلص من الماء الموجود في الزجاجة مع مراعاة ترك حجم قدره حوالى ٢٠ مل في قاع الزجاجة.
٣. أملأ الأنبوبة الزجاجية بـ١٠ مل من العينة.
٤. ضع الأنابيب الزجاجية في الأماكن المخصصة لها في الجهاز بحيث لا يقل عدد الانابيب عن عدد الأماكن وإذا كانت عدد العينات أقل يتم وضع أنابيب بها ماء مقطر للمحافظة على اتزان الجهاز أثناء دوان الحلة الداخلية للجهاز.
٥. شغل الجهاز على سرعة RCF=1000g ولمدة ٢٠ دقيقة
٦. بعد انتهاء وقت التشغيل افتح غطاء الجهاز وتخلص من محتويات الأنبوبة بحيث لا يتبقى بها إلا جزء قليل جدا من العينة في أسفلها (تمثل نقطة واحدة عند وضعها على الشريحة)
٧. ضع الأنابيب الزجاجية في حامل معد للأنابيب بجوار جهاز الميكروسكوب.

المراجع

- **تم الإعداد بمشاركة المشروع الألماني GIZ**
- **و مشاركة السادة :-**

➢ د/ سناء أحمد الإله	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالفيوم
➢ د/ شعبان محمد على	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالفيوم
➢ د/ حمدى عطيه مشالى	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالغربية
➢ د/ سعيد أحمد عباس	شركة مياه الشرب والصرف الصحى بالغربية
➢ د/ عبدالحفيظ السحيمى	شركة مياه الشرب بالقاهرة الكبرى
➢ د/ مى صادق	شركة مياه الشرب بالقاهرة الكبرى