الشركة القابضة
لمياه الشرب والصرف الصحي

برنامج إدارة مياه الشرب و الصرف الصحي
Water and Wastewater Management Program

gtz

Since the 1st of January 2011
giz Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH

ميكروبيولوجيا المياه
البرنامج الأول
ضمان ومراقبة الجودة

Water Microbiology
Module 1
Quality Assurance Quality Control

جدول المحتويات

- مقدمـــــــــــة:.....3
- الفصل الأول: ميكروبيـــــــــــولوجـــــيا المـــــــــياه:
  - مـقدمه عامه عن برنام-ج ميكروبيولوجـيا المـــــياه..... 7
  - نظم وكاله حماية البيئة الأمريكية لنوعية ميـــاه الشرب.....11
- الفصل الثانى: ضمان الجودة/ التحكم فى الجـــــــــــــــودة:
  - اعـــــــتبـــارات عـــــام_____ـــــــــة..... 15
  - الخطوط الاسترشادية لبرنامج ضمان الجـــــــودة.....16
  - أهـــــداف برنـــامـــج ضـــــمـــان الجـــــودة.....17
  - الخطوط الاسترشادية للتحكم فى النوعية خلال المعمل..... 18
- الفصل الثالث:عـــــناصـــــر برنـــامـــج التحـــــكم فى الجـــــودة
  - الأشـــــــــــــخـــــــــــــاص Personnel..... 21
  - الـــتـــــــــس_____هيلات Facilities.....21
  - أدوات واجهزة المعملLaboratory Equipment and..... 23
  - تجهـــــــــيزات المعمل Laboratory Supplies 31
  - طرق التشغيل القياسيه(Standard operating procedures(SOPs.....51
  - أخـــــــــــــــذ العينـــــــــــات Sampling.....51
  - طرق الـــــتحليل Analytical methods.....52
  - التحـــــــــــكم فى جودة التحاليل Analytical Quality Control 53
  - التأكيد Verification.....57
  - تسجيل وتقارير النتائج Records and Data Reporting..... 61
  - تناول أو معالجة النتائج Data handling.....62

▪الفصل الرابع :التحكم في الجودة أو النوعية داخل المعمل

- الخلفية العلمية.....67
- خصائص متسقة.....67
- المراجعة الخارجية للبرنامج External program review.....68
- اختبار البارعة الخارجي External proficiency testing.....68
- الأدوات المعملية Laboratory Apparatus..... 69

مقدمة

يهدف هذا الجزء من مجموعة الدورات المعدة للعاملين بمعامل الميكروبيولوجى بمحطات معالجة مياه الشرب الى تعريف القائمين بالعمل فى معامل الميكروبيولوجى بجزئية هامة تلعب دورا هاما فى نتائج التحاليل البكتريولوجية والتى هى الأخرى من أهم الأسس التى يعتمد عليها فى الوصول الى الحكم على صلاحية مياه الشرب هذه الجزئية التى سنتناولها هى التحكم وتأمين الجودة Quality Assurance QA/Quality Control QC فى أداء معامل الميكروبيولوجى.

إن وضع برنامج للتحكم وتأمين نوعية مياه الشرب مهم لأنه هو الوسيلة التى تجعل هناك ثقة فى نتائج التحاليل التى يقوم بها المعمل. وبتطبيق البرنامج، بعد معرفة عناصرها، يمكن أن يكون المعمل معتمد لدى الجهات الدولية الأمر الذى يزيد الثقة فى نتائج المعمل بل من الممكن أن يكون معمل مرجعى يمكن من خلاله تقييم نتائج المعامل الأخرى

من خلال تلك الحلقة الدراسية سيتمكن كل دارس من الوقوف على أول خطوة والتى من خلالها يمكن التحرك فى اتجاه الهدف الأساسى وهو تطبيق برنامج (QA/QC) تلك الخطوة هى تقييم المعمل تمهيدا لتطبيق برنامج تأمين والتحكم فى الجودة. وبمعرفة الدارس أسس تلك النظم ومن خلال عمله وتطوير الأداء بدءا من جمع العينات ، والتأكد من دقة أداء وسائل التحليل واتباع الطرق القياسية فى التحليل مع تطبيق برامج QA/ QC والتى من أهدافها تقليل الأخطاء فى المعمل والتى تنعكس على دقة النتائج المتحصل عليها سيكون هناك فى النهاية سجلات للنتائج وتحليلها يمكن الاعتماد عليها لتأكيد سلامة مياه الشرب.

وفى نهاية البرنامج سنكون قد أعددنا مجموعة من الميكروبيولوجين على أساس نظرى وعملى، شرائح إيضاحية على Power صورة ومن خلال ما سيتسلمونه من مادة علمية على صورة مذكرات ومجموعة ، من نقل ما تلقوه خلال الدورة الى مجموعة أخرى من العاملين وبالتالى تتسع الخبرة النظرية والعملية ويتم تحديث خبراتهم بكل ما يخدم العاملين فى هذا المجال والذى بدوره ينعكس على نوعية المنتج من مياه الشرب.

الفصل الأول

ميكروبيولوجيا المياه

Water Microbiology

الفصل الأول

ميكروبيولوجيا المياه

Water Microbiology

- **مقدمه عامه عن برنامج ميكروبيولوجيا المياه**

الهدف الأساسي من الاختبارات الميكروبيولوجية لمياه الشرب هو الوقوف على نوعية المياه وتأكيد خلوها من مسببات الأمراض لتوفير الحماية الصحية للمستهلك. ولتحقيق ذلك فانه يلزم استخدام مصدر آمن من المياه أو على الأقل به أقل حمل من الملوثات الميكروبية حتى تتم عليها عمليات المعالجة التى من المفروض أن تخلص المياه من الملوثات وتصبح مياه آمنة تماما وليس من المحتمل أن ينتج عن استخدامها أى أضرار صحية. لذلك يتم تقييم كفاءة خطوات المعالجة على أساس إزالة الملوثات حتى يمكن تدارك أية أخطاء فى عملية المعالجة. وبالإضافة الى ما سبق فان تحقيق الأمان فى المنتج من المياه لا يتوقف فقط على الإنتاج من محطات وعمليات المعالجة بل من المفروض أن يمتد توافر عامل الأمان بحيث تصل المياه من خلال نظم التوزيع وهى لا زالت تتمتع بصفة الأمان لامتداد تحقيق الحماية للمستهلك.

كل ذلك من الممكن تحقيقه من خلال وضع نظام محكم لتجميع عينات من المياه يتم تحليلها فى معامل مجهزة لإجراء التحاليل المطلوبة والمحددة بكفاءة من خلال اتباع الطرق القياسية الحديثة والتى تقرها الهيئات والمنظمات المعنية بذلك وهذا يتطلب الوقوف على كل ما هو حديث فى هذا المجال. ولتحقيق ذلك يلزم توفير الإمكانيات المعملية بدءا من الأشخاص المتخصصين فى إجراء التحاليل مع ضرورة إمدادهم بكل ما هو جديد فى مجال عملهم بتنظيم حضورهم الدورات التدريبية من خلال الخبراء فى هذا المجال الى جانب تحقيق اشتراطات خاصة فى المعمل وتجهيزاته التى تمكنهم من إجراء التحاليل المطلوبة بدقة وسرعة وبأقل الأخطاء وطبقا للطرق القياسية حتى تكون النتائج فى صورة تسمح أو تؤكد سلامة المياه لتحقيق الأمان للمستهلك.

الاختبارات الميكروبيولوجية تتم للكشف وعد ما يسمى بدلائل التلوث بدلا من الكشف عن الميكروبات المرضية. ولقد تم تحديد مجموعة بكتريا القولون (الكوليفورم) كدليل أو كشاف رئيسي على صلاحية المياه للاستخدام الآدمي والصناعي وغيره من

الاستخدامات. لذلك تمت دراسة خصائص وتفاعلات هذه المجموعة من البكتريا بالتفصيل والدقة الكافية.

وتوافر الخبرة لمعرفة المغزى من وراء كثافة بكتريا القولون كمعيار أو مقياس Criterion لدرجة

التلوث والنوعية الصحية يعتبر أمر حيوي. وبالإضافة الى ذلك فان مغذى الاختبارات وتفسيرها زاد من الوثوق بها واستخدامها كأساس لمواصفات ونوعية المياه الميكروبيولوجية.

واستخدام المرشحات الغشائية Membrane filter فى الكشف عن وتقدير كثافة مجموعة بكتريا القولون وغيرها، طريقة متفق عليها ويمكن الاعتماد عليها كاختبار أنابيب التخمر المتعددة Multiple-tube fermentation test والذي يستخدم فى نفس الغرض. وبالنسبة لطريقة المرشحات الغشائية فان تطوير وتحسين تفاصيل الطريقة وتحديث البيئات المستخدمة فى زراعة البكتريا جعل النتائج مساوية أو مشابهة لتلك الناتجة عن اتباع طريقة أنابيب التخمير المتعددة.

وعلى الرغم من وجود محددات لاستخدام طريقة المرشحات الغشائية ، فإنها تتعادل عندما تستخدم بدقة وطبقا للتعليمات المحددة والخاصة باستخدام تلك الطريقة وتفاصيلها العملية. وعلى ذلك فهناك طريقتان قياسيتان للاختبار والكشف عن مجموعة بكتريا القولون (دليل التلوث). وعرفيا يعبر عن نتيجة اختبار أنابيب التخمر المتعددة ليس فى صورة أعداد مطلقة ولكن كدليل العدد الأكثر احتمالا Most Probable Number Index (MPN) وهو دليل لعدد بكتريا القولون الأكثر احتمالا عن أى عدد آخر، وهو ليس عدد فعلى ناتج عن تنمية البكتريا. وعلى العكس فان طرق الزراعة المباشرة مثل الفلتر الغشائى تسمح بالحصول على عدد مباشر لمستعمرات بكتريا القولون. وفى كلتا الطريقتين كثافة بكتريا القولون تسجل اصطلاحيا كعدد أكثر احتمالا MPN أو عدد مطلق بالمرشحات الغشائية / 100 ملل. على أن استخدام أى من الطريقتين يسمح بتقييم نوعية المياه وتقدير كفاءة عمليات المعالجة. وبسبب أنه ليس من الضروري تقديم مقاييس كميه لبكتريا القولون بالنسبة لجميع العينات (فى حالة ما تنص مواصفة مياه الشرب على الغياب التام لمجموعة بكتريا القولون الكلية كما فى المواصفات الأمريكية) ، اشتملت مجموعة الاختبارات على اختبار التواجد/ الغياب لمجموعة بكتريا القولون (Presence/ Absence test).

البكتريا السبحية البرازية Fecal streptococci هى الأخرى كشاف أو دليل على التلوث البرازى فسوف يرد طرق الكشف عنها وتنميتها وعدها بطريقتي العدد الأكثر احتمالا والترشيح الغشائي.

طرق تفرقة مجموعة بكتريا القولون Differentiation سوف نتناولها. على أن التفرقة محدودة القيمة من حيث تحديد نوعية المياه لأن وجود اى من بكتريا القولون يجعل المياه غير مقبولة وغير آمنة. التفصيل أو التخصيص ربما يوفر معلومات عن استعمار Colonization نظام التوزيع بنوعية معينة وتأكيد أكثر على فعالية الاختبار لبكتريا القولون.

مجموعة بكتريا القولون تتواجد فى أحشاء وبراز الحيوانات ذات الدم الدافئ وعموما تشمل كائنات قادرة على إنتاج غاز من سكر اللاكتوز عند وجوده فى بيئة زراعة مناسبة عند 44.5 +/- 0.2 درجة مئوية. ونظرا لان بكتريا القولون التى من مصادر أخرى غير برازية غالبا لا تنتج غاز تحت هذه الظروف فاستعملت تلك الخاصية لتحديد بكتريا القولون التى من أصل برازي. هذا ولقد تم تعديل كلا من طريقتي أنابيب التخفيف المتعددة Multiple tube dilution technique والمرشحات الغشائية Membrane filter procedure لتشمل التحضين عند 44.5 مئوية فى اختبارات تأكيديه Confirmatory tests لحساب كثافة الكائنات البرازية. على أن طرق بكتريا القولون البرازية تشمل أيضا اختبار الأنابيب المتعددة لمدة 24 ساعة باستخدام بيئة A-1 و طريقة السبع ساعات السريعة 7-h rapid method. هذا التفريق يعطى تفاصيل قيمة نحو مصدرالتلوث فى المياه، وخصوصا ضآلته وانعزاله، لأن الجزء الغير برازي من مجموعة بكتريا القولون ربما يتوقع أن يبقى حيلمدة أطول عن الجزء البرازى وذلك تحت الظروف البيئية الغير ملائمة والمتوافرة فى المياه.

عدد البكتريا الهتيروتروفية Heterotrophic plate count ربما يقدر بطريقة الأطباق المصبوبة Pour plate ، الفرد على الأطباق Spread plate ،

أو المرشحات الغشائية Membrane filter. وهى تعطى أعداد تقريبية لكل البكتريا الحية والتى ربما تعطى تفاصيل قيمه عن نوعية المياه وربما تعطى بيانات مدعمة عن مغزى نتائج اختبار بكتريا القولون. عدد البكتريا الهتيروتروفيه مفيد للحكم على كفاءة عمليات المعالجة المختلفة وربما لها استعمال معنوي كاختبار تحكم داخل المحطة. وهو أيضا ذا قيمة لضبط نوعية المنتج النهائي من المياه فى نظام التوزيع كدليل على استعادة النمو وبناء الرواسب فى الجزء بطيء التصريف ونهايات الشبكات Dead ends.

فى حالة الشحن الجوى للعينات الغير مثلجة أظهرت الخبرة عن إمكانية ظهور تغيرات ملحوظة ربما تحدث فى نوعية أو عدد البكتريا خلال الشحن حتى لمدة محدودة من الوقت. وعلى ذلك، التبريد خلال الشحن يوصى به للحد من التغيرات، خاصة إذا كانت حرارة الجو تزيد عن 13 مئوية.

سوف نتناول طرق عزل البروتوزوا وبعض البكتريا المرضية. هذه الطرق مجهدة ومعقدة ولا يوصى بها للاستعمال الروتيني.

الاختبار البكتريولوجى الروتيني للعينات لا ينتظر منه الإمداد بكافة المعلومات عن نوعية المياه. يؤخذ فى الاعتبار دائما بالنسبة للنتائج البكتريولوجية أنها ناتجة فى ضوء التفاصيل المتاحة عن النواحي الصحية حول مصدر العينة. بالنسبة لمصدر المياه، التقييم الدقيق للنوعية يمكن أن يكون فقط عندما يتم تفسير نتائج الاختبارات المعملية فى ضوء بيانات المسح الصحي Sanitary survey. على أنه يجب أن يؤخذ فى الاعتبار أن أخذ عينة واحدة من المصدر للتحليل لا يعتد بنتائجها. وبقدر الإمكان، قاعدة التقييم لنوعية المياه تكون على أسا س جمع عدد من العينات خلال فترة زمنية معينة.

مشاكل التلوث بالنسبة للمياه المالحة والكشف عنه يتم بنجاح من خلال نفس الطرق التى تتبع مع المياه العذبة. كذلك سيتم سرد طرق اختبار المياه للفطريات والنيماتودا.

وهناك قسم سيرد فيه الطرق السريعة للكشف عن بكتريا القولون كذلك طرق الكشف عن البكتريا المضارة Stressed or injured cells والتى لم يقضى عليها أثناء المعالجة لأهميتها وللحصول على نتائج صحيحة.

وللظروف البيئية الخاصة التى تتعرض لها المياه الجوفية من ضغط وندرة الأكسجين فيمكن اختبارها للبكتريا اللاهوائية من جنس كلوستريديم Clostridium perfringens كدليل على التلوث بالإضافة الى سيدوموناس ايريوجينوزا Pseudomonas aeruginosa .

نظم وكاله حماية البيئة الأمريكية لنوعية مياه الشرب

نوعية مياه الشرب العامة فى الولايات المتحدة تنظمها وكالة حماية البيئة U.S Environmental (U.S. EPA, 1976) Protection Agency هذه النظم تحدد أقل عدد ممكن من العينات التى يجب اختبارها شهريا وتحدد أقصى عدد من بكتريا القولون (الحد الأقصى للملوث المسموح به Maximum contaminant level, MCL) / 100 ملل من المياه المنتجة نهائيا. وهى أيضا تطلب أن تجرى التحاليل فى معمل معتمد Certified (EPA, 1978). وتجرى الوكالة على فترات تعديلات فى تلك النظم.

- **العينات**

تجرى الاختبارات البكتريولوجية على عينات تجمع عند نقط ممثلة خلال نظام التوزيع. يختار تكرار ومواقع نقط العينات لتأكيد دقة تقديرات النوعية البكتريولوجية لمصدر المياه المعالجة، التى ربما تحكم جزئيا بنوعية المياه الغير معالجة وبالتالي الحاجة إلى معالجة. ويحدد أقل عدد من العينات اللازم تحليلها شهريا بحجم المجتمع الذى تمده محطة المعالجة بالمياه. ومن المهم أن تختبر عينات ممثلة من نقطه معينة، وعينات أخرى من نقط متفرقة. تؤخذ عينات خلال فترات زمنية مناسبة.

- **التطبيق Application**

فى طريقة أنابيب التخمر المتعددة Multiple-tube fermentation technique أقصى عدد مسموح به من بكتريا القولون يعبر عنه فى حجمقياسي (10 ملل أو 100 ملل) وعدد الأحجام المختبرة. غياب الغاز فى جميع الأنابيب، عند اختبار خمسة أحجام كل منها 10 ملل بطريقة أنابيب التخمر المتعددة (مساو لأقل من 2.2 عدد احتمالي MPN من بكتريا القولون فى كل 100 ملل)، عموما يبين أن عينة مفردة ينطبق عليها المواصفات القياسية. النتيجة الإيجابية لبكتريا القولون فى ثلاثة أنابيب أو أكثر (10 ملل حجم العينة) أو 5 أحجام (100 ملل حجم) يبين الحاجة الى حل سريع واختبارات إضافية. حلل عينات مكررة من المياه النهائية المعالجة من نفس الموقع والتى تظهر 3 أو أكثر موجبة كأجزاء 10 ملل بالاختبار الكامل Completed test . بالمثل ، بالنسبة لطريقة الترشيح الغشائي ، حجم الجزء القياسي 100 ملل، وحدود النوعية 1 مستعمره من بكتريا القولون/ 100 ملل، ويلزم التصرف عند حدود أكثر من 4 مستعمرة من بكتريا القولون / 100 ملل. تحليل عينات مكررة من المياه النهائية من نفس الموقع التى

باستمرار تعطى نتائج إيجابية بطريقة التأكيد Verification procedure (تم التعديل إلى ضرورة الغياب التام لبكتريا القولون).

وعلى الرغم من أن عدد البكتريا الهتيروتروفية غير مطلوب فى مواصفات وكالة حماية البيئة الأمريكية فان استعماله ربما يكون مطلوب تزامنا مع تطوير حدود العكارة.

هذه المواصفات تحدد أيضا تركيزات محددة من المكونات الكيماوية والطبيعية للمياه والمرتبطة بالأمان والاستساغة.

وضعت منظمة الصحة العالمية The World Health Organization (WHO) مواصفات قياسية عالمية لنوعية مياه الشرب (WHO, 2004) . وهى مختلفة عن مواصفات وكالة حماية البيئة الأمريكية وتم تعديلها لتطبيقها والعمل بها فى جميع أجزاء العالم.

الفصل الثانى

ضمان الجودة/ التحكم فى الجودة

Quality Assurance/Quality Control

الفصل الثاني

ضمان الجودة/ التحكم فى الجودة

Quality Assurance/Quality Control

- **اعتبارات عامة**

ازدياد الاهتمام بنوعية المياه القياسية، الإلزام، والمراقبة تتطلب إنشاء والعمل الفعال لبرنامج سلامة أو تأكيد النوعية (Quality assurance QA) ليقوى ويجسد فعالية بيانات التحليل. برنامج ضمان الجودة المعملي هو تطبيق للعمليات الضرورية لإزالة أو خفض الأخطاء التى ربما تتواجد فى العمليات المعملية، والتى تتسبب من الأشخاص، الأجهزة، الأدوات, طرق أخذ العينات، وطريقة التحليل.

