



المركز العلمي المادف دعماسة أساسية للنموض بالحراق



عزل وتشخيص بعض أنواع البكتريا قبل وبعد المعالجة لثلاثة مشاريع اسالة في مدينة سامراء

ليلى رفعت خليل¹، سعاد مصطفى محمد²، محمد نصيف عباس²، عبدالله نجم الشيخ³

¹ قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت، تكريت، العراق

² قسم الهندسة البيئية، كلية الهندسة، جامعة المستنصرية، بغداد، العراق

³ الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية، سامراء، العراق

الملخص

تم عزل وتشخيص البكتريا المرضية من نماذج لمياه الشرب والمجهزة للمواطنين في مناطق مختلفة في مدينه سامراء خلال مدة ثمانية اشهر ابتداء من شهر تشرين الاول 2021 الى شهر ايار 2022، اذ تم اختيار اربع وحدات اسالة المياه متمثلة بالمحطة الاولى اسالة معمل ادوية سامراء والمحطة الثانية اسالة سامراء القديمة والمحطة الثالثة مياه معمل العين محطة أهلية نوع (RO) ومحطة الرابعة محطة كنترول RO. اخذت العينات شهريا بواقع اربع نماذج من الماء لكل محطة تنقية: عينة قبل المعالجة وعينة بعد المعالجة وعينه تم تعرضها للشمس وعينه تم تعرضها للتجميد وكما تم عزل الأنواع البكتيرية التالية السائدة في مياه نهر دجلة والتي شخصت في فصل الصيف وفصل الشتاء وفصل الخريف وفصل الربيع. *Salmonella sp.*, *E.coli*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Klebsiella sp.*, *Shigella sp.*, *Aeromonas sp.*, *P.aeruginosa*, *Citrobacter*.

الكلمات المفتاحية: بكتريا، معالجة، تلوث، انواع المياه

1- المقدمة

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 أنواع البكتريا هو مكنم الخطورة وانما يتم التركيز فقط على البكتريا المرضية وخاصة المعوية منها والتي تسبب العديد من الامراض مثل إصابات الجهاز الهضمي، الدزنتري، التهاب الكبد، حمى التيفوئيد والكوليرا [7]. تتكاثر العوامل البيئية من قلة مصادر المياه كالأطمار وزيادة درجات الحرارة الى نقص منسوب الانهار وركود المياه العذبة مما يزيد من عكوره وكثافة المياه النوعية بالتالي نفوق الكائنات المائية نتيجة ضعف الموارد وعدم صلاح البيئة المائية مما يحولها لبيئة ملائمة لتكاثر كائنات دقيقة ممرضة انتهازية [8]، اضافة الى ما تحمله مياه الصرف الصحي من كائنات دقيقة تضاعف من خطر التلوث المايكروبيولوجي مثل البكتيريا القولونية *E.coli*، البكتيريا المتحملة للحرارة *Faecal coliform*، البكتيريا المعوية *shigella spp*، الفيروسات، والطفيليات الابتدائية والديدان [9].

2- المواد وطرائق العمل

1-2-1- **الأوساط الزرعية المستعملة:** استعملت الأوساط الزرعية المبيبة في الجدول (1-2) اذ حضرت الأوساط وضبطت قيم الاس الهيدروجيني وعقمت حسب تعليمات الشركة المصنعة.

الماء من المكونات الرئيسية في حياتنا والذي يلعب دورا فعالا في العمليات الحيوية التي تحدث داخل الكائنات الحية، وبالتالي فإن العبث به وتلوثه يسبب اضرار بالغة الخطورة على الكائنات الحية والانسان المستهلك النهائي للسلمة الغذائية مع الاخلال في التوازن البيئي [1] ان من أهم مصادر مياه الشرب في المجتمعات تضمنت المياه السطحية المتمثلة بمياه الانهار والجداول وعند تعرض هذه المياه للملوثات تسبب تغير بصفاتها الفيزيائية والكيميائية وبذلك تؤثر سلبا على الكائنات الحية بشكل عام [2] وان من اهم انواع ملوثات هو التلوث البايولوجي عن طريق تصريف مياه الصرف الصحي المحتوية على المواد العضوية وكذلك انتشار القمامة المنزلية دون التخلص منها بطريقة علمية مما سببت بنشاط الاحياء المجهرية الهوائية [3]. وهناك ملوثات زراعية وصناعية مما تسبب بزيادة نشاط هذه الميكروبات [4] يعد التلوث الجرثومي للمياه المعدة للاستعمالات البشرية من اخطر أنواع التلوث لما له من تأثير على الصحة اذ تشير الاحصائيات الى ان حوالي 80% من الامراض ترتبط بتلوث المياه وان اكثر من ثلث الوفيات في الدول النامية ناتجة عن استعمال المياه الملوثة [5-6] يعتبر تلوث مياه الشرب بالبكتيريا من المشاكل التي تواجه المستهلكين وان الطريقة الوحيدة للتأكد من وجود او خلو نماذج المياه من البكتريا هي عن طريق فحص نماذج المياه في المختبرات المتخصصة والتأكد

الجدول (1-2)

المنشأ	الأوساط الزرعيه والشركة المصنعة لها	ت
USA	MacConkey agar (Difco)	1 وسط أكار الماكونكي
England	Nutrient agar (Oxoid)	2 وسط أكار المغذي
India	Triple sugar iron	3 وسط أكار السكر الثلاثي الحديدي
India	MacConkey broth (Rashmi)	4 وسط مرق ماكونكي
India	Simmon's Citrate agar (Rashmi)	5 وسط سيمون ستريت
India	Peptone water (Rashmi)	6 وسط ماء الببتون
Oxoid	MR-VP	7 المثل الأحمر والفوكس بروسكاور

2-2- وصف منطقة الدراسة

تقع منطقة العمل في قضاء سامراء التابعة لمحافظة صلاح الدين التي تبعد بحدود (120) كم عن شمال بغداد، وتشغل منطقة العمل مساحة شاسعة من الأرض، وتقع في الجهة الشمالية الغربية في سامراء وتضم المساحة جزءاً كبيراً من الاحياء السكنية في مدينة سامراء.