البرنامج يجب أن يكون عمليا ومتكامل و يحتاج الى وقت مناسب. عندما يدار جيدا، فان برنامج متوازن لتأمين نوعية سوف ينتج بيانات متوازنة من نوعية عالية الجودة بدون تداخل مع وظائف ودلالات التحليلات الأولية للمعمل. الوصف التفصيلي لعمليات ضبط النوعية (Quality control QC) متاح (Jnhorn, 1977, and Bordner et al., 1978). وبصفة عامة، حوالي 15% من كل وقت المعمل يجب أن يقضى فى الأوجه المتعددة لبرنامج تأمين النوعية.

وعندما يدار بصورة موفقة، فان برنامج ضمان الجودة المتوازن والمنفذ بضمير سوف يجعل نوعية النتائج اقرب ما يكون الى الكمال دون التأثير على إنتاجية المعمل.

ولأن التحليل الميكروبيولوجى يقيس كائنات حية متغيرة باستمرار، فان التحليلات تكون هى الأخرى متغيرة صلبيا. على أن بعض وسائل التحكم فى لنوعية التى تستعمل بواسطة الكيميائي، مثل المراجع القياسية Reference standards معايرة الأجهزة، جداول ومنحنيات التحكم فى النوعية، ربما لا تكون متاحة للقائم بالتحليل الميكوبيولوجى Microbiologist.

ولأن برامج ضمان الجودة تختلف بين المعامل كنتيجة لاختلاف الجهات التنظيمية، المسؤوليات، والأهداف؛ حجم المعمل، القدرات، والإمكانيات؛ ومهارات الأعضاء

والتدريب، يقدموا فقط دليلا استرشاديا عاما. وبالتالي فان كل معمل عليه أن يقدر المستوى المناسب من ضمان الجودة وطبقا لهدفه.

عمليات التحكم فى النوعية داخل وخلال المعمل يجب تسجيلها، والسجلات يجب أن تكون فى المتناول للتفتيش. الخطوط الاسترشادية لتأمين النوعية، والتى ستناقش فيما يلى، أوصى بها كحد أدنى لبرنامج معمل الميكروبيولوجى.

▪ الخطوط الاسترشادية لبرنامج ضمان الجودة

Guidelines for a Quality Assurance Program

أنشئ برنامج ضمان الجودة ليتوافق مع الاحتياجات الخاصة بالمعمل ومخطط استعمال النتائج. التركيز على استعمال النتائج له أهمية خاصة عندما تكون تكاليف ومغزى القرار معتمدة على النتائج التحليلية. برنامج ضمان الجودة الفعال سيؤكد نوعية النتائج ويزيد الثقة فى النتائج.

- **مسئوليات الإدارة**

يلزم أن تدرك الإدارة الحاجة الى ضمان الجودة ، الماليات والمصادر الشخصية، افتراض الدور القيادى، واشراك الكوادر فى تطوير وتشغيل برنامج ضمان الجودة. الإدارة يجب أن تتقابل مع مشرف وهيئة المعمل لإيجاد ووضع مسئولية خاصة بالادارة، الإشراف، والقائمين بالتحليل.

- **مسئول ضمان الجودة**

فى المعامل الكبيرة مسئول ضمان الجودة لديه السلطة والمسئولية لتطبيق برنامج ضمان الجودة. مثاليا، هذا الشخص يجب أن يكون ذا مركز يتيح له الاتصال بالإدارة العليا لنقل التقارير إليها. مسئول ضمان الجودة يجب أن تعليمه عمليا Technical education، مطلع على كل النواحي المعملية، وعلى علم بالطرق الإحصائية لتقييم النتائج. مسئول ضمان الجودة يقوم على إدخال البرنامج، إقناع الأعضاء بأهميته، وتقديم المعلومات الضرورية والتدريب لكل أعضاء المعمل. وبمجرد أن أصبح البرنامج فعال، المنسق Coordinator يجرى مراجعة متكررة (أسبوعية أو شهرية) مع مشرف وأعضاء المعمل لتقدير الحالة الحالية والإنجازات من البرنامج ولتحديد المشكل وحلولها. مسئول ضمان الجودة يقدم تقارير دورية للإدارة ليكون هناك مردود لا صلاح المشاكل التى تضر بنوعية النتائج.

- **الأعضاء Staff**

أعضاء المعمل وخارجه فى ال Field يشتركوا مع الإدارة فى تخطيط برنامج ضمان الجودة ، تحضير طرق التشغيل القياسية، والأهم، تطبيق برنامج ضمان الجودة فى أعمالهم اليومية من تجميع العينات، إجراء التحاليل، إجراء مراجعة عن إجراء التحكم فى النوعية، حساب وإعداد تقرير بالنتائج. ولأن الأعضاء هم أول من يرى المشاكل القوية، فانه يلزم أن يوصفوها ويعملوا مع المشرف على إصلاحها ومنعها. ومن الأمور الخطيرة لإنجاح برنامج ضمان الجودة أن يفهمه الأعضاء ويدعموه بنشاط.

- **أهداف برنامج ضمان الجودة**

Quality Assurance Program Objectives

أهداف برنامج ضمان الجودة يشمل الإمداد بالنتائج من نوعية معروفة، تأكيد نوعية جيدة من الاداء المعملي، إقامة تقييم مستمر للعمليات المعملية، تحديد نقاط الضعف فى العمليات المعملية، مراعاة الاحتياج الى التدريب وتحسين التوثيق Documentation والاحتفاظ بالسجلات.

▪ الخطوط الاسترشادية للتحكم فى النوعية خلال المعمل

Intra-laboratory Quality Control Guidelines

جميع المعامل لها ومن خلالها بعض عمليات التحكم فى الجودة والتى تستنبط من الفطرة السليمة

Common sense وأسس التجارب المحكومة. وبرنامج التحكم فى الجودة يستخدم التطبيقات الضرورية لتقليل الأخطاء العشوائية والنظامية والتى تنشأ عن الأشخاص ، الأجهزة ، استخدام الآلات

Instrumentation ،الأدلة Reagents ، التجهيزات، طرق جمع العينات وتحليلها، تداول النتائج، ووضع النتائج فى تقارير. توجد مشاكل خاصة فى الميكروبيولوجى لأن التحاليل القياسية، الإضافات المعروفة، والعينات المرجعية عادة ليست متاحة. وعلية فإن الحكم الشخصي مطلوب أكثر.

جميع العوامل، من جمع العينات وخلال تسجيل البيانات، والتى من الممكن أن تؤثر على النتائج يجب أن يحكمها برنامج فعال. وتشمل العوامل طريقة جمع العينات، تخزين العينات ووسائل حفظها، الأشخاص، الأجهزة، الأدوات، البيئات، وطرق التحليل. وهناك أهمية خاصة للمعامل التى تجرى عدد محدود من الاختبارات الميكروبيولوجية والتى يجب أن تمارس برنامج صارم للتحكم فى الجودة. هذه الخطوط الاسترشادية سوف تساعد المعامل فى إنشاء وتطوير برامج اضمان الجودة. ومن المفروض أن تهتم المعامل بكل الخطوط الاسترشادية التى ستناقش، ولكن العمق والتفاصيل ربما تختلف من معمل الى آخر. والجدول التالى يشرح بعض من تلك الخطوط بإختصار. والتى من المهم الالتزام بها.

الفصل الثالث

عـــــناصـــر برنـامج التحـكم فى الجـودة

Elements of Quality Assurance Program

الفصل الثالث

عناصر برنامج التحكم فى الجودة

Elements of Quality Assurance Program

1) الأشخاص Personnel

مثاليا، الاختبارات البكتريولوجيه يجب أن تجرى بواسطة ميكروبيولوجى أو فنى Technician محترف. اذا كان ذلك غير ممكنا، استعن بميكروبيولوجى للاسترشاد.

يجب أن يحدد الواجب بوضوح. يدرب ويقيم الشخص القائم بالتحاليل على أسس الطرق المعملية. يجب أن يراجع المشرف وعلى فترات طرق جمع العينات والتعامل معها، تجهيز البيئات والأدوات الزجاجية، التعقيم، الطرق الروتينية فى التحليل، العد، تداول النتائج، وطرق التحكم فى الجودة لتحديد والحد من المشاكل. يجب أن تشجع الإدارة أفراد المعمل على حضور دورات تدريبية لصقل المهارات والمعلومات.

2) التسهيلات Facilities

- **التهوية Ventilation**

يخطط على أساس أن تكون المعامل جيدة التهوية مع إمكانية أن تبقى خالية من الأتربة، التيارات الهوائية Drafts ، والتغيرات الحادة فى درجة الحرارة. عندما يكون متاحا، يوصى بتوفير التكييف المركزي لخفض إمكانية التلوث، ثبات عمل الحضانات Incubators، الإقلال من مشاكل الرطوبة مع الأجهزة والبيئات.

- **استغلال الفراغ Space utilization**

صرمم وشغل المعمل مع الحد تماما من الممرات والزوار. يجب توفير مساحة منفصلة لتحضير وتعقيم البيئات، الزجاجيان، والأدوات. تستعمل مساحة عمل خاصة مثل كابينة التهوية بالاندفاق السطحي Vented laminar-flow hood لتوزيع وتحضير البيئات المعقمة، نقل المزارع البكتيرية، أو العمل بمواد ممرضة. فى المعامل الصغيرة ربما يكون ضروريا، على الرغم من أنه غير مرغوب، أن تجرى هذه الأنشطة فى نفس الغرفة.

- **مساحة منضدة العمل فى المعمل Laboratory bench area**

يجب توفير 2 متر على مناضد العمل لكل فرد يقوم بالتحاليل ومساحة إضافية للتحضير والأنشطة المساعدة. للعمل وقوفا، منضدة العمل تكون أبعادها 90-97 سم ارتفاع و 70 -76 سم عمق. وللأنشطة التى تمارس جلوسا مثل العد والفحص الميكروسكوبى فان المنضدة تكون 75-80 سم ارتفاع. وبالنسبة لسطح المنضدة يكون من الاستنلس ستيل، بلاستيك ابوكسى ، أو غيرها من الأسطح الملساء، الغير منفذه وتكون خاملة Inert , ومقاومة للتآكل وبها أقل عدد من الشقوق Seams. تركب عند أسطح العمل Working surface مصدر إضاءة غير ساطعة (مبهرة) قوتها حوالي 1000 شمعة Lux.

- **الحوائط والأراضي Walls and floors**

تأكد أن الحوائط تكون مغطاة بطلاء ناعم من السهل تنظيفه وتطهيره. الأراضي تكون من أسمنت ناعم مانع للتسرب، فينيل، قرميد أسفلتى Asphalt tile أو أى سطح غير منفذ سهل غسيله

- **مراقبة منطقة العمل Work- area monitoring**

يحافظ على مستوى عالي من النظافة فى دائرة العمل. راقب الهواء شهريا على الأقل، باستعمال أطباق لمعرفة كثافة البكتريا Air density plates واختبر سطح منضدة العمل Bench أسبوعيا باستعمال أطباق روداك RODAC plates أو باستخدام المسحات Swab method (Greenberg et al., 1967).عدد المستعمرات على

أطباق تقدير الكثافة فى الهواء لا يجب أن يزيد عن 160 مستعمرة فى المتر المربع خلال 15 دقيقة تعرض (15 مستعمرة / طبق/15 دقيقة). وبالنسبة لسطح منضدة العمل يحدد مستوى معين لتواجد البكتريا حسب كل معمل ويتخذ أجراء إذا زاد العدد عن هذا الحد.

- **نظافة المعمل Laboratory cleanliness**

تنظف غرف المعمل وتغسل المناضد Benches، الأرفف، الأرضية والشبابيك دوريا. تمسح الأرض بممسحة مبللة وتعالج بمحلول مطهر؛ لا تكنس ولا تستعمل ممسحة جافة. يمسح سطح منضدة العمل ويعالج بمطهر قبل وبعد الاستعمال. لا يسمح بان يكون المعمل يعوزه النظام

3) أدوات واجهزة المعمل Laboratory Equipment and Instruments

تأكد أن كل نوع من الأدوات يتطابق مع احتياجات المستعمل للدقة ولتقليل التحيز والتحامل. تجرى عمليات صيانة الأجهزة على أساس منتظم وكما يوصى المنتج أو يجرى عقد صيانة للاوتوكلاف، الموازين، الميكروسكوبات، والمعدات والأجهزة الأخرى طالما كان ذلك اقتصادي. وتسجل عمليات ضبط جودة النوعية فى سجل ثابت. استعمل الطريقة التالية للتحكم فى الأجهزة:

- **الترمومتر/ وسائل تسجيل الحرارة**

Thermometer/temperature-recording instruments

أضبط دقة الترمومترات أو أدوات التسجيل كل 6 شهور باستعمال ترمومتر معتمد National Institute of Standards and Technology (NIST) thermometer. , للأغراض العامة استعمل ترمومترات مدرجة بأجزاء 0.5 درجة أو أقل.

وبالنسبة لحمام المياه عند 44.5 درجة مئوية، استعمل ترمومتر مغمور مدرج إلى 0.2 درجة مئوية أو أقل. سجل نتائج الضبط. ابقى على الترمومتر فى دورق محكم بسدادة مملوء بماء أو جليسرين فى حالة الحضانات الهوائية والثلاجات ومملوء بجليسرين بالنسبة للفريزر. أشر تصحيحات التدريج طبقا للترمومتر القياسي NIST بالنسبة لكل ترمومتر مستعمل فى حضانة، ثلاجة، أو فر يزر. عندما يكون ممكنا، وصل الحضانات وحمامات المياه بمسجل لدرجة الحرارة يعمل باستمرار لتسجيل الحرارة التى تتم عليها التجارب

- **الميزان Balance**

اتبع تعليمات المصنع فى التشغيل والصيانة الروتينية وذلك بالنسبة لموازين التحميل العلوي Top-loading. يلزم إجراء الخدمة الروتينية والعادة المعايرة سنويا أو أطول حسب تغير الحالة آو حدوث مشاكل وذلك بواسطة فنى من قبل المصنع. نظف الميزان قبل وبعد أى استخدام باستخدام فرشة ناعمة ويفضل المصنوعة من شعر الجمل. نظف كفة الميزان بعد كل استخدام وتزال بقايا المواد التى تسقط باستخدام نسيج معملي Lab. tissue. إذا كان الميزان يستخدم معه صنج يتم تداولها باستخدام ملقط ذا طرف بلاستيكي ويجب استبعاد الصنج التى حدث فيها تآكل أو صدأ. ويتم معايرة الصنج شهريا باستخدام صنج قياسية. لوزن 2 جرام أو أقل، استعمل ميزان بحساسية أقل من 1 ملليجرام عند حمل قدره 10 جرام. لكميات أكبر، استعمل ميزان بحساسية 0.1 جرام عند حمل 150 جرام.

KEY QUALITY CONTROL PRACTICES

Item	Action	Frequency
Reagent water	Monitor quality	
Bench surface	Monitor for contamination	Weekly
Air in work place	Monitor bacterial density	Monthly
Thermometers	Check accuracy	Semiannually
Balances and weights	Check accuracy	Monthly
Balances	Service and recalibrate	Annually
pH meter	Standardize Check against another meter	Each use Monthly
Media– dispersing apparatus	Check volume accuracy	Each use
Hot air oven	Check performance	Monthly
Autoclave	Check performance	Each use
Refrigerator	Check temperature	Daily
Freezer	Check temperature Defrost	Daily Semiannually
Membrane filtration equipment	Check for leaks and surface scratches	Each use
UV lamps	Test with UV meter	Quarterly
Biohazard hood	Monitor air and UV lamps Inspect for air flow	Monthly Quarterly
Incubator	Check temperature	Twice daily
Microscope	Clean optics and stage	Each use
Glassware	Inspect for cleanliness, chips, and etching Check pH Conduct inhibitory residue test	Each use Each batch Annually
Dilution water bottles	Check pH and volume	Each use
Media	Check pH and appearance	Each use
Autoclave	Check performance	Weekly
Plate counts	Perform duplicate analyses Repeat counts	Weekly Monthly

- **مقياس الأس السالب لتركيز أيون الأيدروجين pH meter**

قبل كل سلسلة من الاختبارات يستعمل جهاز قياسي مع محلولين حياديين قياسيين Standard buffers عند pH 4 ،7 أو 10 وتعوض أو تكافىء الحرارة. المحاليل القياسية الحيادية التى تم فتحها يكتب عليها تاريخ الفتح وتضبط شهريا باستعمال جهاز آخر لقياس pH. يفضل استخدام pH meter رقمي Digital.

- **نظام تنقية المياه Water purification system**

توجد نظم تجارية كثيرة لتنقية المياه وهى عبارة عن وحدات مركبة تقوم بإجراء ترشيح مبدئي Prefiltration ، معالجة بالكربون المنشط Activated carbon المنشط خليط من الراتنجات Mixed bed resins ، تناضح عكسي Reverse osmosis مع استخدام خطة ترشيح نهائي Final filtration لإنتاج Reagent grade water. عمر أى نظام يمكن أن يمتد أكثر إذا كان المصدر من مياه مقطرة أو ناتجة عن معالجة بالتناضح العكسي لإزالة المواد الصلبة الذائبة. نظم المعالجة تميل الى إنتاج نفس النوعية من المياه حتى قرب انتهاء فعل الراتنج أو الكربون المنشط Near exhaustion وعندئذ تصبح النوعية على نحو غير مقبول. بعض مكونات إزالة الأيونات Deionization components متاحة الآن والتى تستطيع أن تعيد تنشيط Regenerate راتنجات إزالة الأيونات Ion exchange resin أوتوماتيكيا.

لا تخزن Reagent grade water إلا بعد تركيب وحدة أشعة فوق بنفسجيه Ultraviolet unit ويكون لها القدرة على إبقاء المياه معقمة.

راقب المياه الناتجة باستمرار أو يوميا بمقياس التوصيل الكهربي Conductivity meter والتحليل، سنويا على الأقل، للعناصر النادرة. تستبدل الخرطوشة على فترات يوصى بها الجهة المصنعة (وهذا يعتمد على مدى الاستعمال ونوعية المياه المستخدمة) أو كما يتضح من نتائج التحليل. إذا كان مرغوبا الحصول على مياه خالية من البكتريا، رشح المياه المنتجة خلال مرشح غشائي Membrane filter قطر ثقوبه 0.22 مبكرون لإزالة التلوث البكتيري.

- **المياه المقطرة Still water**

أجهزة التقطير تنتج مياه من الدرجة الجيدة والتى تتدنى خواصها ببطيء مع الوقت بحدوث التآكل، الارتشاح، التلوث Corrosion, leaching, and fouling. هذه الحالات يمكن التحكم فيها بالصيانة المناسبة والتنظيف. التقطير يزيل بكفاءة المواد الذائبة ولكن لا يزيل الغازات الذائبة أو المواد العضوية المتطايرة . المياه المقطرة حديثا ربما تحتوى على كلور وأمونيا (NH3). مع التخزين، يحدث امتصاص لزيادة من الأمونيا وثاني أكسيد الكربون من الهواء. استعمل مياه ميسرة Softened water كمصدر للمياه للاقلال من تكرار تنظيف جهاز التقطير. افرغ المياه Drain ونظيف جهاز التقطير والخزان طبقا لتعليمات المصنع والاستخدام.

- **وحدات التناضح العكسي Reverse osmosis units (RO)**

تتركب وحدات التناضح العكسي التجارية من مرشحات مبدئية وخراطيش تناضح عكسي تباع كنظم لتنقية المياه. هذه الوحدات تزيل حوالي 90% فقط من الشوائب، وبالتالي لا تستعمل مياه التناضح العكسي فى التحاليل الميكروبيولوجيه. الاستخدام الأكبر لوحدات التناضح العكسى يكون لتنظيف المياه قبل إزالة الأيونات أو التقطير. دمج الترشيح المبدئي ، التناضح العكسي وراتنجات المبدلات الأيونية Ion-exchange resin يوصى به فى الوحدات التجارية.

- **وسائل توزيع البيئات Media dispensing apparatus**

أضبط دقة الحجوم الموزعة بوحدة التوزيع باستخدام مخبار مدرج مع كل بداية لتغيير الحجوم ودوريا خلال العمل الطويل. إذا كانت الوحدة تستخدم أكثر من مرة خلال اليوم، ضخ حجم كبير من المياه Reagent grade خلال الموزع للشطف. أصلح التسريبات Leaks، الوصلات الغير محكمة، أو ذات الأداء السيئ مباشرة. مع نهاية العمل اليومي، فك الجهاز إلى أجزاء، أغسل، أشطف بمياه من نوعية Reagent water وجفف. شحم Lubricateالأجزاء طبقا لتعليمات المصنع أو على الأقل مرة كل شهر.

- **فرن الهواء الساخن Hot-air oven**

اختبر الأداء كل 3 شهور باستخدام المتاح سواء شريط الجراثيم أو معلق الجراثيم Spore strips or spore suspensions (Bacillus.subtilis). راقب درجة الحرارة بترمومتر دقيق عند مجال 160 – 180 مئوية وسجل النتائج. استعمل أشرطة بيان الحرارة Heat-indicating tape لبيان صحة عملية التعقيم لأى مواد تعرض لحرارة التعقيم.

- **الأوتوكلاف Autoclave**

سجل الأشياء المعقمة، الحرارة، الضغط والزمن لكل دورة. استعمل ترمومتر بجهاز تسجيل. أضبط حرارة التشغيل أسبوعيا (أقل/ أقصى) بترمومتر. اختبر الأداء شهريا بشريط أو معلق الجراثيم المشار إليه سابقا. استعمل شريط بيان الحرارة لمعرفة المواد التى تم تعقيمها (عن طريق تغير لون الشريط).

- **الثلاجات Refrigerators**

اكشف عن وسجل درجة الحرارة يوميا ونظف الثلاجة شهريا. صنف وأكتب التاريخ على المواد المخزنة فى الثلاجة. يسال الثلج المتكون فى الثلاجة كلما احتاج الأمر وتخلص من المواد المخزنه التى تخطت فترة التخزين كل 3 شهور.

- **الفريزر Freezer**

اختبر وسجل الحرارة يوميا. من المرغوب استخدام ترمومتر بمسجل مع نظام إنذار Alarm. صنف واكتب التاريخ على المواد المخزنه. يسال الثلج المتكون وينظف الفريزر كل 6 شهور. تخلص من المواد التى تخطت فترة التخزين.

- **جهاز الترشيح الغشائي Membrane filtration equipment**

قبل الاستعمال، ركب الجهاز واختبره للتسرب. استبعد الوحدات إذا خدش السطح الداخلي. أغسل واشطف الجهاز جيدا بعد الاستخدام، لف الجهاز فى ورق كرافت غير سام أو فى ورق ألومنيوم أو ضعه فى وعاء غير متآكل وعقم فى الأوتوكلاف.

- **لمبات التعقيم بالأشعة الفوق بنفسجية Ultraviolet sterilization lamps**

تفك الوحدة شهريا وتنظف اللمبات باستعمال قطعة فماش مبللة بكحول الايثانول. تختبر اللمبة شهريا بجهاز قياس الأشعة الفوق بنفسجية وتستبدل إذا كانت تشع أقل من 70% من أصل قوتها أو إذا عرضت لها مياه ذات محتوى من الكائنات الدقيقة يتراوح بين 200 – 250 مستعمرة ولم يتم خفضها بواقع 99% خلال دقيقتين من التعرض للأشعة.

* تحذير: على الرغم أن الأشعة فوق البنفسجية ذات الموجات القصيرة (254 نانومتر) معروف أنها أكثر خطورة من تلك ذات الموجات الطويلة (365 نانومتر) ، كلا النوعين يمكن أن يضر العين والجلد وهى مسرطنه قويه (Schmitz et al., 1994). احم عينيك والجلد من التعرض للأشعة الفوق بنفسجية.

- **كابينة الأمان Biohazard hood**

اكشف على الفلاتر شهريا للانسداد ونظفها أو استبدلها حسب الحاجة. عرض شهريا أطباق من الآجار Plate count agar للهواء المنساب من الكابينة لمدة ساعة. حضن الأطباق عند 35 درجة مئوية لمدة 48 ساعة واختبر للتلوث (لا نمو على البيئة إذا كانت الكابينة تعمل جيدا). فك لمبات الأشعة الفوق بنفسجية ونظفها شهريا بقماش مبلل بكحول الايثانول. اكشف عن كفاءة اللمبات بقياس قوة الإشعاع الناتج كما هو مبين سابق. اختبر الكابينة للتسرب ومعدل انسياب الهواء كل 3 شهور. استعمل وسيلة مراقبة الضغط لقياس كفاءة أداء الكابينة. استعمل الكابينة ذات الفلاتر من النوع HEPA. الصيانة كما يرد فى كتالوج المصنع.

- **حضانة الحمام المائي Water bath incubator**

تأكد من أن حضانة الحمام المائي تعطى حرارة الاختبارات عند درجة 35 +/- 0.5 مئوية أو 44.5 +/- 0.2 مئوية. احتفظ بترمومتر مناسب مغموس فى الحمام المائي ، راقب وسجل الحرارة يوميا (صباحا وبعد الظهر) إلا إذا استعمل ترمومتر متصل بمسجل مع نظام إنذار. استعمل فقط حوامل أنابيب المصنعة من معدن مغطى بالبلاستيك، الاستنلس ستبل، أو آي مواد مقاومة للتآكل والصدأ. ويفضل الحمام ذا الغطاء ألجما لونى. نظف الحمام كلما احتاج الأمر.

- **الحضانة بالهواء أو المياه Incubator (air or water jacketed)**

تأكد أن الحضانة تعطى حرارة التحضين المطلوبة. أكشف وسجل الحرارة مرتين يوميا (صباحا وبعد الظهر). إذا استعمل ترمومتر زجاجي ، يغمس خزان الزئبق والساق فى ماء أو جليسرين إلى علامة الساق. لأفضل النتائج استعمل ترمومتر متصل بمسجل مع نظام إنذار. ضع الحضانة فى منطقة حرارتها ما بين 16 إلى 27 درجة مئوية.

- **الميكروسكوبات Microscopes**

استعمل ورق خاص Lens paper لتنظيف العدسات والمسرح Stage بعد كل استعمال. غط الميكروسكوب فى حالة عدم الاستخدام. اسمح فقط للفنى المدرب باستعمال الفلورسنت ميكروسكوب Fluorescence microscope . راقب لمبة الميكروسكوب بمقياس للضوء واستبدلها عند حدوث فقد معنوي فى إشعاعها. سجل استعمال اللمبة الكفاءة.

4) تجهيزات المعمل Laboratory Supplies

- **الزجاجيات Glassware**

قبل كل استعمال، اختبر الزجاجات وبصفة خاصة اختبر زجاجات التخفيف ذات الغطاء القلاووظ Screw-capped والدوارق واستبعد كل ما هو ذا حافة مشطوفة أو سطح داخلي مخدوش. مثل هذه الحالة يمكن أن تتسبب فى تسرب السوائل وتلوث منطقة العمل أو ينتج عنها رذاذ. افحص تواجد فقاعات مياه فى الزجاجات بعد الغسيل فيعاد غسلها.

اجر الاختبارات التالية على الزجاجات النظيفة حسب ضروراتها:

- **مراجعة تركيز الأس السالب لتركيز أيون الأيدروجين pH**

بعض محاليل التنظيف من الصعب إزالتها بالكامل,تراجع بعض من الزجاجات النظيفة للأس السالب لتركيز أيون الأيدروجين, خاصة إذا كانت تنقع فى حامض أو قلوي.
لاختبار الزجاجيات لبقايا القلوي أو الحامض أضف بضع قطرات من محلول 0.4 % من الدليل بروموثيمول بلو Bromothymol blue (BTB) أو أى دليل آخر ولاحظ اللون. BTB يكون لونه أزرق – مخضر فى الوسط التعادل.

لتحضير محلول 0.4% من دليل بروموثيمول بلو، أضف 16 ملل من محلول 0.1 عياري من الصودا الكاوية الى 0.1 جرام BTB وخفف إلى 250 ملل بمياه Reagent water.

- **اختبار بقايا المواد مانعة النمو Inhibitory substances**

على الزجاجيات والبلاستيكات – بعض المواد الناشرة Wetting agents أو المنظفات Detergents التى تستعمل فى غسيل الزجاجيات ربما تحتوى على مواد تعيق النمو Bacteriostatic أو تمنع النمو Bactericidal وتحتاج لإزالة الآثار منها وتأمين الخلو منها الى الشطف 6-12 مرة. أجر ذلك الاختبار سنويا وقبل استعمال نوع جديد من المنظفات. إذا استعملت البلاستيكات سابقة الغسيل أو التعقيم يجب اختبارها لبقايا المواد المانعة للنمو حسب الطريقة التالية والتى يمكن استعمالها فى اختبار الزجاجيات أيضا

الطريقة:

- اغسل واشطف 6 أطباق بترى طبقا لما هو معتاد فى المعمل ويطلق عليها المجموعةA.
- اغسل 6 أطباق بتري كما سبق، اشطف 12 مرة بأجزاء متتالية من Reagent water واطلق عليها المجموعة B .
- أشطف 6 أطباق بتري بماء غسيل به منظف (بالتركيز المستعمل) جففها بدون شطف إضافي واطلق عليها المجموعة C .
- عقم أطباق المجموعات A, B, C بالطريقة العادية.
- لاختبار البلاستيكات سابقة التعقيم ، خذ 6 أطباق بلاستيك معقمة واطلق عليها المجموعة D وأكمل.
- حضر وعقم 200 ملل من بيئة Plate count agar واحفظها فى حمام مائي عند 46 درجة مئوية.
- حضر مزرعة من بكتريا E. aerogenes محتوية على 50 – 150 وحدة تكوين المستعمرات Colony forming unit واختبرها للعدد قبل الاستعمال. احقن 3 أطباق من كل من المجموعات A إلى D بمقدار 1 ملل من المزرعة البكتيرية والثلاث أطباق الأخرى احقنها بمقدار0.1 ملل وطبق الطريقة المشروحة لعد البكتريا الهتيروتروفية مع التحضين عند 35 درجة مئوية لمدة 48 ساعة.

تفسير النتائج Interpretation of results

النتائج الاختلاف فى متوسط الأعداد فى أطباق المجموعات من A إلى D يجب أن يكون أقل من 15% إذا لم يكن هناك تأثير سام أو قاتل. الاختلافات فى متوسط الأعداد أقل من 15% بين المجموعات A و B وأكبر من 15% بين المجموعات A و C يدل على أن المنظف له صفة القتل والذي حد منها خلال الغسيل الروتيني. الخلاف بين B و D أكبر من 15% يظهر تواجد متبقيات قاتلة للبكتريا.

- **الأواني والحاويات لتحضير البيئات Utensils and containers for media preparation**

استعمل الأواني والحاويات من زجاج البوروسيليكات Borosilicate ، ستينلس ستيل ألومنيوم أو غيرها من المواد المقاومة للتآكل. لا تستعمل الأواني النحاسية

- **المياه من النوعية Reagent grade**

نوعية المياه المتحصل عليها من نظم تنقية المياه تختلف حسب النظام المستخدم وصيانته.
الحدود المقبولة لنوعية المياه المنقاة والتى تستعمل فى الاختبارات
الميكروبيولوجية Reagent grade تظهر فى الجدول

QUALITY OF REAGENT WATER USED IN MICROBIOLOGY TESTING

Test	Monitoring Frequency	Limit
Chemical tests:		
Conductivity	Continuously or with each use	> 0.5 megohms resistance or < 2 µmhos / cm at 25 ° C
pH	With each use	5.5-7.5 mg/l
Total organic carbon	Monthly	< 1.0 mg/l
Heavy metals, single (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn)	Annually*	< 0.05 mg/l
Heavy metals total	Annually*	≤ 0.1 mg/l
Ammonia / organic nitrogen	Monthly	< 0.1 mg/l
Total chlorine residual	Monthly or with each use	< 0.01 mg/l
Bacteriological tests:		
Heterotrophic Plate Count	Monthly	< 1000 cfu/mL
Water quality test	Annually and for a new source	0.8 -3 ratio
Use test	3 months	Student's t ≤ 2.78

*Or more frequently if there is a problem.

إذا لم تتطابق خواص المياه مع الحدود المذكورة يبحث المسبب ويصحح الوضع. على الرغم من ذلك فان قياس pH المياه المنقاة وإعطاء قراءات منحرفة جدا فان ذلك يعد دليل على التلوث الكيميائي.

- **إختبار للنوعية البكتريولوجيه للمياه**

من النوعية Reagent grade النوعية الاختبار يعتمد على نمو البكتريا انتيروباكتر ايروجنز Enterobacter aerogenes فى بيئة بها أقل المواد المدعمة للنمو Minimal growth medium. وجود مادة سامة أو مادة مشجعة للنمو سوف يؤثر على المجتمع البكتيري الناتج بعد 24 ساعة بالزيادة أو النقص بمقدار 20 % أو أكثر عند المقارنة بالكنترول . يجرى الاختبار سنويا على الأقل إذا كان مصدر المياه من النوعية Reagent grade قد تغير، وعندما يكون هناك مشكلة تحليلية.

الاختبار معقد، ويحتاج إلى مهارة وخبرة، وهو أيضا غير سهل الإجراء. يحتاج إلى أكثر من 4 أيام ، ومياه فائقة النقاء Ultrapure ككنترول، دلائل عالية النقاء، ونظافة فائقة للدوارق المستعملة، أطباق البترى، أنابيب الاختبار، الماصات وغيرها. الاختبار حساس جدا للمواد السامة ولا يمكن أن ينتمي مباشرة إلى التحليل الروتيني.

المواد والأدوات Apparatus and material

استعمل الزجاجيات من نوع البوروسيليكات Borosilicate واشطف بماء معاد تقطيره Redistilled فى جهاز تقطير زجاجي معقم فى فرن قبل استخدامه ؛ التعقيم بالبخار سوف يعيد تلوث تلك الأدوات المنظفة بطريقة خاصة. حساسية الاختبار يعتمد جزئيا على نظافة زجاجة العينة، الدوارق، الأنابيب، والماصات، ومن المناسب استخدام زجاجيات جديدة. استخدم اى سلالة من بكتريا القولون تعطى نتائج اختبارات IMViC + + - - (E. aerogenes) يتحصل عليها من عينة مياه أو مخلفات سائلة.

الأدلة Reagents

استعمل فقط الأدلة والكيماويات من النوعية ACS. حساسية الاختبار محكومة بنقاء الدليل. حضر الأدلة فى ماء معاد تقطيره حديثا من جهاز تقطير زجاجي.

- **محلول سترات الصوديوم Sodium citrate solution: أذب 0.29 جرام سترات الصوديوم Na3 C6 H6 O7 – 2 H2O فى 500 ملل ماء.**
- **محلول كبريتات الأمونيوم Ammonium sulfate solution**: أذب 0.26 جرام كبريتات الأمونيوم (NH4)2 SO4 فى 500 ملل ماء.
- **محلول مخلوط الأملاح Salt-mixture solution** : أذب 0.26جرام كبريتات ماغنسيوم MgSO4 .7 H2 O; 0.17 جرام كوريد كالسيوم CaCl2 .2H2O; 0.23 جرام كبريتات الحديدوز Ferrous sulfate FeSO4 .7H2O؛ 2.5 جرام كلوريد صوديوم NaCl فى 500 ملل ماء.
- **محلول الفوسفات المنظم Phosphate buffer solution**: الرصيد من المحلول Stock solution

يحضر بإذابة 34 جرام بوتاسيوم فوسفات ثنائي الأيدروجين KH2 PO4 فى 500 ملل ماء مقطر ويضبط pH عند 7.2 +/- 0.5 باستعمال محلول 1 نورمال من الصودا الكاوية ويخفف إلى 1 لتر بماء مقطر. أضف 1.25 ملل، 5 ملل محلول كلوريد الماغنسيوم (8.1 جرام MgCl2 . 6 H2O فى اللتر من الماء المقطر) إلى لترمن الماء المقطر. يخفف هذا بنسبة 1 : 25 فى ماء

اغلي كل محاليل الأدلة 1 إلى 2 دقيقة لقتل الخلايا الخضرية. خزن المحاليل فى زجاجات معقمة وتحفظ فى الظلام عند 5 درجة مئوية لبضع أشهر مع اختبار تعقيمها قبل كل استعمال. ولنشوء بعض العكارة خلال 3 – 5 أيام لتحلل الحديدوز إلى حد يديك حضر مخلوط الأملاح بدون الحديدوز للتخزين الطويل. ولاستعمال الخليط، أضف الكمية المناسبة أملاح الحديد المحضرة والمغلية حديثا. تخلص من المحاليل عالية العكارة وحضر محاليل حديثة. تخلص من محلول الفوسفات المنظم إذا اصبح عكر.

العينات

لتحضير عينات الاختبار اجمع 150 إلى 200 ملل Reagent water وكنترول ماء (مياه معادة التقطير) فى دورق من زجاج البوروسليكات المعقم ويغلى لمدة 1 إلى 2 دقيقة. تجنب الغليان الطويل لمنع التغيرات الكيميائية.

الطريقة

- خذ 5 دوارق أو أنابيب وأشر عليها بحروف من A إلى E. أضف عينات مياه، دلائل بيئات Media reagents وماء معاد تقطيره إلى كل دورق كما هو مبين فى الجدول التالي.

REAGENT ADDITIONS FOR WATER QUALITY TEST

Media Reagents	Control Test mL		Optional Tests mL		
	Control A	Test Water B	Carbon/ Nitrogen Available C	Nitrogen Source D	Carbon Source E
Sodium citrate solution	2.5	2.5	–	2.5	–
Ammonium sulphate solution	2.5	2.5	–	–	2.5
Salt – mixture solution	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Phosphate buffer (7.3 ± 0.1)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Unknown water	–	21.0	21.0	21.0	21.0
Redistilled water	21.0	–	5.0	2.5	2.5
Total volume	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0

- أضف معلق من بكتريا E. aerogenes بحيث أن كل دورق يحتوى من 30 – 80 خلية / ملل. كثافة الخلايا أقل من هذا المجال يؤدى إلى نسب متناقضة inconsistent بينما أعلى من 100 خلية /ملل يؤدى إلى نقص الحساسية للمغذيات فى المياه المختبرة. اعرف العدد الأصلي Initial count باستعمال 3 مكررات كل عبارة عن 1 ملل من كل

دورق محقون بالبكتريا ويضاف إلى كل بيئة Plate count agar . حضن الدوارق من A إلى E عند 35 مئوية لمدة 24 ساعة +/- 2 ساعة. اجر عد نهائي للبكتريا من كل دورق، باستعمال تخفيفات 1، 0.1 ، 0.01، 0.001، 0.0001 ملل.

- تحضير معلق البكتريا- فى اليوم السابق لعمل اختبار مدى مناسبة المياه المقطرة، احقن سلالة من انتيروباكتر ايروجنز على آجار مغذى مائل Nutrient agar slant بحيث يعطى سطح طوله حوالي 6.3 سم ويتم ذلك فى أنابيب بغطاء قلاووظ مقاس 125- X 16- مم . تحقن الأنابيب لتعطى فيلم متصل على سطح الآجار وتحضن 18 – 24 ساعة عند 35 مئوية.

- حصد الخلايا الحية Harvesting of viable cells - خذ بالماصة 1 إلى 2 ملل من مياه التخفيف المعقمة (Water blank) وأضفه على المزرعة السابقة التى عمرها 18 – 24 ساعة.

- اعمل معلق من النمو على سطح الأنابيب ذات الآجار المائل بكحت فيلم البكتريا بهدوء باستعمال ماصة، مع عدم جرح الآجار، وخذ المعلق بماصة واضفه إلى 99 -ملل من الماء العقيم Blank .

- تخفيف معلق البكتريا Dilution of bacterial suspension البكتريا اعمل تخفيف 1 : 100 من الزجاجة الأصلية فى ماء عقيم ثاني، وتخفيف 1: 100 آخر من الزجاجة الثانية فى ماء عقيم ثالث، ثم يعمل تخفيف 1 : 10 من الزجاجة الثالثة فى ماء عقيم رابع ، رج بشدة بعد كل نقلة. بماصة أضف 1 ملل من التخفيف الرابع (1 : 100000) فى كل دورق من A إلى E. وهذه الطريقة تنتج التخفيف النهائي للبكتريا فى المجال 30 إلى 80 خلية حية / ملل من محلول الاختبار.