2-3 - محطات الدراسة

تناولت الدراسة الحالية اربع محطات رئيسة كانت الأولى مياه إسالة محطة الشركة العامة لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية-سامراء (SDI) والثانية محطة اسالة مدينة سامراء القديمة، والمحطة الثالثة محطة مياه شرب قطاع خاص (محطة ماء العين الاهلية (RO) وأخيرا تم اخذ عينة من محطة المياه الداخلة في الإنتاج (محطة RO) الخاصة بمعمل الادوية والتي تم اعتبارها كمحطة سيطرة (Control) شكل (1):

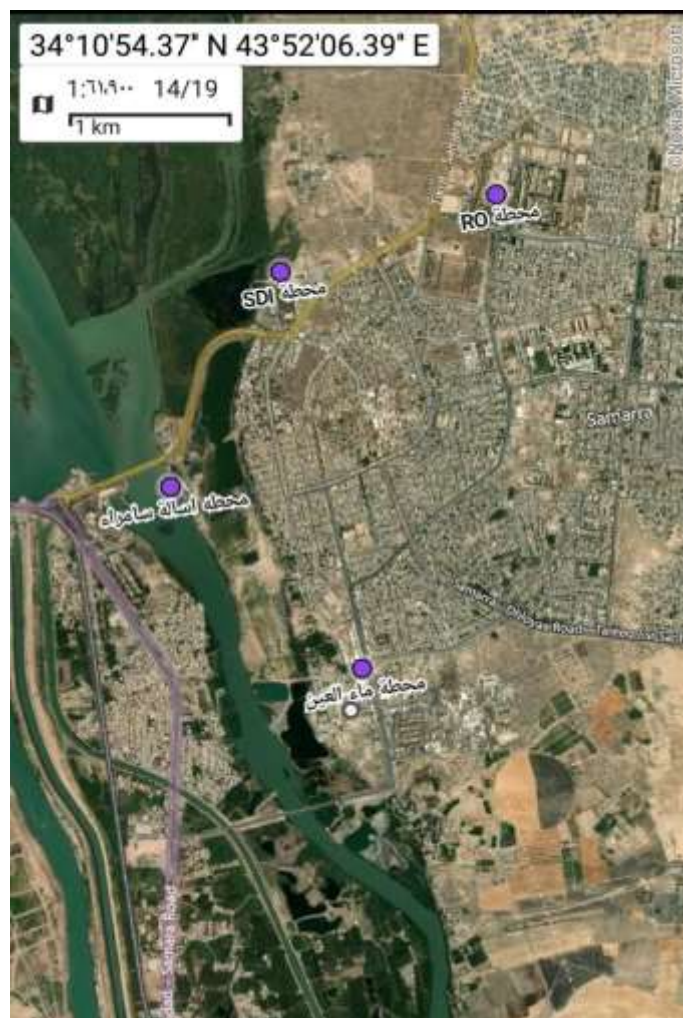
1- المحطة الأولى: وهي محطة مياه الإسالة التابعة للشركة العامة

لصناعة الأدوية والمستلزمات الطبية التي تزود الشركة بالمياه الصالحة للشرب بالإضافة إلى إستعمال هذه المياه في مختلف العمليات الصناعية وعمليات الغسل والتنظيف، وتقع مياه الإسالة خارج الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية-سامراء.

2- المحطة الثانية: وهي محطة اسالة مدينة سامراء القديمة وتزود الاحياء السكنية بمياه الشرب وتشمل منطقة المعتمد ومنطقة الهادي ومنطقة القاطول ومنطقة سامراء القديمة وتقع شمال غرب مدينة سامراء.

3- المحطة الثالثة: وهي محطة RO الاهلية (ماء العين الاهلية) تقوم بإنتاج مياه شرب للأسواق المحلية تقع في الحي الصناعي في مدينة سامراء.

4- المحطة الرابعة وهي (محطة RO) تقع داخل الشركة العامة لصناعة الادوية والمستلزمات الطبية التي تزود الأقسام الإنتاجية بالمياه الداخلة في صناعة الادوية وتم اعتبارها كمحطة control للدراسة الحالية.



شكل 1: خارطة توضح أماكن التي جمعت منها العينات

3- طريقة جمع العينات

تم جمع العينات لغرض دراستها من شهر تشرين الأول 2021 الى شهر أيار 2022 وجرى جمع النماذج شهرياً، أُجريت الفحوصات البكتريولوجية بملء قناني زجاجية سعة 250 مل، ومن ثم نقلها إلى المختبر بوساطة حاوية من الفلين المثجلة للحفاظ على خواص العينة لحين إيصالها إلى المختبر والمباشرة بالعمل، وإذا لم يتم العمل مباشرة فتحتظ العينات بدرجة حرارة 4 م° لمدة 24 ساعة مع مراعاة عدم تعرض العينة للضوء [10].

3-1- التعقيم

عُقمت الأوساط الزرعية والمحاليل والكواشف بالتعقيم الرطب (Moist Sterilization) وذلك بإستعمال المؤعدة (Autoclave) عند درجة حرارة (121) م° وضغط (15) باوند/انج² لمدة (15) دقيقة، أما الناشر Spreader والناقل (Loop) وأعناق الدوارق والأنابيب الزجاجية فكان تعقيمهم جافاً (Dry Sterilization) بإستعمال لهب مصباح بنزن (Bunsen's burner)، في حين عُقمت أطباق بتري الزجاجية والماصات الزجاجية في الفرن الكهربائي (Oven) عند درجة حرارة (160) م° لمدة ساعة [11].

3-2- تحضير المحاليل

3-2-1- المحلول الملحي الوظيفي Physiological Normal Saline

حُضِرَ المحلول بإذابة (0.85) غم من كلوريد الصوديوم في (90) مل من الماء المقطر وأكمل الحجم إلى (100) مل، ثم عُقِمَ بالمؤعدة وحفظ بالثلاجة بدرجة (4) م° لحين الإستعمال. وأُستعمل هذا المحلول لغرض تخفيف عينات المياه في الإختبارات البكتيرية [12]

3-2-2- محلول اليود Iodine Solution:

حُضِرَ بإذابة (20) غم يوديد البوتاسيوم في (250) مل من الماء المقطر، ثم أُضيف (10) غم من الأيودين وعند الذوبان أُكمل الحجم إلى لتر واحد [13].

3-2-3- محاليل صبغة كرام Gram stain solutions

تم الحصول على محاليل صبغة كرام (المتكونة من صبغة أزرق المثل، محلول الاسيتون وصبغة السفرانين) جاهزة من شركة الهلال السعودي.

4- تحضير الكواشف

كليا، ثم عُقِمَت في جهاز Autoclave وبردت بدرجة حرارة المختبر وبعدها صُبَّت في أطباق بتري، ثم تُرِكَت لتتصلب وحُفِظَت في الثلاجة لحين إستعمالها.

3-5- وسط السيدوموناس آكار Pseudomonas Agar
حُصِرَ هذا الوسط بإذابة (20) غم من Peptone و (1.4) غم من Potassium sulphate و (10) غم من Magnesium chloride و (136) غم من Agar و (0.3) غم Cetrimid في لتر ماء مقطر. ويعادل PH إلى (7.2)، ومن ثم تُعَمَّم (Baron & Fineglod, 1990) وأستعمل هذا الوسط لعزل بكتريا *Pseudomonas aerogenosa*.

4-5- وسط مرق الماكونكي MacConkey broth medium
تم تحضير هذا الوسط بتركيزين هما:

1- مرق ماكونكي أحادي التركيز MacConkey broth single strength
تم تحضيره بإذابة (35) غم من المسحوق في لتر واحد من الماء المقطر ثم يُسخن المزيج بهدوء في الحمام المائي لإتمام عملية الذوبان حتى الغليان وحصول التجانس الكامل في الوسط، ومن ثم يزرع في أنابيب الاختبار الحاوية على أنابيب درهم ذي وضع مقلوب وبمقدار (10) مل لكل أنبوب ثم عُقِمَت في جهاز Autoclave.

2- مرق ماكونكي ثنائي التركيز MacConkey broth Double strength:
تم تحضيره بإذابة (70) غم من المسحوق في لتر واحد من الماء المقطر وتتبع الخطوات نفسها التي ذكرت في تحضير مرق ماكونكي أحادي التركيز.

5-5- وسط تخمر السكريات على وسط Kligler iron (KIA) agar
حُصِرَ هذا الوسط بموجب تعليمات الشركة المجهزة، وأستعمل هذا الوسط للكشف عن تخمر البكتريا المخمرة للاكتوز والبكتريا المخمرة للسكروز وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S في البكتريا المعوية.

6- حساب العدد الكلي لبكتريا القولون Enumeration of coliform bacteria
جرى حساب العدد الكلي لبكتريا القولون (TC) Total Coliform bacteria باستخدام طريقة الأنابيب المتعددة Multiple Tube Method وبوساطة العدد الأكثر احتمالاً Most Probable (MPN) Number المذكورة في اتحاد الصحة العامة الأمريكية [16] وتضم ثلاث مراحل وهي:

- 1- الاختبار الافتراضي Presumptive Test
- 2- الاختبار التأكيدي Confirmed Test
- 3- الاختبار التكميلي Complete Test

1-6- تشخيص العزلات البكتيرية Identification of bacterial isolates
أُجْرِيت الفحوصات المجهرية والكيموحيوية اعتماداً على المصادر العلمية المتبعة عالمياً لتشخيص العزلات (15, 17, 18)

حُصِرَت الكواشف لغرض تشخيص البكتريا وفقاً لما ورد في [14] وشملت على:

1-4- كاشف الأوكسيداز Oxidase reagent
حُصِرَ بإذابة (1) غم من مادة Tetra methyl-para-phenylene diamine dihydrochloride في (90) مل من الماء المقطر، ثم أُكْمِلَ الحجم إلى (100) مل وحُصِرَ أنياً عند الإستعمال. أُسْتُعْمِلَ هذا الكاشف للكشف عن إنتاج إنزيم الأوكسيداز من قبل العزلات البكتيرية.