- تأكيد كثافة البكتريا Verification of bacterial densityالبكتريا الاختلافات بين السلالات من نفس الكائن، والكائنات المختلفة، البيئات، ومساحة السطح للآجار المائل من الممكن أنها سوف تحتم ضبط طريقة التخفيف للوصول إلى مجال كثافة محدد ما بين 30 – 80 خلية حية من الكائن الدقيق. للحصول على مجال النمو المطلوب عدديا لكائن معين، اجر سلسلة من العد البكتيري Plate counts من التخفيف الثالث لتقدير كثافة البكتريا. اختار الحجم المناسب من هذا التخفيف الثالث.، الذي، عندما خفف بثلاثين ملل فى الدوارق A إلى E سوف يحتوى 30 إلى 80 خلية حية / ملل.

مصاعب الطريقة Procedural difficulties

– المشاكل فى هذه الطريقة ربما ترجع إلى تخزين عينة الماء فى أواني زجاج ضعيف soft-glass ضعيف أو فى آواني زجاجية دون تسوية الحافة Glass containers without liners للغطاء المعدنى؛

استعمال كيماويات لتحضير الدلائل ليست Analytical-reagent grade أو ليست مصنعة حديثا ، تلوث الأدلة Reagents بماء مقطر به بكتريا (لمنع ذلك، يعمل عد بكتيري لكل Media reagents قبل إجراء اختبار الملاءمة Suitability test، كتفتيش على تلوث المحلول الرصيد Stock solution)

الفشل فى الحصول على التركيز الأساسي من البكتريا أو الإخفاق فى اختيار التخفيف المستعمل للحصول على عدد بكتيري عند 24 ساعة؛ التأخر فى صب الأطباق؛ وزيادةمدة التحضين عن 24 ساعة، تؤدى إلى إضعاف حساسية تعبير النمو Desensitized growth response.

حساب المواد التى توقف أو تمنع النمو

عدد المستعمرات / ملل , الدورق B

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل، الدورقA

نسبة 0.8 إلى 1.2 تعنى مواد غير سامة؛ نسبة أقل من 0.8 تبين وجود مواد تمنع النمو فى مياه العينة.

بالنسبة للنيتروجين والكربون اللذان يشجعان النمو:

عدد المستعمرات / ملل، الدورق C

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل، الدورقA

للنيتروجين كمصدر يشجع النمو:

عدد المستعمرات / ملل، الدورق D
النسبة = ----------
عدد المستعمرات / ملل، الدورقA

بالنسبة للكربون كمشجع لنمو البكتريا:

عدد المستعمرات / ملل ، الدورق E
النسبة = ----------
عدد المستعمرات / ملل، الدورق A

لا تقدر الثلاث نسب الأخيرة عندما تظهر النسبة الأولى فعل سام. لهذه النسب القيمة أعلى من 1.2 تدل وجود مصدر لنمو البكتريا.

تفسير النتائج Interpretation of results

عدد المستعمرات من الدورق A بعد 20 – 24 ساعة عند 35 درجة مئوية سيعتمد على عدد الكائنات التى تم زراعتها أساسا فى الدورق A والسلالة من انتيروباكتر ايروجينز التى استعملت. لهذا السبب اجر كنترول، الدورق A الدورق لكل سلسلة منفردة من الاختبارات. ومع ذلك، فانه بالنسبة لكل سلالة من انتيروباكتر ايروجينيز تحت الظروف البيئية ذاتها ، العدد يلزم أن يكون إلى حد ما ثابت عندما يكون الزرع الأصلي متماثل.

الفرق فى الزرع الأصلي من 30 إلى 80 سيكون حوالي 3 أضعاف اكبر بالنسبة للعد الأصلي المحقون فى الدورق Aالدورق اعتبارا أن معدل النمو سيبقى ثابت. لذلك، فانه أساسي أن عدد المستعمرات الأصلي Initial فى الدوارق A و B سيكون تقريبا متساوى.

عندما تزيد النسبة عن 1.2، يفترض أن المواد المشجعة للنمو متواجده. وعلى ذلك فان هذه الطريقة حساسة جدا والنسبة 3 لها مغزى بسيط فى المزاولة الفعلية. ومع ذلك، فانه إذا كانت النسبة ما بين 1.2 و 3 لا تجر اختبارات C, D, E ما عدا تحت ظروف خاصة.

عادة الدورق C سيكون منخفض جدا، والدورق D و E سيكون له نسبة أقل من 1.2 عندما تكون النسبة بين الدورق B والدورق A بين 0.8 و 1.2 . العوامل المجدة للنمو فى

الدورق A هى النيتروجين والكربون العضوي. كمية النيتروجين على صورة أمونيا بدون كربون عضوي يمكن أن تزيد النسبة فى الدورق D أعلى من 1.2 ، أو غياب النيتروجين مع تركيز عال من الكربون يمكن أن يعطى نسب أعلى من 1.2 فى الدورق E مع نسبة بين A , B بين 0.8 و 1.2 .

عندما تكون النسبة أقل من 0.8 فان ذلك يدل على أن المياه تحتوى على مواد سامة، وهذه النسبة تشمل كل القدرة على التحمل المسموحة. وكما هو موضح تحت جزئية الطريقة، النسبة يمكن أن ترتفع من 1.2 إلى 3 دون عاقبة غير مرغوبة.

لا توجد وسائل إصلاح محددة يمكن أن يوصى بها فى ظروف خاصة من وجود أخطاء فى جهاز التقطير. ومع ذلك، يجب إعطاء اهتمام خاص لأجهزة التقطير مع مراجعة الناتج وتداول المياه المقطرة للمساعدة فى تحديد الصلاح مسبب الصعاب.

مياه تغذية المقطر غالبا تمر خلال عمود إزالة الأيونات ومرشح كربون. إذا كانت تلك الأعمدة جيدة، معظم الملوثات العضوية وغير العضوية ستزال. إذا كانت الصيانة سيئة، المياه الناتجة ستكون سيئة وربما أسوء من مياه الصنبور الخام.

أفضل نظم التقطير مصنوعة من زجاج الكوارتز أو بوروسليكات عالي السيليكا. جهاز التقطير المطلي من الداخل بالقصدير لا يوصى به. للوصلات استعمل ستانلس ستبل ، زجاج بوروسليكات، أو أنابيب بلاستيك خاصة مصنوعة من البولي فينيل كالوريد PVC . استعمل خزانات ستانلس ستبل واحميها من التراب.

- **المياه المقطره Distilled water**

- **إختبار الحساسية Sensitivity test**

إذا أخذ النحاس كمقياس لسمية المياه المقطرة، فان أقصى حساسية هى 0.5 مجم نحاس / اللتر من عينة المياه المقطرة.

- **اختبار تقييم Reagent grade water ، البيئات، المرشحات الغشائية Membrane filters**

عندما يرد لوط جديد من البيئات، المرشحات الغشائية، أو مصدر جديد للمياه Reagent water للاستعمال أو كاختبار سنوى للمياه، تجرى اختبارات مقارنة بين اللوط الموجود تحت الاستعمال (لوط مرجعي) وبين اللوط الجديد (اللوط المختبر) كالتالي:

الطريقة

- استعمل مياه مرجعية Control (معاد تقطيرها Redistilled أو مقطرة ومنزوعة الأيونات Deionized)، زجاجيات، مرشحات غشائية، أو غيرها من المواد اللازمة للتحكم فى المتغيرات الأخرى عدا ما هو تحت الدراسة.

- اجر اختبارات أطباق مصبوبة أو زراعة سطحية Pour or spread plate أو ترشيح غشائي Membrane filter على كلا من اللوط المرجعي واللوط المختبر وهو اللوط الوارد للاستخدام . وكحد أدنى، اعمل تحليل فردى على خمسة عينات مياه موجبة.يمكن اختبار مكررات Replicate من التحليل، وعينات أخرى لزيادة الحساسية لاكتشاف الاختلافات بين اللوطين (المرجعي والمختبر).

- عند مقارنة مصادر للمياه، اجر الاختبارات متلازمه in parallel باستعمال مياه مرجعيه والمياه المختبرة منفردة لكل المياه المستعملة فى الاختبارات (التخفيف، الشطف، تحضير البيئات وغيرها).

العد والحساب- بعد التحضين

- قارن المستعمرات البكتيرية الناشئة من اللوطين بالنسبة للحجم والمظهر. إذا كانت المستعمرات بالنسبة للوط الوارد أصغر بنسبة ملحوظة عن مستعمرات اللوط الموجود أصلا، سجل وجود منع للنمو Inhibition أو مشكلة أخرى، بصرف النظر عن الاختلافات بين الأعداد.

- عد الأطباق واحسب كل عدد منفرد/ ملل أو 100 ملل. حول الأعداد إلى اللوغاريتم وضع النتائج فى عامودين لكلا من اللوطين. احسب الفرق (d) بين النتيجتين المحولتين لكل عينة وضع علامة + أو - ، المتوسط (- d) والانحراف القياسي لهذه الاختلافات (sd) Standard deviation .

- احسب Student’s t static باستعمال عدد العينات n :

$$t = \frac{d-}{S_d / \sqrt{n}}$$

التفسير

- استعمل قيمة t الحدية critical الحدية من جداول Student t للمقارنة بالقيمة المحسوبة. عند مستوى معنوي 0.5 هذه القيمة 2.78 لخمسة عينات (4 درجات حرية). إذا كانت قيمة t المحسوبة لا تزيد عن 2.78 فان معنى ذلك أن اللوط لا يعطى نتائج ذات فروق معنوية ويكون اللوط الجديد المختبر مقبول.
- إذا كانت قيمة t المحسوبة تزيد عن 2.78، اللوطات تعطى نتائج ذات اختلافات معنوية. أما إذا كانت قيمة t المحسوبة للوط المختبر تزيد عن نتائج اللوط الأصلي (تحت الاستعمال أو المرجعي) فان اللوط الجديد (test lot) يكون اقل تشجيعا (تحفيزا) للنمو.
- إذا كانت المستعمرات غير نموذجيه Atypical أو أقل حجما بصورة ملحوظة على اللوط المختبر، Student's t تزيد عن 2.78 تراجع ظروف الاختبار، يكرر الاختبار، ويمكن رفض اللوط المختبر ويحصل على لوط آخر.

الدلائل Reagents

لأهمية الدلائل فى الاختبارات الميكروبيولوجية، يجب أن تؤمن النوعية. استعمل الكيماويات من النوعية ACS أو ما يساويها فى الدرجة لأن الشوائب يمكن أن تقتل البكتريا أو توفر مغذيات، أو قد تؤدى إلى عدم إعطاء التفاعل المطلوب. يكتب التاريخ على الكيماويات أو الدلائل عند ورودها وكذلك عندما تفتح لاول مرة. حضر الدلائل إلى الحجم فى دوارق معياريه Volumetric flasks وانقلها للتخزين فى زجاجات بلاستيك خامل Inert plastic من نوع جيد أو زجاج بوروسليكات بغطاء بوروسليكات أو بولى ايثيلين أو أي غطاء بلاستيكي محكم. أكتب على الدلائل المحضرة اسمها، التركيز، تاريخ التحضير، اسم من قام بالتحضير

- **الصبغات Dyes and stains**

فى التحليلات الميكروبيولوجية تستعمل الكيماويات العضوية كعامل انتقائي Selective agent (مثل البريلينت جرين Brillient green)، كدليل أو كشاف Indicators (مثل فينول ريد لاكتوز Phenol red lactose) وكصبغة ميكروبيولوجية مثل صبغة جرام (Gram stain. الصبغات التى ترد من الموردين التجاريون تختلف من لوط الى آخر فى نسبة الصبغة ، تعقيده، المواد الغير قابلة للذوبان ، المواد الخاملة. ولأن الصبغة التى تستخدم فى الأغراض الميكروبيولوجية يجب أن تكون ذات تركيز معين كما يجب أن تكون ثابتة لتنتج تفاعلات صحيحة، استعمل فقط الصبغات المضمونة من Biological Stain Commission .

اختبر الصبغات البكتريولوجية قبل الاستخدام على الأقل مع مزرعة موجبة وأخرى سالبة معروفة وسجل النتائج.

- **المرشحات الغشائية والوسائد Membrane filters and pads**

تختلف نوعية وكفاءة المرشحات الغشائية حسب المصنع، النوع، الماركة، اللوط. تلك الاختلافات تنتج عن الاختلاف فى طريقة التصنيع، المواد المستخدمة فى التصنيع، نوعية التحكم، ظروف التخزين.

- **المرشحات الغشائية والوسائد المستخدمة فى تحليل المياه يجب أن تتوافر فيها الاشتراطات التالية:**

- قطر المرشح (الفاتر) 47 مم،
- قطر الثقوب 0.45 مبكرون.
- المرشح البديل وأحجام الثقوب ربما تستعمل إذا قدم المصنع البيانات التى تدل على أن الكفاءة تساوى أو أفضل من تلك ذات القطر 47 مم والثقوب 0.45 مبكرون. على الأقل 70 % من مساحة المرشح يجب أن تكون ثقوب.
- عندما تطفو المرشحات على Reagent water، تنتشر المياه بانتظام خلال المرشحات خلال 15 ثانية بدون مناطق جافة على المرشحات.
- معدلات الانسياب Flow rates خلال المرشحات على الأقل 55 ملل/الدقيقة/سم2 عند 25 درجة مئوية والضغط التفاضلي
. KPa 93 Differential pressure
- المرشحات لا يكون لها تأثير سام، خالية من المواد التى تمنع أو تشجع النمو، خالية أيضا من المواد التى تتداخل بطريقة مباشرة أو غير مباشرة مع نظم الدلائل البكتيرية الموجودة فى البيئات؛ الحبر المستخدم فى تقسيم الفلتر يكون غير سام. المتوسط الحسابي لنسبة الأعداد البكتيرية التى تظهر على المرشحات يجب أن تكون 90 % على الأقل من المتوسط الحسابي للعدد على خمسة أطباق معدة بطريقة الفرد السطحي Spread plates وباستعمال نفس الحجم من العينة وبيئة الآجار.
- المرشحات تحجز الكائنات من 100 ملل من معلق بكتيريا
Serratia marcesens يحتوى على 310 خلية.
- المستخلص المائي للمرشح لا يزيد عن 2.5 % بعد غليان المرشح فى 100 ملل ماء لمدة 20 دقيقة، يجفف، يبرد، ويصل إلى وزن ثابت.

- الوسادة الماصة Absorbent pad قطرها 47 مم، السمك 0.8 مم، قدرة الامتصاص 2 +/- 0.2 ملل من مرق الأندو Endo broth.

- الوسائد Pads تخرج أقل من 1 مجم من الحموضة الكلية مقدرة على صورة كربونات كالسيوم - Ca Co3 عندما تعادل باستخدام 0.02 نورمال من الصودا الكاوية NaOH مع الفينول فيثالين - Phenolphthalein.

- إذا كان المرشح والوسادة الماصة غير معقمة يجب أن لا تتحلل بالتعقيم عند 121 درجة مئوية لمدة 10 دقائق. أكد التعقيم بغياب النمو عند وضع المرشح والوسادة مشبعة بمرق أو آجار مستخلص التربتون جلوكوزTryptone glucose extract broth or agar والتحضين على 35 درجة مئوية لمدة 24 ساعة.

- **الاختبارات القياسية التى تجرى على المرشحات الغشائيه Standard \tests**

الاختبارات القياسية لتقييم الاحتجاز Retention و الاستعادة Recovery الاستخلاص، معدل الانسياب للمرشح الغشائي (Geldreich, 1971, ASTM, 1977).

بعض المصنعيين يوفرون تفاصيل أكثر من الاحتياج ويشهد أن الأغشية مناسبة لتحليل الماء. فيحدد الاحتجاز، قطر الثقوب، معدل الانسياب، التعقيم، pH، نسبة الاستعادة Percent recovery، وحدود الاستخلاص بالمواد العضوية وغير العضوية المحدد نوعيتها.

وللمحافظة على التحكم فى النوعية راقب كل لوط من الأغشية قبل الاستعمال وخلال الاختبارات لتأكيد أنها مستديرة ، مرنة Pliable، دون تشوه فى خطوط التقسيم بعد التعقيم فى الأوتوكلاف.

بعد التحضين، المستعمرات يجب أن تظهر واضحة بلون وشكل محدد كما هو مذكور فى الطريقة. حبر التقسيم لا يجب أن يمنع نمو المستعمرات. يجب أن تكون المستعمرات موزعة عبر سطح المرشح الغشائي.

- **بيئات المزارع Culture media**

لأن طرق زراعة البكتريا تعتمد على جودة تحضير البيئة، استعمل أفضل المواد المتاحة وكذلك الطرق فى تحضير البيئات، تخزينها، واستعمالها. للتحكم فى النوعية، استعمل البيئات المحضرة تجاريا عندما تكون متاحة ولكن لاحظ أن كثير من البيئات ربما تختلف فى النوعية بين المنتجين وحتى من لوط إلى آخر من نفس المنتج. ومتوفر بيئة قياسية هى

Standard plate count agar من American Public Health Association (APHA) للاستخدام بواسطة المنتجين والذي يعد الاختبار المناسب ليشهد أن بيئته تتوافق من حيث الخواص والمواصفات مع منتج APHA.

- أطلب البيئات بكميات محددة بحيث لا تبقى لديك أكثر من عام.
- استعمل البيئات على أساس أن ما يرد أولا يستعمل أولا.
- اذا كان عمليا ، أطلب البيئات فى عبوات ربع رطل (114 جرام) فهي أفضل من عبوات الرطل (454 جرام) للمحافظة على البيئة مغلقة أطول وقت ممكن.
- سجل نوع، كمية، مظهر البيئة الواردة، رقم اللوط (التشغيلة)، تاريخ التوريد، تاريخ الفتح.
- راجع قائمة الجرد كل 3 شهور واستبعد البيئات التى مضى تاريخ صلاحيتها، تحجرت، تغير لونها، أو ظهر عليها أى علامات التدهور فى الصفات.
- لأن الحرارة، الضوء، والرطوبة تختلف بين المعامل، فانه ليس ممكنا وضع حدود لعمر البيئة الغير مفتوحة. ولكن بصرفة عامة فان حدود الوقاية للعبوات من البيئة الغير مفتوحة هو عامان على درجة حرارة الغرفة. وإذا كانت العبوة عمرها أكثر من عام، قارن قدرتها على الاسترجاع Recovery لمزرعة نقية حديثة وعينة طبيعية باستعمال البيئة القديمة وبيئة جديدة (لوط جديد).
- استعمل عبوات البيئات المفتوحة خلال 6 شهور بعد الفتح وطالما فتحت العبوة احفظها فى مجفف مباشرة بعد الفتح.

- **تحضير البيئة**

- حضر البيئة فى أوعية على الأقل ضعف الحجم المطلوب تحضيره. أثناء التسخين قلب البيئة، خاصة المحتوية على آجار. تجنب الغليان الزائد أو التشييط Scorching باستعمال حمام مائي أثناء تحضير الكميات الصغيرة من البيئة وسخان أو لهب بالنسبة للحجوم الكبيرة مع التقليب باستمرار باستخدام Hot plate-magnetic stirrer.
- حضر كل البيئات فى مياه مزالة الأيونات أو ماء مقطر من نوعية جيده. عاير حجم المياه والبيئات بمخبار مدرج متوافق مع NIST ومواصفات APHA. بالنسبة للعينات شديدة التلوث، لا تستعمل ماصات تنطلق منها السوائل بعنف Plow out pipettes.
- بعد التحضير والتخزين، تصهر بيئات الآجار فى ماء مغلي أو تيار بخار.

- راجع pH لأجزاء من كل بيئة بعد التعقيم والتبريد.