2-4- كاشف كوفاك Kovac's reagent
تم الحصول على هذا الكاشف محضراً ومجهزاً من شركة Himedia، وحُفِظَ في الثلاجة بدرجة 4 °م وبحالة معتمدة بموجب تعليمات الشركة المصنعة، وأستعمل للكشف عن ظهور حلقة الإندول نتيجة لتحلل الحامض الأميني التريبتوفان في وسط ماء البيبتون الملقح بالبكتريا.

3-4- كاشف أحمر الميثيل Methyl red (MR) reagent
حُصِرَ هذا الكاشف بإذابة (0.1) غم من صبغة أحمر الميثيل Methyl Red في (300) مل من الكحول الأيثلي بتركيز 95% وأكْمِلَ الحجم إلى 500 مل ماء مقطر.

4-4- كاشف الفوكس بروسكاور Voges-Proskaur (VP) reagent
يتكون هذا الكاشف من محلولين:
محلول A:

1- α - Naphthol (5) gm
2-Absolute Ethanol (100) gm
تذاب مادة ألفا-نفثول في الكحول الأيثلي بشكل تام.
محلول B:

1-Potassium hydroxide (KOH) (40) gm.
2- Distill Water (100) gm.
تذاب مادة الـ (KOH) تماماً في الماء المقطر ويحفظ كل من محلولي A و B في الثلاجة وبقناني معتمدة (15).

5- تحضير الأوساط الزرعية
تم تحضير الأوساط الزرعية بموجب تعليمات الشركة المجهزة، وضبط الأس الهيدروجيني لها إلى الرقم (7) بإضافة قطرات من حامض الـ HCL بتركيز (1) عياري أو إضافة قطرات من هيدروكسيد الصوديوم NaOH بتركيز (1) عياري، وعُقِمَت الأوساط الزرعية بالمؤسسة وحُضِنَ بدرجة حرارة (37) °م لمدة (24) ساعة قبل الإستعمال وذلك للتأكد من تعقيمها، وهي على النحو الآتي:

1-5- وسط الأكار المغذي Nutrient Agar medium
حُصِرَ بموجب تعليمات الشركة المنتجة، إذ تم إذابة (28) غم من المسحوق في لتر ماء مقطر تماماً، ثم عُقِمَت في جهاز المؤسدة Autoclave وبردت بدرجة حرارة المختبر وبعدها صبت في أطباق بتري وتُرِكَت لتتصلب وحُفِظَت في الثلاجة لحين إستعمالها.

2-5- وسط ماكونكي آكار MacConkey Agar medium
تم تحضير هذا الوسط بموجب تعليمات الشركة المنتجة، بإضافة (51) غم من مسحوق MacConkey Agar إلى لتر ماء مقطر وأذيت

التي تتضمن:

7- الموصافات الزرعية The Cultural Properties

يتم ملاحظة شكل النمو للمزرعة البكتيرية وموصافاتها على الطبق الذي يتضمن شكل المستعمرة والتحدب واللون واللمعان والقطر والحافة والمخاطية والرائحة.

8- الفحص المجهرى The Microscopic Test

جرى عمل مسحة من مستعمرة بكتيرية منفردة من كل مزرعة بواسطة الناقل المعقم ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة تم تثبيتها وصبغها بصبغة كرام للتعرف على شكلها وتفاعلها مع صبغة كرام وتم التعرف على حجم وترتيب الخلايا البكتيرية.

9- الاختبارات الكيموحيوية The Biochemical Test

1-9 اختبار الأوكسيداز Oxidase Test

يعتمد هذا الاختبار على قابلية الجراثيم على إنتاج إنزيم الأوكسيداز، إذ أضيفت قطرة من كاشف الأوكسيداز المُخَضَّر على ورقة ترشيح، ثم أُخِذَ جزء من المستعمرة المشكوك فيها بواسطة العود (stick) ومُزجت مع القطرة على ورقة ترشيح، إنَّ ظهور اللون البنفسجي الداكن خلال (5-10) ثوانٍ يشير إلى قدرة الجراثيم على إنتاج هذا الإنزيم [17].

مجموعة اختبارات Indole, Methyl red, Voges- Proskauer and Simmon's Citrate (IMViC)

تتضمن عدة اختبارات التي أُستعملت في التشخيص وهي ما يأتي:

2-9 اختبار الإندول Indole Test

لقح وسط ماء البيبتون Peptone water السائل بالعزلات البكتيرية، وحضن بدرجة حرارة (37) °م لمدة (24) ساعة وأضيف (0.5) من كاشف كوافاكس إلى الأنبوبة المحضنة، ورجت بخفة، إنَّ ظهور حلقة حمراء وردية دليل على إيجابية الاختبار [15].

3-9 اختبار إستهلاك السترات Citrate Utilization Test

أُجري الاختبار بتلقيح وسط السيمون السترات Simmon's citrate medium الجاهز والحاوي على كاشف Bromo phenale blue بمستعمرة البكتريا المراد تشخيصها وحضنت بدرجة (37) °م ولمدة (24-48) ساعة، والنتيجة الموجبة للاختبار هي تحول لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق كدليل على إستعمال السترات كمصدر للكربون والطاقة.

4-9 اختبار الميثيل الأحمر والفوكس بروسكاور MR-VP Test

أُجري هذا الاختبار بتلقيح مرق MR-VP بمستعمرة فتية بعمر (24-18) ساعة، ثم حضنت بدرجة (35-37) °م ولمدة يومين كحد أدنى، قُسم المرق الملقح إلى قسمين لغرض إجراء الاختبارين:

A- اختبار الميثيل الاحمر MR Test

أُضيفت (5) قطرات من كاشف الميثيل الأحمر المحضر إلى (5) مل من المرق الملقح بالجراثيم، إنَّ ظهور اللون الأحمر البراق دليل على تخمر خليط السكريات وإيجابية الاختبار، بينما ظهور اللون البرتقالي المحمر يدل على تخمر ضعيف، في حين تسجل النتيجة سالبة بظهور اللون الأصفر.

B- اختبار الفوكس بروسكاور VP Test

أُضيفت (6) قطرات من محلول (A) المحضر و (2) قطرة من محلول (B) المحضر في الفقرة نفسها إلى (1) مل من مرق MR-VP الملقح بالجراثيم، رُجت الأنبوبة جيداً بعد كل إضافة وقُرأت النتائج خلال (5) دقائق، إنَّ ظهور اللون الأحمر دليل على إيجابية الاختبار بينما بقاء اللون الأصفر دليل على سلبية [18].

5-9 اختبار تخمر السكريات على وسط Kligler iron agar (KIA)

أُجري هذا الاختبار بتلقيح قعر الأنبوبة Butt الحاوية على وسط الحديد ث المائل Slant بطريقة الطعن Stabbing والتخطيط بالعزلات الجرثومية المراد اختبار قابليتها على استهلاك السكريات، السكرور Sucrose اللاكتوز Lactose والكلوكوز Glucose وإنتاج الغاز، وكذلك إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين من كبريتات الحديدوز، حُضِن الوسط الملقح بالجراثيم لمدة (24) ساعة، وقُرأت النتائج مباشرة، إنَّ تحول السطح المائل Slant والقعر Butt إلى اللون الأصفر دليل على تخمر السكريات بينما تحول لون السطح إلى أحمر والقعر أصفر دليل على تخمر الكلوكوز فقط، أما بقاء كل من السطح المائل والقعر بلون أحمر دليل على عدم تخمر السكريات وبقاء الوسط قاعدي، وعند ظهور اللون الأسود فإنَّ ذلك يدل على إنتاج العزلات الجرثومية لغاز كبريتيد الهيدروجين H_2S بينما يدل ظهور الفقاعات على إنتاج الغاز [18].

6-9 وسط اختبار الحركة Motility medium

مُزج (20) غم من مسحوق المرق المغذي Nutrient broth مع (4) غم من مسحوق الأكار، وأُضيفت المحتويات في لتر من الماء المقطر، ثم وزعت في أنابيب اختبار بمقدار (8) مل في كل أنبوبة، عَقمت بالمؤصدة ثم تركت لتبرد بشكل عمودي، استعمل هذا الوسط لمعرفة قابلية العزلات البكتيرية على الحركة في الوسط شبه الصلب [17].

النتائج والمناقشة

عزل وتشخيص

تتعرض المياه بأنواعها للتلوث مما يسبب تدهور نوعيتها خصائصها في مناطق كثيرة من العالم ويعد الماء ملوثاً عند تغير تركيب عناصره، أو تغيرت حالته أو بسبب النشاط البشري أو كليهما بحيث تصبح هذه المياه أقل صلاحية للاستعمال [18]، وتتواجد البكتيريا إما عاقلة في عمود الماء أو مستقرة في الترسبات القاعية، ويمكن أن تكون هوائية (Aerobic bacteria) أو لا هوائية (Anerobic bacteria) اعتماداً على حاجتها للأوكسجين، وتتم تغذيتها داخل الماء أما عن طريق أكسدة المواد العضوية أو استخدام المركبات اللاعضوية الحاوية مثلاً على الحديد أو الكبريت [19]. ويعد الفحص البكتيري للماء من أهم الفحوصات إذ يستدل منه مباشرة على وجود، أو عدم وجود أحياء مجهرية ضارة بالصحة [20]، يشتمل التشخيص النوعي للبكتيريا على عدة خطوات تعتمد على شكل البكتيريا، وتركيب جدارها الخارجي، وعملياتها الأيضية، وما تنتجه البكتيريا من انزيمات المختلفة

صالحة للشرب ومصادر أخرى غير صالحة للشرب في منطقة Uzhaveer Grama Panchayat، اجري عليها اختبارات فيزيائية وكيميائية وأشارت النتائج الى ان معظم مصادر المياه في المنطقة ملوثة وتكثر فيها البكتيريا القولونية وبعض المعايير لمياه الشرب كانت خارج الحدود المقبولة لمنظمة الصحة العالمية، وهذا التلوث قد يرجع الى تلوث مصادر المياه بمياه الصرف الصحي او روث الحيوانات المنجرف اليها [24].



صورة 2: تبين اختبار الـ IMVIC

إذ شخصت العزلات تشخيصاً أولاً بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على الوسط الزرعي عن طريق الشكل والهيئة والقوام واللون والرائحة، كذلك بينت الفحوصات المجهرية باستخدام صبغة كرام بأن أكثر العزلات البكتيرية المعزولة للدراسة الحالية التابعة للعائلة المعوية كانت بشكل عصيات إلى عصيات قصيرة سالبة لصبغة كرام [25]. صورة (1)

وظهرت مستعمرات *Escherichia coli* وردية إلى حمراء (بسبب تخميرها سكر اللاكتوز) صغيرة وجافة ذات نهايات منتظمة على وسط الماكوني.