- راجع pH البيئة المتصلبة بواسطة مجس سطحي Surface probe. سجل النتائج. اجر الضبط البسيط فى pH البيئة (أقل من 0.5 وحدة) بواسطة محلول صودا كاويه أو حامض هيدروكلوريك طبقا لما هو محدد فى تركيب البيئة. إذا كان الفرق فى pH البيئة أكبر من 0.5 وحدة، اهمل هذه التشغيلة وأعد التحضير. قيمة pH البيئة الغير صحيح ربما يدل على مشكلة من نوعية المياه المستخدمة فى التحضير، تدهور البيئة Media deterioration أو تحضير غير جيد. راجع التوجيهات للتحضير، راجع pH المياه: إذا كان pH المياه غير صحيح، حضر البيئة من جديد وباستعمال مياه من مصدر جديد. إذا كانت المياه مناسبة و pH البيئة لا زال غير صحيح ، حضر البيئة من عبوة أخرى من البيئة.

- سجل مشاكل pH فى دفتر البيئات وارسل تقرير للمرتج إذا كانت البيئة هى مصدر المشكلة. اختبر البيئة الحضرة للون الغير معتاد، قتامة اللون أو الرواسب وسجل ملاحظاتك. خذ فى اعتبارك

- الاختلاف فى التعقيم ودرجة الحرارة كمسببات ممكنة للمشاكل. إذا حدث أى مما سبق تخلص من البيئة.

- **التعقيم**

- عرض البيئات لحرارة التعقيم (121 - 124 درجة مئوية)أقل وقت محدد للتعقيم. الأوتوكلاف ثنائي الجدار يسمح ببقاء الضغط كاملا والحرارة فى الجاكيت بين الأحمال (الأشياء التى تعقم) ويخفض من فرصة الإتلاف الحراري. اتبع إرشادات المنتج فى التعقيم. الوقت اللازم للتعرض يختلف حسب طبيعة المادة ونوعها، نوعية البيئة، وجود سكريات والحجم كما هو مبين بالجدول التالى:

TIME AND TEMERATURE FOR AUTOCLAVE SETRILIZATION

MATERIAL	TIME at 121° C
Membrane filters and pads	10 min
Carbohydrate- containing media (lauryl tryptose, BGB broth, etc.)	12- 15 min
Contained materials and discarded cultures	30 min
Membrane filters assembles (wrapped), sample collection bottles (empty)	15 min
Dilution water , 99ml in screw-cap bottles	15 min
Rinse water volumes of 0.5 to 1 L	30 min
Rinse water in excess of 1 L	Adjust for volume , check for sterility

- لا تعرض البيئات المحتوية على سكريات للحرارة المرتفعة أكثر من 45 دقيقة. مدة التعرض تحدد من وقت دخول الأوتوكلاف إلى وقت خروجها منه.

- اخرج البيئات المعقمة من الأوتوكلاف عقب وصول الضغط إلى الصفر.

- لا تعيد تعقيم البيئة مطلقا.

- افحص كفاءة التعقيم لكل دورة باستخدام معلق من Bacillus sterothermophilus spores أو شرائط داخل الدوارق. التعقيم عند 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة يقتل الجراثيم، إذا حدث نمو للجراثيم المعالجة بالاوتوكلاف وبعد التحضين فى بيئة Trypticase soy broth عند 55 درجة مئوية لمدة 48 ساعة فان التعقيم يعتبر غير ناجح.

- عقم المحاليل أو البيئات التى لا تعقم فى الاوتوكلاف بالترشيح خلال مرشحات قطر ثقوبها 0.22 مبكرون بحيث يستقبل الراشح فى إناء معقم. رشح ووزع البيئة فى كابينة أمان أو hood Biohazard إذا كانت متاحة.

- عقم الأدوات الزجاجية (الماصات، الأطباق، زجاجات العينات) فى الأوتوكلاف أو فرن عند 170 مئوية لمدة ساعتين.

- هناك أنماط من الأوتوكلاف تعمل أوتوماتيكيا وتشمل الانزلاق الرأسي ، الغلق المحكم والفتح الأوتوماتيكي بعد انتهاء التعقيم وطبقا لبرنامج يتم ضبطه كذلك هناك إمكانية تتبع التغير فى الحرارة والضغط مسجلين طوال فترة التعقيم. هناك أيضا إمكانية التبريد السريع من خلال مرور تيار ماء بارد فى الأوتوكلاف بعد انتهاء التعقيم كذلك هناك إمكانية إزالة البخار. إذا توافر التبريد وإزالة البخار فى هذه الحالة فان الالتزام بمدة 45 دقيقة كحد أقصى للتعرض للحرارة المرتفعة لا يلتزم بها.

- عقم الأدوات والأجهزة والمواد الصلبة الأخرى أو المواد الجافة الحساسة للحرارة بالتعريض للايثيلين أكسيد Ethylene oxide فى معقم زجاجي. استعمل شرائط الجراثيم المتاحة تجاريا أو المعلقات من البكتريا لضبط التعقيم

- **استعمال الآجار والمرق Use of agar and broths**

- لطف Temper الآجار المنصهر Melted agar فى حمام مائي عند 44 – 46 درجة مئوية حتى وقت الاستعمال ولكن لا تتركها فى الحمام أكثر من 3 ساعات .

- لمراقبة حرارة الآجار، عرض زجاجة من الماء لنفس ظروف التسخين والتبريد مثل الآجار. اغمس ترمومتر فى زجاجة المراقبة لتقدير متى تصل الحرارة إلى 44 – 46 درجة مئوية والمناسبة للاستعمال فى صب الأطباق.

- بعد صب الآجار فى الأطباق للزرع على سطحه جفف سطح الآجار بترك الأطباق مفتوحة قليلا فى خزانة بكتريولوجية Bacteriological hood لمدة 15 دقيقة على الأقل لمنع التلوث.

- عند استعمال أنابيب التخمر Fermentation tubes ضع أنابيب درهام بحيث تكون خالية من الهواء حتى تمنع النتيجة الإيجابية الغير صحيحة False positive. تداول الأنابيب بحرص حتى لا يدخل هواء فى أنابيب درهام. اختبر الأنابيب الجاهزة للعمل للتأكد من أن فقاعات الهواء غير موجودة.

- **تخزين البيئات Storage of media**

- حضر البيئة المعقمة بكميات تستعمل خلال فترة محددة كما فى الجدول. ويفضل تحضير البيئات فى نفس يوم استعمالها.

- فى حالة إسالة بيئات الآجار وتبقى جزء فى الدورق بعد الاستعمال لا تتركه ليتصلب ويعاد استعماله مرة أخرى، تخلص من المتبقي فورا.

- الأطباق من البيئات التى لم تستعمل فى يوم تجهيزها وذات الغطاء الغير محكم تحفظ فى الثلاجة باستعمال أكياس بلاستيكي محكمة الغلق هذا إذا لم تكن ستستعمل خلال يومين.

- إذا بردت أنابيب بيئة التخمر حتى وقت الاستعمال، حضن الأنابيب قبل الاستعمال حتى لا يكون هناك نتائج إيجابية غير صحيحة. حضر البيئات التى تخزن لمدة أطول من أسبوعين فى أنابيب محكمة ذات غطاء قلاووظ لمنع فقد الرطوبة وإذا لم تتوافر تلك النوعية من الأنابيب تستعمل أنابيب عادية وتوضع فى أكياس بلاستيكية محكمة الغلق. للكشف عن الفقد فى الرطوبة من أنابيب المرق Broth tube المرق ضع علامة على

مستوى البيئة ولاحظ الفقد فى الرطوبة. إذا قدر الفقد وكان أكثر من 10% استبعد الأنابيب. احمي البيئات التى تحتوى على الصبغات من الضوء، إذا تغير اللون استبعد البيئة ولا تستعمل.

- المرق والآجار المحضر والمعقم المتوافر تجاريا Ready to use ربما يوفر مزايا عند الرغبة فى إجراء التحليل متقطعا وعند عدم توافر الفنى للتحضير، أو عندما يمكن أن تتوازن التكاليف مع العوامل الأخرى للعمليات المعملية. أضبط كفاءة البيئات كما سيرد فى البند التالي . الفترة التى يمكن الاحتفاظ خلالها بالبيئة محددة فى الجدول السابق.

- **التحكم فى نوعية البيئات المحضرة Quality control of prepared media**

- احتفظ فى المعمل بسجل للمعلومات كاملة عن كل تشغيله من البيئات المحضرة مع اسم من قام بالتحضير والتاريخ، رقم لوط البيئة، كمية البيئة التى تم وزنها، حجم البيئة المحضرة ، مدة التعقيم والحرارة، pH المقاس والضبط له.

- قارن ما بين البيئات الموردة حديثا والتى كانت فى حوزة المعمل من حيث الكفاءة على الاسترجاع Recovery.

- اختبر البيئات باستخدام مزارع البيئة إيجابية لها وأخرى سلبية كذلك تأثير التعقيم على صفاتها.

5) طرق التشغيل القياسيه

طرق التشغيل القياسية Standard operating procedures (SOPs) هى العمود الفقري لتشغيل معمل التحاليل مثل تحضير المحاليل والأدلة،Reagent waterالأدلة بيئات المزارع، الاستعمال المناسب للميزان، عمليات التعقيم، عمليات غسيل الأدوات والأطباق، وأيضا طريقة أخذ وجمع العينات، التحليل، والتحكم فى الجودة. والطرق تصف الأعمال tasks التى يقوم بها أعضاء المعمل يوم بيوم، التوصية على استخدام الأجهزة ونوعيات العينات. طرق التشغيل القياسية تعتبر مرشدا للعمليات الروتينية، ويقدم وسائل قوية للتدريب.

6) أخذ العينات Sampling

- **التخطيط Planning**

يجب أن يشارك الميكروبيولوجى Microbiologist فى تخطيط برامج المراقبة Monitoring programs والتى ستشتمل على التحاليل الميكروبية. ويستطيعوا أن يقدموا ذا الخبرة فى اختيار مواقع العينات، عدد العينات والتحاليل اللازمة، أحمال العمل, والأجهزة والإمدادات اللازمة. معرفة كثافة الميكروبات المحتملة، والتأثير الموسمي، الجو، المد والجزر Tide الجزر وشكل الرياح، مصادر التلوث المعروفة، والمتغيرات الأخرى، وهى لازمة لوضع خطة اخذ العينات.

- **الطرق**

خطة العينات يجب أن تكون خاصة بكل موقع. الاسترشاد قبل أخذ العينات يمكن أن يكون عاما فى طبيعته، والتعريف بالعوامل التى يجب أخذها فى الاعتبار لكل موقع. الطرق القياسية لأخذ العينات تصف أجهزة أخذ العينات، التقنية Techniques، التكرار،زمن الانتظار وظروفه Holding time ، قواعد الأمان، وغيرها، تلك سوف تستعمل تحت ظروف مختلفة لمواقع مختلفة. على ضوء المعلومات من طرق التشغيل القياسية سوف ترسم خطة العينات.

7) طرق التحليل Analytical methods

- **اختيار الطريقة Method selection**

الاختلافات الضئيلة بين الطرق يمكن أن تتسبب فى اختلافات كبيرة فى النتائج، ولذلك فان الطرق الميكروبيولوجية يجب أن تكون قياسية وبالتالي تكون النتائج متماثلة بين المعامل. اختر الطريق المناسبة للتحليل من ضمن الطرق القياسية لاختبار المياه والمخلفات السائلة Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association (APHA) 200

أو أي مصدر آخر وتأكد من أن الطريقة أقر صلاحيتها وطبقت فى دراسة تكون أجريت فى معامل متفرقة Multilaboratory study باستخدام عينات مختلفة.

- **الهدف من النتائج Data objectives**

راجع الطرق المتاحة وقدر الطريقة التى تنتج النتائج التى تنطبق مع متطلبات البرنامج من حيث الدقة ، الحيادية، التخصص، الانتقاء، وحدود فعالية الطريقة Detection limits. تأكد أن الطرق تم تطبيقها وحققت الأهداف السابقة باستعمال عينات مماثلة للعينات التى تقوم بتحليلها.

- **التحكم فى الجودة داخليا Internal quality control**

الطرق التحليلية المكتوبة يجب أن تشمل الكشف عن التحكم فى الجودة باستعمال مزارع إيجابية وأخرى سلبية، عينة معقمة sterile blankمعقمة مكررات للتحليلات Replicate analyses ومدى الدقة، ومزرعة معروفة، إذا كان ذلك متاحا.

- **طرق قياسية للعمل Standard operating procedure**

يجب أن يتاح لكل قائم بالتحليلات نسخة من طرق التحليل مكتوبة فى خطوات متتالية طبقا لما سيتم على العينة، الأجهزة والأدوات اللازمة المستعملة فى المعمل.

8) التحكم فى جودة التحاليل Analytical Quality Control Procedures

▪ الطرق العامة للتحكم فى الجودةGeneral quality control procedures

- **أختبارات المرشحات الغشائية**

لاختبارات المرشحات الغشائية، تحقق من تعقيم البيئات، المرشحات الغشائية، ماء التخفيف والشطف، الزجاجيات، الأجهزة، على الأقل عند نهاية كل سلسلة من العينات، باستعمال ماء معقم كالعينة.

- **تعقيم البيئات**

فى طريقة الأنابيب المتعددة Multiple tube procedureالمتعددة تحقق من تعقيم البيئات، ماء التخفيف، والزجاجيات. لاختبار تعقيم البيئات، عرض أجزاء مختلفة من كل تشغيله Batch للتحضين عند حرارة مناسبة لمدة 24 – 48 ساعة ولاحظ النمو. تحقق من تعقيم ماء التخفيف عن طريق إضافة 20 ملل ماء إلى 100 ملل من مرق غير انتقائي Non-selective broth. كبديل، مرر 100 ملل أو أكثر من ماء التخفيف تحت ظروف خلال مرشح غشائي. ضع المرشح على بيئة نمو مناسبة للبكتريا الهتيروترفية. حضن عند 35 +/- 0.5 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ولاحظ النمو. إذا ظهر أى تلوث، اهمل نتائج التحليل للعينات المختبرة بهذه المواد واطلب إعادة العينات فورا.

- **التحقق من طرق التحليل**

لكل لوط من البيئة تحقق من طرق التحليل بالاختبار بمزارع كونترول موجبة وسالبة من الكائن

أو الكائنات تحت الاختبار. انظر الجدول لأمثلة من مزارع الاختبار.

CONTROL CULTURES FOR MICROBIOLOGICAL TESTS

GROUP	Control Culture	
	Positive	Negative
Total coliforms	Escherichia coli Enterobacter aerogenes	Staphylococcus aureus Pseudomonas sp.
Faecal coliforms	E. coli	E. aerogenes Streptococcus faecalis
Faecal streptococci	Streptococcus faecalis	Staphylococcus aureus E. coli

- **كيفيه التحقق من طرق التحليل**

أجراء تحليل مزدوج

اجر تحليل مزدوج على 10 % من العينات وعلى الأقل عينة/ اختبار يجرى. إذا كان المعمل يجرى أقل من 10 اختبارات/ الأسبوع، اجر التحليل المزدوج على عينة واحدة على الأقل أسبوعيا. فى حاله المعامل التى بها أكثر من شخص يقوم بالتحليل اجعل كل فرد يجرى فى نفس الوقت تحليل لعينة واحدة موجبة شهريا.

المقارنه بين الطرق

قارن ما بين الطرق القياسية والطرق المستحدثة لتقدير إمكانية تطبيقها وكفاءتها. اجر على الأقل 100 اختبار خلال العام قبل التغيير إلى الطريقة الجديدة واستخدامها فى التحاليل الروتينية.

مقارنه العد البكتيرى

مقارنة العد البكتيري- للتقييم الكفاءة روتينيا ، كرر العد باستعمال واحدة أو أكثر من العينات الإيجابية على الأقل شهريا وقارن العدد بالعدد الناتج بواسطة محللين آخرين قاموا بتحليل نفس العينات. فى حالة عمل مكررات للتحليل بواسطة نفس الشخص فالفرق المسموح به 5% وعند مقارنة النتيجة بالنتيجة من محللين آخرين لنفس العينات فالفرق المسموح به هو 10%.

- **قياس دقة الطرق Measurement of method precision**

احسب دقة لتحليلين لكل نوعية مختلفة من العينة المختبرة، مثلا، مياه الشرب، المخلفات السائلة، وغيرها طبقا للطريقة التالية:

- اجر تحليل مزدوج على أول 15 عينة موجبة من نوع معين. خذ كل مجموعة من المزدوجات التى تم تحليلها بنفس الشخص، لكن تشمل كل الأشخاص القائمين بالتحاليل فى المعمل. سجل التحاليل المزدوجة D_1 , D_2.
- احسب لوغاريتم كل نتيجة. إذا أعطت أى مجموعة من المزدوجات نتيجة صفر، أضف 1 إلى كل القيم قبل حساب اللوغاريتم.
- احسب المجال Range (R) لكل زوجين من المزدوجات المحولة وكذلك المتوسط ($\bar{R}$) لهذه المجالات (انظر للحساب جدول).

CALCULATION OF PRECISION CRITERION

Sample No.	Duplicate Analyses D_1	D_2	Logarithms of Counts L_1	L_2	Range of Logarithms(R_{log}) $(L_1 - L_2)$
1	89	71	1.9494	1.8513	0.0981
2	38	34	1.5798	1.5315	0.0483
3	58	67	1.7634	1.8261	0.0627
–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–
–	–	–	–	–	–
14	7	6	0.8451	0.7782	0.0669
15	110	121	2.0414	2.0828	0.0414

Calculations:

1. $\sum$ of R_{log} = 0.0981+.0483+0.0627+……+0.0669+0.0414=0.71889

2. $\overline{R} = \sum R_{log} / n$ = 0.71889/15 =0.0479

3. Precision criterion=3.27 $\overline{R}$ = 3.27(0.0479) =0.1566

- بعد ذلك، حلل 10 % من العينات الروتينية فى مزدوجات Duplicate. حول لمزدوجات كما فى رقم 2 واحسب المتوسط. إذا كان المتوسط أكبر من -3.27R، فيكون هناك احتمال أكثر من 99% أن الاختلاف المعملي كبير . حدد إذا كانت زيادة عدم الدقة imprecision مقبولة، إذا لم تكن، اهمل كل نتائج التحليل من آخر مراجعة دقيقة (انظر جدول). اعرف وحل المشكلة التحليلية قبل عمل تحاليل إضافية.

- حدث الخاصية المستعملة فى رقم 4 بتكرار على فترات الطرق 1) إلى 3) باستعمال نتائج الخمسة عشر مزدوجات الأكثر حداثة

9) التأكيد Verification

وهى تشمل طريقة أنابيب التخمر المتعددة Multiple-tube fermentation (MTF) methods وطريقة المرشحات الغشائية :

- **أولا طرق أنابيب التخمر المتعددة** Multiple-tube fermentation (MTF) methods وهى تشمل:

- **طريقة بكتريا القولون الكلية Total coliform procedure**

- مياه الشرب- اجر فقط المرحلة التأكيدية Confirmed phase. التأكيد غير مطلوب. لأغراض التحكم فى الجودة، إذا كان طبيعيا أن لا توجد نتائج إيجابية، حلل على الأقل مصدر مياه إيجابي مرة واحدة كل 3 شهور لتأكيد أن البيئة تعطى استجابة مناسبة. بالنسبة للغينات التى لها تاريخ من النمو الكثيف دون إنتاج غاز فى أنابيب الاختبار المبدئي Presumptive phase ، اجر المرحلة التأكيدية Confirmed phase لكشف النتيجة السلبية الغير حقيقية False negative لبكتريا القولون. أكد أى إيجابيات لبكتريا القولون البرازية أو E.coli.

- الأنواع الأخرى من المياه- أكد بإجراء الاختبار النهائي Completed test على 10% من العينات الإيجابية للاختبار التأكيدى Confirmed phase.

- **طريقة الاختبارات الإنزيمية (بكتريا القولون الكلية/ ايشيرشيا كولاى)**

- مياه الشرب- أكد على الأقل 5% من نتائج بكتريا القولون الكلية الايجابية بالنسبة لبكتريا القولون بحقن نمو من عينة إيجابية معروفة والاختبار لتخمر اللاكتوز أو B-D-galactopyranosidase بواسطة o-nitrophenyl-B-D-galactopyranosde

(ONPG) والاندوفينول بواسطة اختبار اليبتوكروم أكسيديز (CO). بكتريا القولون موجبة ONPG وسالبة CO. أكد ايشيريشيا كولاى باستخدام بيئة EC MUG.