أما بكتريا الـ *Klebsiella* فظهرت بلون وردي وذلك لتخميرها سكر اللاكتوز على وسط الماكوني أكار وكانت هيئة مستعمرات هذه البكتريا مخاطية لزجة غير منتظمة الشكل ويرجع سبب ذلك إلى تكوينها للمحفظة [17]، صورته (2)

وظهرت بكتريا الـ *Enterobacter* وردية مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط الماكوني أكار، كذلك كانت جراثيم الـ *Citrobacter* مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط الماكوني أكار [17]

وكذلك تم تشخيص بكتريا الـ *Pseudomonas*

aeruginosa بالاعتماد على كون مستعمراتها شاحبة اللون ذات شكل مستعمر محدد غير منتظم الحواف (Holt et al., 1994)، وكانت خضراء اللون على وسط السيديموناس أكار لإنتاجها الصبغة الخضراء المصفرة pyocyanin ورائحة تشبه رائحة العنب المتخمر وغير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط الماكوني أكار [17].

وقد تم تأكيد تشخيص العزلات المذكورة آنفاً باستعمال الاختبارات الكيموحيوية اعتماداً على [27]، فقد كانت بكتريا الـ *E. coli* مخمرة لللاكتوز، منتجة للغاز والإندول، متحركة، موجبة لفحص المثلث الأحمر، غير منتجة لإنزيم الأوكسيديز، سالبة لفحص الفوكس بروسكاور، غير مستهلكة للسترات في وسط سيمون ستريت، وخمرت

مثل البيروكسيدوز، وما تخلفه في الوسط الزرعي ويؤثر على الكواشف والمحيط الخارجي مثل غاز H₂S.

تم اجراء تشخيص بكتيريولوجي لـ 20 عينة مأخوذة من المحطات الاربعية (اسالة سامراء، وماء العين، SDI، RO) قبل وبعد المعالجة وعينات معرضة للشمس والتجميد لتحديد الانواع البكتيرية المحتملة جدول (3) وقد تم التشخيص وفقاً لنتائج اختبار الحركة، وقابلية التصبغ بصبغة كرام، وتخمير اللاكتوز، واختبار السكريات الثلاثي والحديد KIA واختبار IMVIC [21]. وكانت النتائج ظهور أنواع بكتيريا في عينات قبل المعالجة التي ادرجت نتائجها التشخيصية في الجدول (2) التي اشتملت على الانواع التالية: *E. Coli*, *Shigella* *sp.*, *Salmnoella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Vibrio cholera* *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *shigella sp.*, *Salmnoella sp.*, *Citrobacter* *E.Coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella sp.*, *Shigella* *E.coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella sp.*, *Shigella* *E.coli*, *P.aeruginosa* *sp.*، في عينات فصل الربيع، *P.aeruginosa* *sp.*، *V.cholera*, *Klebsiella*, *Aeromonus* *sp.* في عينات فصل الصيف. اما العينات بعد المعالجة ظهرت الأنواع البكتيرية في المحطة الثانية وهي محطة اسالة مدينة سامراء القديمة وذلك لعدم توفر الكلور من قبل الدولة وبقاء المحطة لعدة اشهر بدون معالجة (إضافة الكلور) ورداءة عمليات المعالجة وشملت الأنواع البكتيريا

E. Coli, *Shigella sp.*, *Salmnoella sp.*, *Enterobacter* *sp.*, *Vibrio cholera* *sp.*، في عينات فصل الخريف، *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *shigella sp.*, *Salmnoella sp.*, *Citrobacter* *sp.* في عينات فصل الشتاء، *E.Coli*, *Enterobacter*, *P.aeruginosa* *E.coli*, *Pseudomonas sp.*, *V.cholera*, *Klebsiella*, *Aeromonus* *sp.* في عينات فصل الربيع، *Aeromonus* *sp.* في عينات فصل الصيف

اما العينات التي عرضت للشمس فشملت الأنواع البكتيريا التي ظهرت في المحطة بعد المعالجة محطة اسالة سامراء القديمة إضافة الى بكتيريا *Bacillus subtilis* وكذلك العينات التي عرضت للتجميد شملت الأنواع البكتيريا التي ظهرت في محطة بعد المعالجة محطة اسالة سامراء القديمة.

إن أغلب المياه الطبيعية تحتوي على أنواع مختلفة من الأحياء البكتيرية التي يمكن أن يكون مصدرها التربة المتجزئة من المسطحات المائية إذ يعد الماء وسطاً جيداً لمعيشة البكتيريا ونموها ومصدراً مهماً لنقل الممرضات [22]، في دراسة مماثلة في الكامبيرون هدفت لمسح بيولوجي لمياه الانهار والأبار هناك أظهرت الكشف عن بكتيريا *Salmnoella sp.*, *Klebsiella*, *E.Coli*, *coliform bacteria*، *Enterobacter*، وكانت النتائج مشابهة لما جاء في الدراسة الحالية، اسند الباحثون هذا التلوث الى تخفيف الحكومة من جهود تحسين الوصول الى مياه الشرب ولجوء الناس الى مصادر مياه مشكوك فيها [23]. وفي دراسة جمعت عينات مياه الشرب من مصادر

أما جرثومة الـ *P.aeruginosa* فقد كانت منتجة لإنزيم الأوكسيداز ومتحركة، تستهلك السرات، غير مخمرة للاكتوز، غير منتجة للإندول، وغير منتجة لغاز H_2S .

أما بكتريا الـ *Enterobacter* فبينت أنها سالبة للإندول والمثيل الأحمر وموجبة لفحص الفوكس بروسكاور والسرات، وكانت نتيجة اختبار وسط الـ KIA (A butt/A slant) وهذا يدل على تخمير جميع السكريات، غير منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين H_2S ، ومتحركة.

أما بكتريا الـ *Shigella sp.* فبينت أنها غير متحركة، مخمرة لسكر الكلوكوز فقط على وسط الـ TSI (A butt/K slant)، وغير منتجة لغاز H_2S ، وسالبة للإندول والفوكس بروسكاور والسرات وموجبة فقط للإندول، غير مخمرة لسكر اللاكتوز، غير منتجة لأنزيم الأوكسيداز وهذه الأجناس وجودها في المياه يعد ضاراً بصحة الإنسان وتعد من البكتريا الدخيلة للمياه والتي يكون مصدرها الفضلات السكنية [27].

أما بكتريا الـ *Aeromonas sp.* يعود سبب انتشار هذا النوع من البكتريا في مياه النهر لكونها متوطنة في البيئات المائية ولأنها محبة للحرارة المعتدلة فضلاً عن أنها لاهوائية اختيارية مما يساعدها في تحمل الظروف اللاهوائية في المواقع غير جيدة التهوية في المياه وكذلك صفاتها المظهرية والوظيفية التي ساعدتها في الانتشار قدرتها على الحركة وقد تقاوم الظروف غير ملائمة [28].

جميع السكريات (A butt/A slant) في وسط آكار الحديد ثلاثي السكر Triple Sugar Iron (KIA)، غير منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين.

أما بكتريا الـ *Klebsiella* فقد كانت موجبة لفحص الفوكس بروسكاور، ومستهلكة للسرات كمصدر وحيد للكربون، وسالبة لفحص المثيل الأحمر والإندول، وغير منتجة لإنزيم الأوكسيداز، وغير متحركة، ومخمرة لجميع السكريات الموجودة في وسط الـ KIA (A butt/A slant)، وغير منتجة لغاز H_2S .



صوره 3: توضيح بكتريا الـ *Klebsiella*

أما بكتريا الـ *Citrobacter* فقد كانت غير منتجة للإندول (in dole methyl) وسالبة لفوكس بروسكاور (Vogas proskaur)، وموجبة للمثيل الأحمر والسرات، وسالبة لأنزيم الأوكسيداز، ومخمرة للاكتوز خلال (48) ساعة، وغير متحركة ومخمرة لجميع السكريات الموجودة في وسط الـ KIA (A butt/A slant) متغايرة لإنتاج H_2S .

جدول 3: يوضح الاختبارات الكيموحيوية المستعملة في تشخيص أنواع من البكتيريا خلال مدة الدراسة

الفصول	الاختبارات البكتيريا المعزولة	KIA (Kligler sugar iron)				Motility	Motility	Lactose	IMVIC (in dole methyl –vogas Proskaur,cimmon citrate)				Oxidase Ox
		Slant	Butt	H2S	Gas				Indol	MR	VP	C	
فصل الخريف	Salmonella sp.	A	A	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	E.coli	A	A	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Shiglla sp.	K	A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Enterobacter	A	A	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
	Vibrio cholera	A	A	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+
فصل الشتاء	Pseudomonus sp	K	K	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	Klebsiella sp	A	A	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	Shigella sp	K	A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Salmonella sp.	A	A	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	Citrobacter	A	A	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-
فصل الربيع	E.coli	A	A	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Enterbacter	A	A	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-
	Klebsiella sp	A	A	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	Shigella sp	K	A	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	P.aeruginosa	\	\	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	Ent.aerogenes	A	A	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-
فصل الصيف	E.coil	A	A	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	Pseudomonus sp	K	K	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
	V.cholera	A	A	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+
	Klebsiella	A	A	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	Aeromonas sp	A	A	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+

المصادر

Of Health and Human Services, University of Nebraska, Lincoln.

8- علي، يوسف عكاشة & هشام، جهاد إبراهيم (2017). التلوث الكيميائي والميكروبيولوجي للمياه الجوفية بمنطقة زليتن. مجلة العلوم والهندسة البيئية، المجلد 1، ط 1. ص 39-46.

9- حبيب، واثق عباس. (2009). تشخيص وتوزيع بكتيريا القولون وبعض انواع البكتيريا الممرضة مع مستوى تلوث المياه البرازي في نهري دجلة و دياي جنوب بغداد. 12(4)، Al-Nahrain Journal of Science، 42-50.

10- WHO (World Health Organization). (1996). Guideline for Drinking Water Quality Health Criteria and Other Supporting Information 2nd. Ed. Vol. 21. Geneva.

11- Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical test for identification of Medical bacteria. 3th.ed. Lippincott. Williams and Wilkins. Baltimore. USA.

12- Baron, E. J. and Finegold, SM. (1990). Microorganisms Encountered in urinary tract in Bailey

1- Senta, A, and,M.M.Rajcici (2007). Drinking water safety form private wells in Zagreb. Lijec. Vjesn.

2- لاقون، روبرت (1997). التلوث، ترجمة نادية القباني، شركة تراوكسم، جنيف.