ولاختبار ONPG

- حضر محلول 1 مولار من mono sodium phosphate بإذابة 6.9 جرام من NaH_2 PO_4 H_2O فى 45 ملل Reagent water
- أضف 3 ملل صودا كاوية 30 % وأضبط pH عند 7 وخفف إلى 50 ملل وخزن فى الثلاجة. حضر محلول ONPG بإذابة 80 مجم ONPG فى 15 ملل ماء عند 37 درجة مئوية وأضف 5 ملل محلول 1 مولار NaH_2 PO_4.
- خزن فى الثلاجة.
- قبل الاستعمال دفء عند 37 مئوية جزء كاف لعدد الاختبارات التى ستجرى. علق لوب Loop كبيرة من النمو من كل مزرعة مائلة Slant culture عمر 18 – 24 ساعة فى أنبوبة تخمر 10 X 75 مم .
- أضف نقطة واحدة طولوين إلى كل أنبوبة ورج جيدا. أترك الأنبوبة لمدة 5 دقائق فى حمام مائي عند 35 درجة مئوية. أضف 0.25 ملل من محلول Buffered ONPG إلى كل أنبوبة وأعد التحضين فى حمام مائي عند 35 مئوية. اقرأ الأنابيب عند 0.5 ، 1 ، 24 ساعة، وجود لون أصفر هو النتيجة الإيجابية
- بأنواع المياه الأخرى- أكد على الأقل 10% من العينات الإيجابية لبكتريا لقولون الكلية كما ذكر فى 2 a.

- **الطريقة الخاصه للبكتريا السبحية البرازية Analyses for fecal streptococci**

أكد التقاط 10 مستعمرات على الأقل منعزلة وموجبة للأسكيولين Esculin positive من M-E agar أو مستعمرات حمراء من m-enterococcus agar. انقل الى Brain heart infusion (BHI) agar و Broth. اجر اختبار كتاليز Catalase test على مزارع عمر 24 ساعة. انقل من المزارع السالبة لاختبار الكتاليز والتى من الممكن أن تكون Fecal streptoccoci إلى BHI broth + 40 % bile وحضن عند 35 مئوية. انقل أيضا إلى وحضن عند 45 مئوية BHI broth. النمو فى وجود Bile وعلى 45 مئوية يؤكد البكتريا السبحية البرازية Fecal streptococci .

استعمل مزارع معروف أنها موجبة وأخرى سالبة للاختبار للتحكم فى الجودة.

- **ثانيا طرق المرشحات الغشائية Membrane filter procedure** وهى تشمل

- **طرق بكتريا القولون الكلية Total coliform methods**

- مياه الشرب- التقط كل، إلى 5 مستعمرات نموذجية Typical وخمسة أخرى غير نموذجية Atypical (nonsheen) من العينات الإيجابية على بيئة M-Endo وأكدها كما سيأتي بعد. وأيضا أكد أى عينة إيجابية لبكتريا القولون البرازية أو ايشيريشيا كولاى. إذا لم تتواجد نتيجة إيجابية من اختبار عينات مياه الشرب ، حلل على الأقل مصدر واحد معروف من الماء كل 3 شهور.

- نوعيات المياه الأخرى- أكد شهريا بالتقاط على الأقل 10 مستعمرات لامعة Sheen من العينات الإيجابية. أضبط العدد على ضوء النتيجة المؤكدة

- لتقدير السالبة الغير حقيقية ، False negatives التقط ممثلات من مستعمرات غير نموذجية Atypical مختلفة وأكدها

- **طرق بكتريا القولون البرازية Fecal coliform procedure**

- أكد الموجبة شهريا بالتقاط على الأقل 10 مستعمرات زرقاء من عينة واحدة موجبة. أكد فى مرق لوريل تربتوز Lauryl tryptose broth و EC broth. أضبط العدد على أساس النسبة المؤكدة.

- لتقدير السالبة الغير حقيقية ، التقط ممثلات من المستعمرات غير النموذجية ذات الأشكال المختلفة وأكدها.

- **طريقة ابشيريشيا كولاى E. coli procedure**

- مياه الشرب- أكد على الأقل 5% من نتائج موجبة MUG وأخرى للسالبة. القط من مستعمرات واضحة اللمعان والتى تعطى وهج Fluoresce على الآجار المغذى المضاف إليه MUG وخذ حذرك من التقاط بيئة لأنها يمكن أن تعطى نتيجة إيجابية غير صحيحة. أكد أيضا مستعمرات غير لامعة nonsheen والتى تعطى وهج. أكد بإجراء اختبار السترات، الأندول، مع التحضين للاختبارلتكون الاندول عند 44.5 مئوية. ايشيرشيا كولاى موجبة للاندول وسالبة للسترات.

- أنواع المياه الأخرى- أكد عينة واحدة موجبة شهريا. أضبط العدد بناء على النسبة التى تم تأكيدها.

- **طريقة البكتريا السبحية البرازية Fecal streptococci procedure**

- القط 10 مستعمرات على الأقل شهريا موجبة للأسكيولين (مستعمرات حمراء) من m-Enterococcus agar إلى بيئة Brain Heart Infusion وأكدها واضبط الأعداد.

- **تحليل انتيروكوكى Enterococcus analyses–**

تأكد من التقاط 10 مستعمرات على الأقل منعزلة جيدا وذات لون قرنفلي Pink إلى أحمر مع راسب أسود أو بنى محمر من EIA agar فى Brain heart (BHI) broth infusion وعلى BHI agar slant. حضن أنابيب المرق لمدة 24 ساعة والآجار المائل لمدة 48 ساعة على 35 مئوية. بعد 24 ساعة تحضين، انقل لوب من BHI broth إلى Bile esculin agar (BEA)إلى BHI + 6.5 % Na Cl وحضن لمدة 48

ساعة عند 35 مئوية. انقل لوب أخرى من BHI broth عمر 24 ساعة إلى أنبوبة أخرى BHI broth وحضن لمدة 48 ساعة عند 45 درجة مئوية. لاحظ النمو. أصبغ بصبغة جرام لنمو من Slant BHI agar والمحضن لمدة 48 ساعة. الحصول على خلايا كروية موجبة لصبغة جرام تنمو فى EIA وتحلل الاسكيولين Hydrolyze esculin، تنمو فى BHI broth عند 10 ، 45 مئوية ، BHI broth المضاف إليه 6.5 % ملح طعام تعتبر Enterococci.

- للتحكم فى الجودة اختبر مزارع موجبة وسالبة معروفة.

10) تسجيل وتقارير النتائج Records and Data Reporting

- **خطة ضمان الجودة Quality assurance plan**

برنامج ضمان الجودة يجب أن يضع خطة للمشروع والتى تخصص احتياجات التحكم فى النوعية لكل مشروع. الخطة تحدد أنشطة التحكم فى النوعية اللازمة لتحقيق التمثيل، الإنجاز، المقارنة، التناغم فى النتائج. وأيضا، خطة ضمان الجودة يلزم أن تشتمل على خطة تطبيق البرنامج والتى تؤكد أقصى تنظيم وتكامل لأنشطة التحكم فى النوعية خلال كل البرنامج(اخذ العينات، التحاليل، وتناول النتائج).

- **سجلات العينات Sampling records**

طرق التشغيل القياسية لتناول سجلات أخذ وتجميع العينات، نقلها، تخزينها، تحليلها، والتخلص منها. السجل من السهل تداوله على صورة سلسلة من المطبوعات بحيث يمكن الإمداد بالمعلومات الضرورية. ومن الضروري أن تكون السجلات مضبوطة وكاملة خاصة إذا كانت مطلوبة قضائيا.

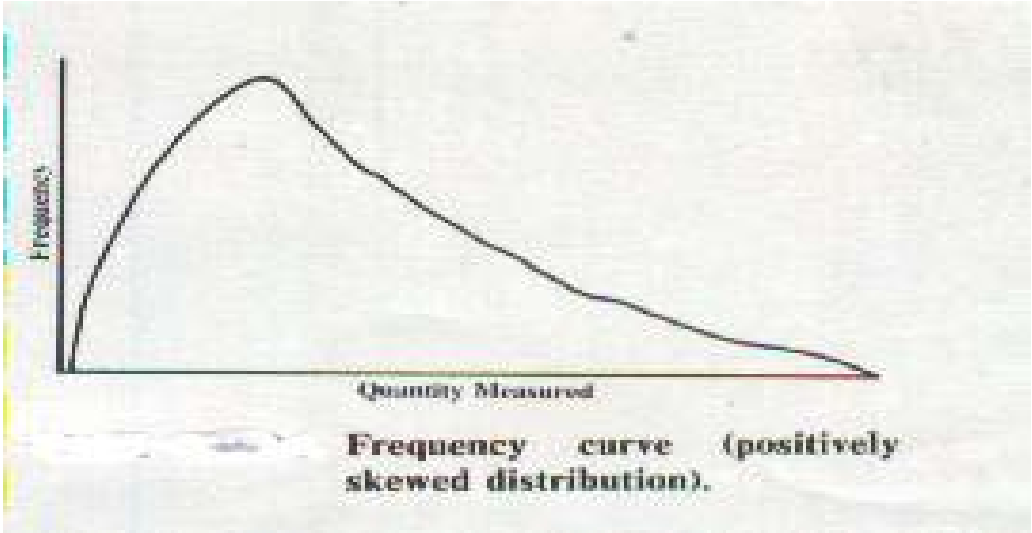
- **حفظ السجلات Recordkeeping**

النظام المقبول لحفظ السجلات يتيح فرصة المعلومات عن جمع العينات وحفظها، الطرق التحليلية، النتائج الخام، الحساب للنتائج المسجلة، و تسجيل للأشخاص المسئولين عن أخذ العينات والتحليل. اختار صورة مقبولة لكلا من المعمل والمستهلك (مستخدم النتائج). أكد أن كل بيان النتائج موقع من القائم بالتحليل والمشرف. الصورة المفضلة للسجل هى سجل مجلد مرقم الصفحات.

احتفظ بسجلات التحاليل الميكروبيولوجية لمدة 5 سنوات على الأقل. تقارير نتائج المعمل الأصلية ربما تحفظ أو تنقل النتائج إلى جداول ملحفة، مع اعتبار أنها تشتمل غلى التاريخ ، المكان، وقت أخذ العينة، نوع العينة، تاريخ استلامها، اسم القائم بالتحليل، طريقة التحليل، النتائج الخام، الحساب للنتائج. أكد أن كل نتيجة قد أدخلت بطريقة صحيحة من أوراق المعمل ووقعت من القائم بالتحليل

11) تناول أو معالجة النتائج Data handling

توزيع المجتمعات البكتيرية Distribution of bacterial populations: فى معظم التحاليل الكيميائية توزيع نتائج التحاليل تتبع The Ganssian curveمنحنى جانسيان. التوزيع الميكروبي ليس من الضروري أن يكون متناسق. العد البكتيري غالبا يتصف بأنه له توزيع منحرف (غير متماثل) Skewed لأن العديد قيمه منخفضة والقليل هى العالية. هذه الصفات تؤدى إلى أن المتوسط الحسابي اكبر من العدد الوسطى median. منحنى التكرار لهذا التوزيع له ذيل يميني طويل Long right tail كما يظهر فى الشكل



Frequency curve (positively skewed distribution).

ويقال عنه أنه موجب الانحراف أو عدم التماثل.

تطبيق الطرق الحسابية القاسية يحتاج إلى افتراض التوزيع المتناسق مثل المنحنى العادي. وتقريبا التوزيع العادي ممكن الحصول عليه من البيانات المنحرفة بتحويل الأعداد إلى لوغاريتمها، كما يظهر فى الجدول وهذه اللوغاريتمات (جدول) تظهر أن اللوغاريتمات تقرب التوزيع المنتظم.

COLIFORM COUNTS AND THEIR LOGARITMS

MPN Coliform Count No. / 100 mL	Log MPN
11	1.041
27	1.431
36	1.556
48	1.681
80	1.903
85	1.929
120	2.079
130	2.114
136	2.134
161	2.207
317	2.501
601	2.779
760	2.881
1020	3.009
3100	3.491

$\bar{x} = 442$ $\bar{x}_s$ = antilog 2.1825 = 152

الفصل الرابع

التحكم فى الجودة أو النوعية داخل المعمل

Interlaboratory quality control

الفصل الرابع

التحكم فى الجودة أو النوعية داخل المعمل

Interlaboratory quality control

- **الخلفية العلمية**

برامج التحكم فى الجودة داخل المعمل هى وسيلة إيجاد اتفاق على، نظام عناصر معروفة للتقييم والتى ستأمن مستوى مقبول لنوعية النتائج ومتشابه بين المعامل ذات الاهتمام المتشابه و/أو الاحتياجات.

غالبا الاصطلاح اعتماد Accrediation يستعمل تبادليا مع شهادة Certification.
عادة، برامج التحكم فى الجودة داخل المعمل لها 3 عناصر:

خصائص متماثلة لعمليات المعمل، مراجعة خارجية للبرنامج، اختبار براعة خارجي.

- **خصائص متسقة**

بدأت البرامج بهدف وضع وسيلة إجبار لوضع مواصفات قياسية متسقة للمعمل لغرض معين. المشاركين ربما يكونوا من منظمة واحدة أو مجموعة من المنظمات لهم اهتمامات معروفة أو يقعوا تحت تنظيمات معروفة. غالبا مجموعة أو شخص ربما يوافق أن يضع مسودة الخصائص. إذا كانت تحت نظام، فان السلطة المنظمة ربما تضع الخصائص لرصد مطابقة التحليلات.

عينات متماثلة وطرق تحليل وخصائص Criteria للتحكم فى نوعية الأشخاص، تسهيلات، أجهزة، أدوات، إمدادات، و تناول للنتائج وإعداد تقرير كل ذلك مقترح ومناقش، مراجع، محدث إذا كان ضروري، وموافق علية من المجموعة للاستعمال العادي. توصيف الخصائص كضرورة لنوعية النتائج المقبولة يجب أن يكون إجباريا. الوثائق الرسمية تجهز وتسلم لكل المشاركين.

بعد الإدخال فى العمليات المعملية، التأكيد أن برنامج ضمان الجودة قد تكيف ودخل حيز الاستعمال الروتيني،مشرف المعمل مسئول ضمان الجودة يجريان برنامج داخلي يراجع كل العمليات والسجلات لقبولها، لتوصيف المشاكل الممكنة والمساعدة فى حلها. إذا

أجرى ذلك بطريقة جيدة، يكون هناك اهتمام بسيط بأن المراجعة الخارجية ستجد مشكلة كبيرة

- **المراجعة الخارجية للبرنامج External program review**

طالما اصبح للمعمل برنامج تأمين للنوعية أو الجودة ، تعلن الإدارة المنظمة وينظم شخص خارجي مؤهل أو ينظم فريق زيارة للموقع لتقييم برنامج ضمان الجودة لمدى القبول وللعمل مع المعمل لحل آية مشاكل. فى حالة الحصول على درجة القبول يؤكد أن برنامج ضمان الجودة للمعمل يعمل جيدا وأن المعمل لديه المقدرة أن ينتج نتائج صالحة وقوية. كثيرا ما يكرر التقييم فى الموقع وربما يعلن أو لا يعلن.

- **اختبار البارعة الخارجي External proficiency testing**

متى كان عمليا، المنظمة الخارجية تجرى دراسات تقييم للكفاءة بين كل المعامل المشتركة . تجهز عينات اعتراضيه وترسل كعينات غير معروفة مع جدول زمني للتحليلات مع عمل تقرير بالنتائج. النتائج فى التقرير تكود للخصوصية وتقيم طبقا لنظام . النتائج تلخص لكل المعامل وترسل تقارير فردية للمشتركين. أظهرت نتائج كثير من الدراسات نوعية التحاليل الروتينية لكل معمل مقارنة بكفاءة المجموعة. أيضا، نتائج المجموعة ككل تصف الكفاءة التى يمكن قبولها لطرق التحاليل المختبرة

▪ الأدوات المعملية Laboratory Apparatus

هذا الجزء يحتوى على مواصفات أجهزة معمل الميكروبيولوجى.

• مواصفات الأجهزة Equipment Specifications

- الحضانات Incubators

الحضانات يجب أن توفر حرارة متجانسة وثانيته غلى طول الوقت فى جميع الأجزاء والتى لا يجب أن تختلف أكثر من +/- 0.5 درجة مئوية. يحصل على الدقة باستعمال حضانة مائية محكومة بثرموستات معزولة جيدا موضوعة ملاصقة للحائط أو أرض الغرفة ويفضل أن تزود بوسيلة لتدوي الهواء بها. الحضانات المزودة بوحدات للتسخين لدرجة حرارة مرتفعة غير مناسبة، لأنه إذا لم يحسن وضع وحدة التسخين فإنها تسبب ارتفاع مفاجئ موضعي فى الحرارة وبالتالي يحدث جفاف حاد للبيئات، وبالتالي منع البكتريا من النمو. وعلى ذلك فينصح فى مثل هذه الحالة بلستبدال الوحدة عالية الحرارة بوحدة أخرى تعمل عند حرارة منخفضة مع تركيب وسيلة ميكانيكية لتدوير الهواء. ومن المرغوب عندما تكون درجة حرارة الغرفة تختلف بشدة، بأن توضع الحضانات فى غرفة خاصة تحفظ حرارتها عند درجة أقل قليلا من درجة حرارة الحضانات.

كبديل، استخدم غرف خاصة كحضانات وتكون معزولة جيدا ومزودة بوحدات تسخين جيدة، هواء مندفع يدور، فتحات لتغيير الهواء، تضبط على درجة الحرارة المرغوبة. عند استعمال غرف كمحضن، سجل مجال الحرارة يوميا فى المنطقة التى توضع فيها الأطباق والأنابيب للتحضين. زود الحضانات بأرفف من السلك المفتوح أو ألواح مثقبة بينها مسافات لضمان انتظام الحرارة خلال الغرفة. أترك 2.5 سم مسافة بين الحوائط وصفوف الأطباق أو سلال الأنابيب.

استعمل ترمومتر دقيق يسجل الحرارة باستمرار ومعاير بواسطة المعهد القومي للمعايرة والتكنولوجيا National Institute of Standards and Technology (NIST)، مستودع الزئبق يغمر فى سائل (جليسرين، ماء، أو زيت معدني) ويوضع على كل رف مستعمل خلال الحضانة، وسجل يوميا قراءات الحرارة (يفضل صباحا وبعد الظهر). وبالإضافة فانه من المرغوب، أن يكون هناك ترمومتر على الرف الأوسط يسجل أعلى وأقل حرارة داخل الحضانة (مجال الحرارة) خلال 24 ساعة. قدر الاختلاف فى الحرارة داخل الحضانة على فترات عندما تملأ بأقصى قدرتها. استعمل ترمومتر بمسجل عندما يكون ذلك ممكنا، ويحافظ على سجل دائم للحرارة.

طبيعيا، أن يكون هناك حمام مائي للحصول على حرارة 44.5 +/- 0.5 درجة مئوية ويكون ذا غطاء جملوني للخفض من فاقد الحرارة والماء، ويجب أن يتم دوران الماء. يحافظ على عمق الماء فى الحضانة بدرجة تكفى لغمر الأنابيب إلى مستوى البيئة فيها.

- **أفران التعقيم بالهواء الساخن Hot Air Sterilizing Ovens**

استعمل أفران التعقيم بالهواء الساخن ذات السعة المناسبة لحجم العمل حتى لا تكون مزدحمة، ويجب أن تكون منتظمة ومتماثلة الحرارة فى جميع أجزائها بحيث توفر الدرجة المناسبة للتعقيم (170 +/- 10 درجة مئوية) وتكون مزودة بترمومتر مناسب. اختياريا استخدم ترمومتر ذا مسجل

- **الأوتوكلاف Autoclave**

استخدم اوتوكلاف ذا سعة كافية بحيث تتناسب مع حجم العمل اليومي ولمنع الازدحام داخله، ويجب أن يكون مجهز بحيث يعطى حرارة متماثلة فى حيز التعقيم (حرارة التعقيم 121 درجة مئوية)، مجهز بترمومتر دقيق ومستودع الزئبق يجب أن يكون فى مستوى خروج العادم Exhaust ليسجل أقل حرارة فى غرفة التعقيم (ترمومتر بمسجل اختياريا) ويكون مجهز بمقياس للضغط وصمامات أمان مناسبة ومتصلة مباشرة بمصدر البخار المشبع، مجهز بفلتر مناسب لإزالة الجسيمات وقطرات الزيت أو متصل مباشرة بمصدر لتوليد البخار (لا تستعمل بخار من غلاية معالجة بكيماويات للتحكم فى التآكل) وقادر على الوصول إلى درجة الحرارة المطلوبة خلال 30 دقيقة. أكد، بالاختبارات الكيماوية أو الحسية، أن مصدر البخار غير معالج بكيماويات للتحكم فى التآكل والتى قد تشكل مصدرا للسمية.

استعمال أوتوكلاف أو حلة ضغط لا يوصى به لأن هناك صعوبة فى الضبط وبقاء حرارة التعقيم مع إمكانية حدوث مخاطر. إذا استعملت حلة ضغط تحت ظروف الطوارئ أو ظروف خاصة، يلزم تزويدها بمقياس للضغط وترمومتر خزان الزئبق فيه يكون 2.5 سم أعلى مستوى ا

- **أجهزة العد البصرية Optical Counting Equipment**

أ. الأطباق المصبوبة أو المفرود عليها Poured and spread plates : استعمل وسيلة عد للمستعمرات ويفضل من نوع Dark-fields، أو ما يمكن أن يوفر تكبير كاف ورؤية جيدة.

ب. المرشحات الغشائية Membrane filters : يستعمل بينوكلر Binocular بقوة تكبير 10 – 15 مرة. يمكن استعمال مصدر ضوء فلورسنت بزاوية 60 إلى 80 درجة أعلى المستعمرات، استعمل الإضاءة بزاوية منخفضة للمستعمرات الغير ملونة.

- **جهاز قياس تركيز أيون الأيدروجين pH meter**

استعمل جهاز كهربي لقياس تركيز أيون الأيدروجين، دقته على الأقل 0.1 وحدة pH لتقدير pH البيئات.

- **الميزان Balances**

استعمل ميزان يمكن أن يوفر حساسية 0.1 جرام على الأقل عند أحمال 150 جرام، استعمل ميزان تحليلي Analytical balance له حساسية 1 مجم عند حمل 10 جرام لوزن كميات بسيطة (أقل من 2 جرام) من المواد. الميزان ذا الكفة الواحدة أكثر مناسبة.

- **أدوات تحضير البيئات Media preparation Utensils**

استعمل زجاج بوروسليكات أو أى أوعية أخرى غير متآكلة مثل الاستينلس ستيل. استخدم الأدوات الزجاجية، النظيفة الخالية من البقايا، مثل الآجار الجاف أو أى مواد أخرى غريبة يمكن أن تلوث البيئة. استعمل ماصات بأى حجم مناسب، بحيث يمكنها أن تمدك بالحجم المطلوب بدقة وبسرعة. خطأ التدريج لا يجب أن يزيد عن 2.5 %. استعمل الماصات ذات التدريج الثابت وغير مكسورة النهاية.

ماصات النقل البكتريولوجى أو الماصات المتوافقة مع مواصفات APHA ربما تستعمل. لا تستعمل النفخ بالفم واستعمل مساعدات.

استعمل المخبار المدرج والذى يتوافق مع مواصفات ASTM وبدقة محددة بواسطة NIST.

- **علب الماصات Pipette Containers**

استعمل علب من الألومنيوم أو الاستنلس ستبل، مربعة أو مستديرة وطولها حوالي 40 سم. واذا كانت هذه غير متاحة، لف الماصات فى ورق منفردة. لمنع الشياط أثناء التعقيم استعمل نوعية جيدة من الورق(كرافت). لا تستعمل علب نحاسية أو من سبائك النحاس

- **الثلاجة Refrigerator**

استعمل ثلاجة توفر درجة حرارة بين 1 – 4.5 مئوية لتخزين البيئات، العينات، الأدلة وغيرها. لا تحفظ المذيبات المتطايرة، أغذية، أو مشروبات فى الثلاجة مع البيئات. الثلاجات من نوع Frost free ربما تسبب جفاف زائد للبيئات عند تخزينها لمدة أطول من أسبوع.

- **وسائل مراقبة الحرارة Temperature Monitoring Devices**

استعمل ترمومترات زجاجية أو معدنية مدرجة إلي 0.5 درجة مئوية لمراقبة الحضانات والثلاجات. استعمل ترمومترات تدريجها 0.1 درجة مئوية للحضانات التى تعمل على درجة أعلى من 45 درجة مئوية. استعمل وسائل التسجيل المستمر الحساسة. تأكد من الدقة بالمقارنة بترمومتر حاصل على شهادة من NIST أو المعادل.

- **زجاجات أو أنابيب التخفيف Dilution Bottles**

استعمل زجاجات أو أنابيب من زجاج مقاوم، يفضل البوروسليكات تغلق بغطاء زجاجي مسنفر أو غطاء قلاووظ مزود ببطانة لا ينتج عنها بالتعقيم مركبات سامة أو معبقة لنمو البكتريا. لا تستعمل سدادات القطن. يفضل استخدام الأنابيب أو الزجاجات المدرجة. يمكن استعمال الأدوات البلاستيكية من مواد غير سامة وبحجم مناسب على أساس قابليتها للتعقيم الجيد.

- **أطباق البترى Petri Dishes**

للعد البكتيري استعمل أطباق بتري زجاجية أو بلاستيكية 100 x 15 مم. استعمل أطباق قاعها خال من الفقاعات والخدوش ويكون مستو تماما وبالتالي تكون البيئة متماثلة السمك خلال الطبق. فى حالة المرشحات الغشائية استعمل أطباق بلاستيكية أو زجاجية 60 X 15 مم ذات غطاء حر أو محكم 50 X12 مم. عقم الأطباق واحتفظ بها فى علب معدنية (ألومنيوم أو استنلس ستبل ولكن ليست نحاسية) ، أو لفها فى ورق كرافت قبل التعقيم.

- **أجهزة الترشيح الغشائي Membrane Filtration Equipment**

استعمل قمع ترشيح وحامل المرشح مصنوع من ستانلس ستبل، زجاج، أو بلاستيك قابل للتعقيم فى الأوتوكلاف ، لا يسرب وغير معرض للتآكل. يمكن استعمال أجهزة خارج المعمل Field ولكن فى نفس الوقت يلزم توفير أجهزة المعمل.

- **أنابيب التخمر وأنابيب درهام Fermentation Tubes and Vials**

استعمل أنابيب التخمر من أى نوع تتناسب مع حجم البيئة والعينة المضافة. عند استعمال أنابيب اختبار تكون غاز، الحق بالأنبوبة الكبيرة أنبوبة صغيرة مقلوبة (أنبوبة درهام). الأنبوبة الصغيرة يجب أن تكون مملوءة تماما بالبيئة، وتكون مغمورة جزئيا فى البيئة، وبحجم كاف يسمح بادراك تكون فقاعات غاز ولو بحجم بسيط.

- **أجهزة الحقن Inoculating Equipment**

استعمل لوب من السلك 22 أو 24 من سبيكة نيكل كروم أو بلاتين لتحمل التعقيم باللهب. اللوب المصنوعة من الاستنلس ستبل المعاد استخدامها مقبولة لنقل النمو. استعمل لوب ذات قطر 3 مم على الأقل. يمكن استعمال ناقل من الخشب الصلب Hardwood applicator أو البلاستيك بحيث يستعمل مرة واحدة. يشترط أن يكون (0.2 – 0.3 سم فى القطر وعلى الأقل أطول من الأنبوبة بمقدار 2.5 سم تعقم بالحرارة الجافة وتخزن فى أوعية من الزجاج أو أى مادة أخرى ليس لها تأثير سام.

- **زجاجات العينات Sample Bottles**

لعينات التحليل البكتريولوجى استعمل زجاجات معقمة من الزجاج أو البلاستيك بحجم وشكل مناسب. استعمل الزجاجات التى يمكن أن تستوعب حجم كاف من العينة لإجراء جميع الاختبارات التى من المفروض إجرائها مع ترك فراغ من الهواء بالزجاجة، الزجاجة تسمح بالغسيل الجيد، تحافظ على العينة غير ملوثة حتى استكمال الاختبارات. الأوعية الزجاجية ذات الغطاء المسنفر، يفضل ذات الفوهة الواسعة والمصنوعة من الزجاج المقاوم، الأوعية البلاستيكية ذات الحجم المناسب واسعة الفوهة، والمصنوعة من مواد غير سامة مثل البولي بروبلين والممكن تكرار تعقيمها مناسبة كأوعية للعينات. أكياس البلاستيك سابقة التعقيم، مع أو بدون مادة نازعة للكلور، متوافرة تجاريا وربما تستعمل. الأوعية البلاستيكية تحد من إمكانية الكسر خلال النقل وكذلك خفيفة الوزن. الأغطية البلاستيكية أو المعدنية ذات القلاووظ والبطانة ربما تستعمل على زجاجات العينات على اعتبار أنها لا تنتج أى مركبات سامة بالتعقيم. قبل التعقيم، غط قمة ورقبة زجاجة العينة والتى لها غطاء زجاجي برقائق الألومنيوم أو ورق كرافت سميك

- **الغسيل والتعقيم Washing and Sterilization**

نظف كل الزجاجيات جيدا باستخدام منظف مناسب مع الماء الساخن. أشطف بماء ساخن لإزالة كل آثار من المركبات التى استخدمت فى الغسيل، الشطف النهائي يكون بماء نقى Laboratory pure water. إذا استعملت غسالة ميكانيكية للزجاجيات يتم تركيبها باستخدام مواد سباكة من الاستنلس ستبل أو أى مواد أخرى غير سامة. لا تستعمل أنابيب نحاسية لادخال المياه للغسالة ، استعمل الاستنلس ستبل أو أى مواد غير سامة لنظام الشطف بالماء.

عقم الأدوات الزجاجية، عدا إذا كانت فى آنية معدنية، لمدة لا تقل عن ساعة عند درجة 170 مئوية، وإذا كانت الحرارة متماثلة فى الفرن عندئذ يمكن استعمال 160 درجة مئوية. إذا كانت الأدوات الزجاجية محفوظة فى علب معدنية تعقم عند 170 درجة مئوية لمدة ساعتين. عقم زجاجات العينات الغير مصنعة من البلاستيك فى الأوتوكلاف عند 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة.فى حالة الأوعية البلاستيكية افتح الغطاء قليلا ولا تنزعه قبل التعقيم فى الأوتوكلاف لمنع تشوهها.

- **تحضير بيئات المزارع Preparation of Culture Media**

- **تخزين بيئات المزارع**

تخزن البيئات الجافة Dehydrated media فى زجاجات محكمة الغلق فى الظلام على درجة حرارة أقل من 30 مئوية فى جو قليل الرطوبة. لا تستعمل البيئة إذا تغير لونها أو أصبحت متحجرة أو تكون فقدت خواصها من حيث التدفق الحر. اشترى البيئات الجافة فى عبوات صغيرة بحيث تستهلك خلال 6 شهور بعد فتحها . استعمل البيئات الجافة والتى تحتوى على مواد انتقائية Selective agents مثل الصوديوم آزيد، أملاح الصفراء أو مشتاقتها، المضادات الحيوية، الأحماض الأمينية المحتوية على كبريت وغيرها خلال عام من الشراء وذلك للإبقاء على أقصى قدرة على الانتقاء.

حضر بيئات المزارع فى تشغيلات Batches بحيث تستعمل خلال أقل من أسبوع. وعلى ذلك، إذا كانت البيئة فى أنابيب بغطاء قلاووظ ربما تخزن لمدة تمتد إلى 3 شهور. خزن البيئات بعيدا عن الشمس المباشرة وامنع التلوث والبخر الزائد.

البيئات السائلة المعبأة فى أنابيب التخمر، إذا خزنت فى الثلاجة أو على درجة حرارة منخفضة، ربما يذوب فيها هواء كاف لإنتاج، عند التحضين عند 35 مئوية، فقاعات من الهواء فى الأنابيب. حضن أنابيب التخمر المخزنة على درجة حرارة منخفضة خلال الليل قبل الاستعمال واستبعد الأنابيب التى تحتوى على هواء. أنابيب التخمر ربما تخزن عند 25 درجة مئوية؛ ولكن بسبب البخر ربما تستعمل بسرعة تحت هذه الظروف- تسبب

تغيرات ملحوظة فى تركيز المكونات- لا تخزن على هذه الحرارة لأكثر من أسبوع.
استبعد الأنابيب التى فقدت أكثر من 1 ملل بالتبخير

- **ضبط التفاعل Adjustment of reaction**

يعبر عن حالة التفاعل بالنسبة لبيئات المزارع بتركيز أيون الأيدروجين معبرا عنه بوحدة pH . الزيادة فى تركيز أيون الأيدروجين (نقص pH) خلال التعقيم يختلف قليلا باختلاف المعقم المستعمل، والتفاعل الأساسي المطلوب للحصول على التفاعل النهائي المطلوب يجب تقديره. النقص فى pH عادة يكون 0.1 إلى 0.2 وأحيانا يصل إلي 0.3 فى البيئات مضاعفة التركيز. عند تواجد الأملاح المنظمة Buffered salts مثل الفوسفات فى البيئات، النقص فى pH البيئة ربما يمكن إهماله. اجر الاختبارات للتحكم فى ضبط تركيز أيون الأيدروجين باستخدام جهاز pH meter. نقط Titrate حجم معين من البيئة بمحلول صودا كاوية إلى pH المطلوب. احسب كمية الصودا الكاوية التى يجب إضافتها إلى الحجم الكامل من البيئة بعد الإضافة والخلط الكافي، راجع التفاعل وأضبط إذا كان ضروريا. درجة pH المطلوبة والنهائي للبيئة يعطى فى التوجيهات لتحضير كل بيئة. إذا لم يذكر شئ يكون الضبط غير ضروري. pH البيئة المحضرة (الجاهزة) نادرا ما تحتاج إلى ضبط إذا حضرت طبقا للإرشادات. عوامل مثل الخطأ فى الوزن للبيئة الجافة أو التسخين الزائد للبيئة المحضرة ربما ينتج pH نهائي غير مقبول. قدر pH، خاصة بالنسبة للبيئة المحتوية على عوامل انتقاء ، بانتظام لتأكيد التحكم فى النوعية وخواص البيئة.

- **التعقيم Sterilization**

بعد إذابة البيئة تجزأ وتعقم خلال ساعتين. لا تخزن البيئة الغير معقمة. عقم البيئات، عدا مرق السكريات فى الأوتوكلاف عند 121 مئوية لمدة 15 دقيقة. بعد وصول الحرارة إلى 121مئوية. عند وصول الضغط إلى صفر، افتح الأوتوكلاف واخرج البيئة ، بردها بسرعة لمنع تحلل السكريات مع طول التعرض للحرارة. لتسمح بالتسخين المتماثل وسرعة التبريد، استعمل أوعية صغيرة للبيئة أثناء التعقيم. عقم مرق السكريات عند 121 مئوية لمدة 12 – 15 دقيقة. أطول مدة لتعرض مرق السكريات لآي حرارة (من وقت غلق الأوتوكلاف إلى تفريغه) هو 45 دقيقة. يفضل استعمال الأوتوكلاف مزدوج الجدار للسماح بالتسخين المبدئي قبل الملأ لخفض الزمن اللازم ليكون فى حدود 45 دقيقة المحددة.

- **الماء**

لتحضير بيئات المزارع والأدلة، استعمل ماء مقطر أو ماء مزال أيوناته Reagent gradeمع

خلوه من آثار المعادن الذائبة أو المواد ذات التأثير القاتل أو مانعات النمو للبكتريا. السمية فى الماء المقطر ربما تنتج من الماء المعالج بالفلور والمرتفع فى السليكا. المصادر الأخرى للسنية هى الفضة، الرصاص، مركبات عضوية. عند استعمال الماء المكثف العائد يستعمل كمغذي للمقطر، الأمينات السامة أو مركبات الغلاية الأخرى ربما تتواجد فى الماء المقطر. الكلور المتبقي أو الكلورامين ربما يتواجدا أيضا فى الماء المقطر المحضر من ماء معالج بالكلور. إذا تواجد كلور فى الماء المقطر، عادله بإضافة كمية مكافئة من ثيوسلفات الصوديوم أو كبريتيت الصوديوم. الماء المقطر يلزم أن يكون خاليا من المغذيات الملوثة. التلوث ربما يأتى من التسخين الزائد والسريع للمواد العضوية خلال التقطير، الاستخدام المستمر لمرشحات الكربون المستهلكة Exhausted، أعمدة إزالة الأيونات التى تحتاج إلى تغيير، الرواسب من الأنابيب الجديدة، التراب وأبخرة الكيماويات، تخزين المياه فى زجاجات غير نظيفة. خزن الماء المقطر بعيدا عن أشعة الشمس المباشرة لمنع نمو الطحالب.

- **تخصص البيئات Media Specifications**

الحاجة إلى التماثل يملى عليك استعمال البيئات الجافة (المنزوع منها الماء Dehydrated). لا تلجأ إلى تركيب البيئة من مكوناتها طالما البيئة الجاهزة الجافة متوافرة. اتبع توجيهات المنتج فى تحضير البيئة وتعقيمها. يمكن استعمال البيئات جاهزة التحضير Ready to use على صورة سائلة معبأة فى امبولات ومعقمة طالما أنه معروف أنها تعطى نتائج مماثلة.

مصادر البروتين المعروفة فى معظم البيئات مثل الببتون، التربتون، التربتوز ابتكرت بواسطة منشئي Developers البيئات، وربما تظهر البيئات كمنتجات تجارية. ليس مرغوب أن تمنع استعمال المواد البديلة أو المشابهة طالما أنها تنتج نتائج مشابهة.

- **مياه التخفيف Dilution Water**

أ. المياه المنظمة Buffered water : لتحضير رصيد Stock من الفوسفات المنظم ، أذب 34 جرام بوتاسيوم فوسفات ثنائي الهيدروجين Potassium dihydrogen phosphate ($KH_2 PO_4$) فى 500 ملل ماء مقطر، أضبط pH عند 7.2 +/- 0.5 بواسطة ا نورمال صودا كاوية (NaOH) وخفف إلى لتر بماء مقطر.

أضف 1.25 ملل من محلول رصيد الفوسفات المنظم و0.5 ملل محلول كلوريد ماغنسيوم (81.1 جرام كلوريد نغنسيوم ($MgCl_2 .6H_2O$/L distilled water) إلى 1 لتر ماء مقطر. وزعها بكميات 99 +/- 2.0 ملل أو 9 +/- 0.2 ملل بعد التعقيم فى الأوتوكلاف لمدة 15 دقيقة.

ب. ماء الببتون Peptone water : حضر محلول 10 % من الببتون فى ماء مقطر. خفف حجم معين ليعطى محلول تركيز 0.1 % . أضبط pH عند 6.8 . وزع كميات 99 +/- 2 ملل أو 9 +/- 0.2 ملل بعد التعقيم لمدة 15 دقيقة.

لا تعلق البكتريا فى أى ماء تخفيف لمدة أطول من 30 دقيقة على درجة حرارة الغرفة لحدوث موت أو تكاثر.

- **بيئات الزرع Culture media**

تخصص كل بيئة مذكورة فى الجزئية الخاصة بالبيئات. التفاصيل تتوافر بعد وصف استعمال البيئة.

- جمع العينات Collection

العبوات Container

اجمع العينات للاختبارات الميكروبيولوجية فى عبوات تم تنظيفها وشطفها بعناية مع الشطف النهائي بماء مقطر، وتم تعقيمها كما ذكر مسبقا تحت بند التعقيم. لبعض الاستخدامات يتم جمع العينات فى أكياس بلاستيكية سابقة التعقيم

إزالة الكلور Dechlorination

أضف عامل اختزال إلى العبوات المعدة لجمع العينات المحتوية على كلور متبقي Residual chlorine أو أى هالوجين آخر إلا إذا احتوت على مرق Broth للزرع المباشر. ويعد ثيوسلفات الصوديوم Sodium thiosulphate ($Na_2S_2O_3$) عامل جيد لإزالة الكلور ويقوم بمعادلة الهالوجين المتبقي ويمنع استمرار القضاء على البكتريا خلال نقل العينة. وبالتالي فان الاختبار سوف يظهر المحتوى الميكروبي للمياه وقت أخذ العينة بدقة أكثر.