3- Cunningham, William P. and Cunningham, Mary. (2006). *Environmental Science Inquiry and Applications*. Third Edition. McGraw-Hill Companies. New York. Inc. USA. : 428 pp

4- Lutgen, Frederich, K.; Tarbuck, Edward, J. and Tasa, Dennis. (2012). *Essential of Geology*. Eleventh Edition. Pearson Education, Inc. USA: 578 pp

5- Nath, K.J.,Bloomfield, S. and Jones, M., 'Household water storage handing and Point of use treatment '. International Scientific Forum on Home Hygiene (IFH). USA.

6- Al-Tomei, A.S. and Saad, M.A., 'Bacteriology of Drinking Water'. Research (2008).

7- Sharon, O., Bruce,I., Wayne, W., and Shery, W.(2009). Drinking Water .Bacteria, Nebraska Dept.

- 21- Odonkor, S. T., and Addo, K. K. (2018). Prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water sources. *International journal of microbiology*, 2018
- 22- Aubaid, Q.N. (1998). Surveillance of faecal Enterobacteriaceae among food handlers at Babylon province. *Journal of Babylon University*. Vol, (3) .NO, (3). P: 320-324.
- 23- Adogaye, S. B. B., Rodrigue, M. B., Martial, N. P. P., Wondeu, A. L. D., Martin, S. S., Kemogne, J. B., ... and Vittorio, C. (2021). Assessment of Domestic Water Sources Safety: Application of the Micro Biological Survey Method and Microbiological Profile of the Contaminating Bacteria. *Journal of Water Resource and Protection*, 13(5), 350-361.
- 24- Mazilan, N. M. (2019). Isolation and identification of bacteria isolated from child-hand washing by water and anti-microbial soap.
- 25- Lepp, P. W (2010). *General Microbiology Laboratory Manual*. 2nd Ed.
- 26- علي، فاطمة صبيح (2007). دراسة مقاومة بكتريا *Enterococcus Faecalis* المسببة لالتهابات المجاري البولية لبعض المضادات الحيوية وانتاجها لانزيمات *B- Lactemase*، كلية العلوم-الجامعة المستنصرية
- 27- Collins, C.H.; Lyne, P.M.; Grange, J.M. and Falkinham, J.O., (2004). *Microbiological Methods*, 8th edition
- 28- Ghenghesh, K.Sifaw,Ahmed, Salwa, F.,EI-Khalek, Rbdel, Al-Gendy, Atef and KLena , John.(2007). Aeromonas-Associated Infections in Developing Countries; Review Article.J.Infect Dev. Countr., 2(2); 81-98.
- and Seotts Diagnostic Microbiology (8th Ed.). The C.V Mosby Company .U.S.A.
- 13- جار الله، نزار فؤاد، العزام، عقاب، والشاعر، عبد المجيد، والمسي، عرسان (1994). الاحياء الدقيقة العملي. سلسلة الطرائق العملية، عمان-الأردن.
- 14- Steve, K.; Dinnis, S. and Mary, J. (2004). Laboratory exercises in Organismal and molecular microbiology. American society for microbiology, Washington, D.C.USA.
- 15- Harley, J.P. and Prescott, L.M., (2002). Laboratory Exercises in Microbiology. *Fifth ed. The McGraw-Hill Inc. companies*
- 16- APHA (American Public Health Association) (2003). Standard Methods for the Examination of water and wastewater, 20th Edition. A.P.H.A., 101 S Fifteenth Street, N.W., Washington. DC, USA. 1325 pp.
- 17- Morello, J.A.; Granato, P.A. and Mizer, H. E. (2003). *Laboratory Manual and workbook in Microbiology*, Application to pation care. 7th Ed
- البيئة، كلية وتلوث الإنسان (2006). اللطيف (عبد العبيدي، 18- الأزر جامعة-الزراعة
- 19- US-EPA (United State-Environmental Protection Agency). (2003). Water Quality Analysis of heavy Metals for the Pretty boy Reservoir Impoundment in Baltimore Country, Maryland. 1650Arch Street, Philadelphia, PA 19 (103): 2029.
- 20- الجبوري، علي حسون ادهام (2005). دراسة الدلائل الجرثومية للتلوث الاحيائي وبعض العوامل الفيزيائية والكيميائية عليها لمياه نهر دجلة ونهر الزاب الأسفل في مدينة الحويجة وتكريت، رسالة ماجستير، كلية التربية-جامعة تكريت.

Isolation and Diagnosis of some types before and after treatment for three projects in Samarra city

Layla rifaat khaleel , Suadat Mustafa Mohammed , Mohammed Naseef Abas, Al-Sheikh Abdullah Najim

Abstract

The pathological bacteria were isolated and diagnosed from samples of drinking water supplied to citizens in different areas in the city of Samarra during a period of eight months, starting from October 2021 to May 2022. The third station is Al Ain water plant, a private station (RO), and the fourth station is an RO control station. Samples were taken monthly by four samples of water for each purification station: a sample before treatment, a sample after treatment, a sample exposed to the sun, and a sample exposed to freezing. The following bacterial species prevalent in the water of the Tigris River, which were diagnosed in the summer, winter, autumn and spring seasons, were isolated. *Salmonella sp.* , *E.coli* , *Enterobacter*, *Vibrio Cholera* , *Pseudomonas sp.* , *Klebsiella sp.* , *Shigella sp.* , *Aeromonas sp.*, *P.aeruginosa*, *Citrobacter*