لأخذ عينات مخلفات سائلة معالجة بالكلور يضاف صوديوم ثيوسلفات كاف إلى زجاجة نظيفة ليعطى تركيز 100 مجم/اللتر من العينة. فى عبوة 120 ملل 0.1 ملل من محلول 10% من الصوديوم ثيوسلفات سوف يعادل عينة محتوية على حوالي 15 مجم /اللتر كلور متبقي. بالنسبة لعينات مياه الشرب، تركيز عامل نزع الكلور ربما ينخفض: 0.1 ملل من محلول 3 % من الصوديوم ثيوسلفات فى عبوة 120 ملل سوف يعطى تركيز نهائي 18 مجم/اللتر فى العينة وسوف يعادل كلور متبقي حتى 5 مجم/اللتر. فى حالة الطوارئ واستعمال تركيز عال من الكلور أضف عامل إزالة الكلور بكمية كافية وليعطى تركيز 100 مجم/اللتر من العينة.

غط العبوة وعقمها باستخدام حرارة جافة أو رطبة وكما هو موضح سابقا. متوافر على المستوى التجاري أكياس البلاستيك سابقة التعقيم والتى تحتوى على صوديوم ثيوسلفات.

اجمع عينات المياه العالية فى محتواها من النحاس أو الزنك وعينات المخلفات السائلة العالية فى محتواها من المعادن الثقيلة فى عبوات تحتوى على Chelating agent والذي يقلل من سمية المعدن. هذا يكون له مغزى بصفة خاصة إذا كان الوقت اللازم لنقل العينات 4 ساعات فأكثر. استعمل 172 مجم/اللتر من Disodium salt of

ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) . أضبط pH محلول EDTA عند 6.5 قبل الاستعمال. أضف EDTA منفردة إلى عبوة العينة قبل تعقيمها (0.3 ملل من محلول 15% إلى عبوة العينة سعة 120 ملل) أو اخلطه مع محلول الصوديوم ثيوسلفات قبل الإضافة

طريقة أخذ العينة Sampling procedure

عند جمع العينة، اترك جزء فراغ فى العبوة للهواء (على الأقل 2.5 سم) لتسهيل الخلط بالرج، قبل الاختبار. اجمع العينات الممثلة للمياه التى ستختبر، عقم فوهة العبوة واستعمل طريقة معقمة لمنع تلوث العينة. حافظ على عبوة العينة مغلقة حتى وقت ملاه ا. زل الغطاء مع ورقة القصدير كوحدة واحة معا واحرص على عدم تلوث السطح الداخلي للغطاء أو غطائه من ورق الألومنيوم وكذلك رقبة العبوة. املأ العبوة دون شطف، واعد الغطاء مباشرة بعد الاستعمال، ضع غطاء أمان (تشمع) حول رقبة العبوة.

مياه الشرب Potable water :

إذا كانت عينة المياه ستؤخذ من صنبور نظام التوزيع (الشبكات) دون مرفقات Attachments، اختار صنبور على ماسورة الخدمة متصلة بالأصل مباشرة أى لا يكون مصدر مياه الصنبور خزان أو حوض. افتح الصنبور على أقصى درجة ودع الماء يجرى إلى البالوعة من 2 إلى 3 دقائق، أو لفترة تسمح بنظافة خط الخدمة من المواسير. اخفض انسياب المياه من الصنبور لتسمح بملأ العبوة دون تناثر المياه. إذا كانت نظافة الصنبور مشكوك فيها استخدم محلول هيبوكلوريت الصوديوم (100 مجم NaOCl / اللتر) فى تطهير الصنبور: اترك المياه تنساب لمدة 2 إلى 3 دقائق بعد معالجة الصنبور. لا تأخذ العينة من صنبور فيه تسرب فان هذا يسمح للمياه بالمرور على جسم الصنبور فتتلوث. ولأخذ عينة من خلاط ، زل الملحقات مثل المصفاة مانع الرذاذ، افتح المياه الساخنة دقيقتين، ثم المياه الباردة 2 – 3 دقيقة، واجمع العينة كما ذكر أعلاه.

إذا كانت العينة ستؤخذ من بئر مثبت عليه طلمبة يدوية، دع المياه تنساب إلى البالوعة لمدة حوالي 5 دقائق قبل جمع العينة. إذا كان البئر مزود بطلمبة ميكانيكية، اجمع العينة من صنبور على المياه الخارجة. إذا لم يكن هناك طلمبة، اجمع العينة من البئر مباشرة باستعمال عبوة معقمة بها ثقل فى القاع؛ وخذ الحذر لمنع تلوث العينة من أى ريق قد يكون موجود على السطح.

عند تقييم مياه الشرب، اجمع عينات من المياه النهائية ومن مواقع توزيع مختارة لتأكيد تغطية منتظمة كل شهر. باحتراس اختار مواقع عينات شبكة التوزيع لتشمل النهايات Dead-end لتمثل النوعية الميكروبيولوجية خلال الشبكة لتأكيد أن التلوث الموضعي من

خلال تقاطع خطوط الصرف الصحي مع خطوط مياه الشرب Cross-connections، الكسور فى خطوط التوزيع، أو خلال انخفاض الضغط الموجب لا يتواجد. مواقع جمع العينة قد يكون مواقع عامة، مراكز الشرطة ومكافحة الحريق، مبنى مكاتب حكومية، مدارس، محطات الأوتوبيس أو القطار، مطار، غابات ترتاد من الجمهور)، المنشآت التجارية (المطاعم، محطات البنزين، مباني المكاتب، مصانع)، إقامة خاصة

(مباني الشقق، إقامة فردية، مجمعات المنازل)، ومحطات خاصة للعينات مبنية على شبكة التوزيع. ضع برنامج للعينات بالاتفاق مع مسئول الصحة .

مصدر المياه الخام Raw water supply :

لجمع عينات من نهر، مجرى، بحيرة، خزان، ينبوع، أو بئر غير عميق مباشرة، احصل على عينات ممثلة من المياه التى تمثل مصدرا لإمداد المستهلكين. ليس من المستحب أخذ عينات قريبا جدا من الشاطئ أو بعيدة جدا عن نقط السحب، أو على عمق أعلى أو اسفل نقطة السحب.

المياه السطحية Surface water :

من دراسة المنطقة اختر مواقع عينات البكتريولوجى لتشمل موقع أعلى التيار ، مصبات مخلفات الصناعة والصرف الصحي فى منطقة دراسة المجرى الأساسي، الفروع عدا ذات التدفق Flow أقل من 10% من المجرى الأصلي، نقط المآخذ لمحطات المياه والمصانع، عينات اسفل التيار تعتمد على وقت تدفق المجرى Stream flow time ، ومناطق الاستجمام Recreational areas اسفل التيار. انتشار المخلفات السائلة فى المجارى المستقبلة ربما يجعل ضروريا عمل دراسة لمقطع Cross-section لتقدير استكمال الخلط. شمول مجرى فرعى يلزم اختيار نقطة جمع العينات قرب الالتقاء مع المجرى الأساسي. ربما تجمع العينات من قارب أو كوبري قرب نقط الدراسة الخطير. اختار تكرار العينات ليعكس حالة المجرى أو جسم المياه. مثلا، لتقيم مخارج المخلفات، اجمع عينة كل 4 إلى 6 ساعات ويمتد الوقت من 7 إلى 10 أيام.

لمراقبة نوعية مياه جدول وبحيرة حدد أماكن العينات عند المواقع الخطيرة. تكرار العينات ربما يكون موسميا بالنسبة لمياه الاستجمام Recreational، يوميا بالنسبة لمآخذ مصادر المياه، كل ساعة عندما يكون هناك اضطراب فى التحكم فى معالجة المخلفات والناتج يصرف فى مناطق جمع المحار Shellfish .

شواطئ الاستحمام Bathing beaches :

مواقع العينات فى مناطق الاستجمام يلزم أن تعكس نوعية المياه خلال منطقة الاستجمام. اشمل مواقع من المساحات المحيطة أعلى المجرى والمواقع الملاصقة لمصارف أو المحيط الطبيعي االذى تصرف فيه تجمعات مياه العواصف أو مخلفات خزانات الصرف الصحى. اجمع عينات من منطقة السباحة على عمق حوالي 1 متر. خذ فى الاعتبار عينات الرواسب Sediment من مكان التقاء المياه مع الشاطئ لأن الأطفال الصغار يتعرضون لها.

للحصول على معلومات على نوعية مياه البحار للسباحة يجب أن تشتمل العينات المستوى العالي والمنخفض والمد والجزر.

اربط تكرارية العينات بفترة الذروة للاستحمام، والتى عموما تحدث بعد الظهر. من المفضل جمع عينات يومية خلال موسم السباحة؛ بحد أدنى أيام الجمعة، السبت، الأحد والعطلات . وعند اقتصار العينات على أيام الذروة ، يفضل جمع العينات فى الصباح وبعد الظهر. اربط نتائج البكتريولوجى بمستويات العكارة أو سقوط الأمطار على المياه لعمل تقييم سريع للتغير فى نوعية المياه.

الرواسب والحمأة Sediment and sludges :

الحالة البكتريولوجية لرواسب القاع هامة فى خزانات مصادر المياه، فى البحيرات، الأنهار، والمياه الساحلية المستعملة لأغراض الاستجمام، ومياه تنمية المحاريات Shellfish . الرواسب ربما توفر بيان كامل للنوعية العامة للمياه أعلاها والتى تغطيها، خاصة عندما توجد اختلافات كبيرة فى نوعية المياه.

تكرارية العينات فى الخزانات (احتياطي المياه Reservoirs) والبحيرات ربما ترجع أكثر إلى التغيرات الموسمية فى حرارة الماء وجريان مياه العواصف. التغيرات فى رواسب القاع فى مياه النهر ربما تكون متأثرة بجريان مياه العواصف، زيادة سرعة التيار، والتغيرات المفاجئة فى نوعية المياه الواردة إلى النهر.

الاختبارات البكتريولوجيه للمواد الصلبة الحيوية Biosolids من المياه وعمليات معالجة المخلفات السائلة مرغوبة لتقدير تأثير صرفها فى المياه التى تستقبلها, الصرف فى المحيطات أو عمليات دفنها فى المحيطات، الاستعمال فى التربة أو الدفن فى التربة. مراقبة الحمأة ربما تظهر أيضا فعالية عمليات معالجة المخلفات السائلة.

اجمع وعامل المواد الصلبة الحيوية وذات المحتوى أقل من 7% مواد صلبة كليه تتبع طريقة عينات أخرى خلاف مياه الشرب. أما إذا كان محتواها أكثر من 7% وقوامها بلاستيكي أو شبه صلب مثل الحمأة التى أجرى عليها معالجة لتكون سميكة فإنها تحتاج

إلى جهد متناه لكي تنساب. مقاومة الانسياب هذه تنتج توزيع غير متجانس من المواد الصلبة الحيوية فى الخزانات والبحيرات الضحلة Lagoons. استعمل مقطع مستعرض Cross - section لأخذ عينة من المواد الصلبة الحيوية لتقدير توزيع الكائنات الدقيقة خلال هذه التجمعات. استعمل جهاز جمع العينات به زجاجة مركب فيها ثقل تفتح على العمق المطلوب عند مواقع محددة.

المخلفات الصلبة الحيوية والمعالجة لا تحتوى على سوائل حرة فانه من الأفضل أن تجمع العينات أثناء النقل. فتجمع العينات باستخدام Grab sample عبر عرض الناقل ويتم تكوين عينة مركب Composite sample

جمع العينات يدويا Manual sampling :

خذ عينات من النهر، النهير Stream ، البحيرة، أو الخزان Reservoir بمسك وعاء العينة من قرب قاعه باليد وغامرا له، مع جعل الرقبة مائلة، اسفل السطح. لف الوعاء حتى تصبح الرقبة إلى أعلى مع توجيه الفوهة نحو التيار. وإذا لم يكن هناك تيار، كما فى حالة المياه المخزنة، اعمل تيار صناعي بدفع الوعاء إلى الأمام أفقيا فى اتجاه بعيدا عن اليد. إذا كان جمع العينات يتم من قارب، خذ العينات من جانب القارب فى اتجاه ضد التيار Upstream . إذا لم يكن ذلك ممكنا خذ العينات بالكيفية التالية من هذه المواقع. ثبت ثقل فى قاعدة وعاء جمع العينات واخفضه فى الماء. فى كل الأحوال، خذ الحذر لمنع التلامس مع الشاطئ أو القاع، وإلا ربما يحدث تلوث للمياه

أدوات جمع العينات Sampling apparatus :

تلزم أدوات خاصة والتى تسمح بإزالة غطاء وعاء جمع العينات تحت سطح الماء لجمع عينات من أعماق البحيرة أو المياه المخزنة. متوافر أنواع مختلفة من الوسائل لجمع العينات على أعماق. الأكثر شيوعا من الأجهزة هو ZoBell J-Z (1941) وفيه يستخدم وعاء 350 ملل معقم وغطاء من المطاط من خلاله تمر قطعة من الزجاج. هذه الأنبوبة متصلة بقطعة أخرى من الزجاج بواسطة خرطوم مطاط. الوحدة مثبته على إطار معدني يحتوى على سلك ومرسل أو ناقل Messenger .

عندما يطلق المرسل، فانه ينفذ إلى القطعة الزجاجية عند النقطة المضعفة بخدش. أنبوبة الزجاجية تكسر بالمرسل والتوتر سهل المنال بواسطة المطاط الذي يصل الخرطوم ينطلق والسدادة تدور إلى الجانب. تشفط المياه فى العبوة كنتيجة للتفريغ الجزئي الناشئ

عند غلق الوحدة فى وقت التعقيم. ومتاح تكيف Adaptation تجاري لهذا الجهاز وغيره.

رواسب القاع تحتاج إلى جهاز للحصول على عينات منها والجهاز الذى وصفه VanDonsel &Geldreich (1971) وجد أنه فعال لأخذ عينات من مواد متعددة من القاع لمياه عميقة أو سطحية. جهاز العينات هذا يفضل أن يكون من الاستنلس ستبل وملائم لأكياس البلاستيك المعقمة. بعد نفاذ الجهاز للرواسب يقفل الكيس بحبل رايلون. قضيب منزلق يحفظ الكيس مغلق خلال النزول ويفتح خلال جمع العينة.

لجمع عينات المخلفات السائلة، النظام السابق يعتبر بصفة عامة مناسب.

- **حجم العينة**

حجم العينة يلزم أن يكون كافيا لإجراء جميع الاختبارات اللازمة ويفضل أن لا تقل عن 100 ملل.

- **الحفظ والتخزين Preservation and Storage**

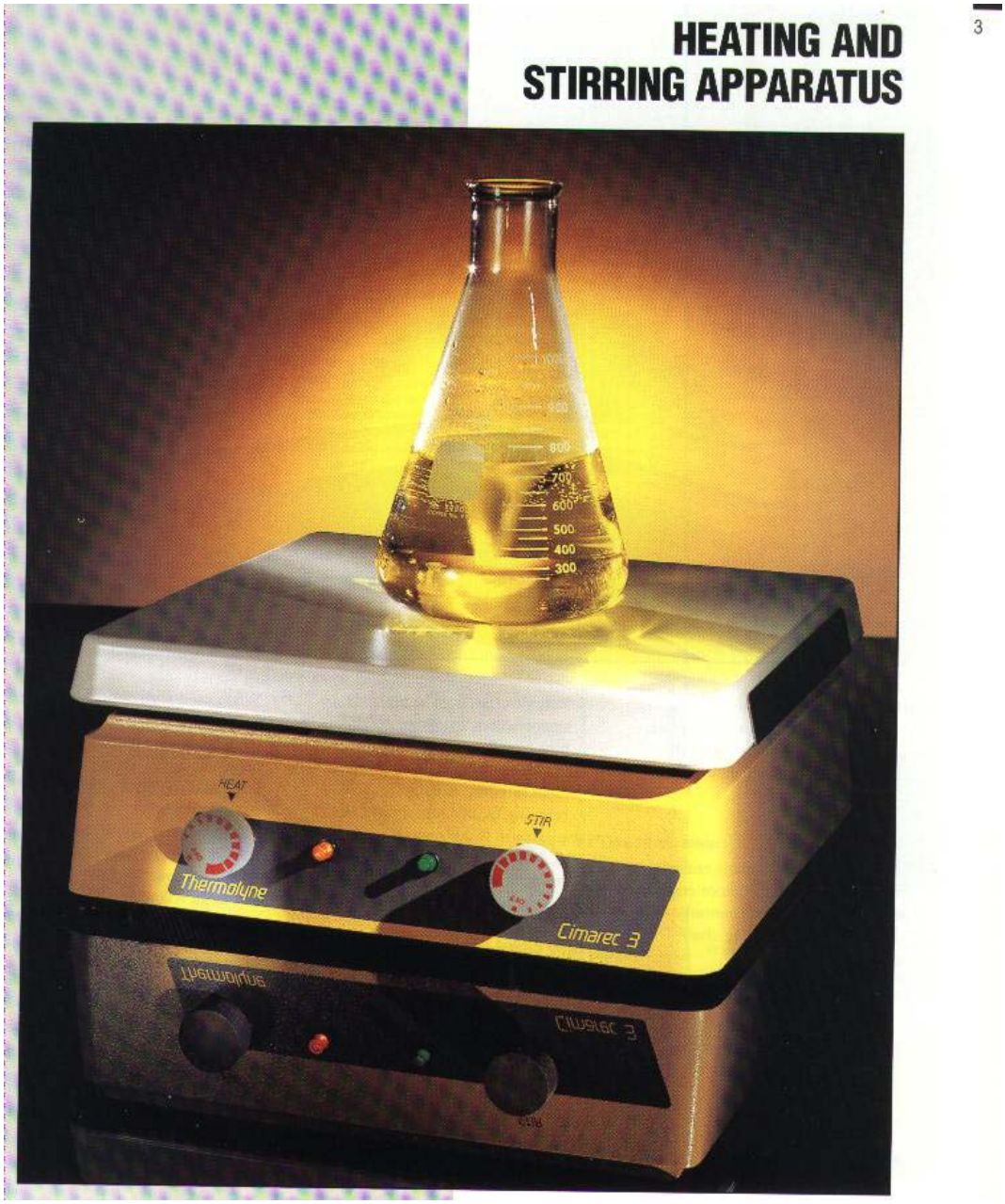
ابدأ الاختبارات الميكروبيولوجية لعيرة الماء مباشرة بعد الجمع لمنع التغيرات. إذا لم يمكن إجراء ذلك خلال ساعة من الجمع استعمل مبرد الثلج للحفظ خلال النقل إلى المعمل. إذا كان معروفا أن النتائج سوف تستعمل فى ناحية قانونية، استعمل ناقل خاص لجلب العينات إلى المعمل خلال 6 ساعات.

اجعل حرارة كل عينات النهيرات الملوثة ، مياه الشرب، وعينات المخلفات السائلة تحت 10 درجة مئوية خلال فترة النقل وأقصاه 6 ساعات. برد هذه العينات فى الثلاجة وعند استلامها فى المعمل يتم تحليلها خلال ساعتين. عندما تستدعى الظروف المحلية تأخير وصول العينات عن 6 ساعات، قم بإجراء الاختبارات فى الحقل باستخدام الأجهزة الحقلية أو استعمل طرق التأخير فى التحضين Delayed incubation procedures.

لسوء الحظ، هذه الاحتياجات نادرا ما تكون حقيقية فى حالة عينات مياه الشرب الفردية والتى تنقل مباشرة إلى المعمل بالطائرة، الأوتوبيس وغير ذلك ولكن الوقت الذى يمضى بين الجمع والاختبار لا يجب أن يزيد عن 24 ساعة. فى حالة عدم توافر التبريد للعينات الفردية المرسلة عن طريق الجو، استعمل ترموس، والذى يمكن تعقيمه. سجل الوقت وحرارة التخزين لكل العينات مع الأخذ فى الاعتبار التفاصيل فى تفسير البيانات والنتائج.

ANNEX 1

MEDIA PREPARATION



Heating and Stirring Apparatus

MEDIA DISTRIBUTION

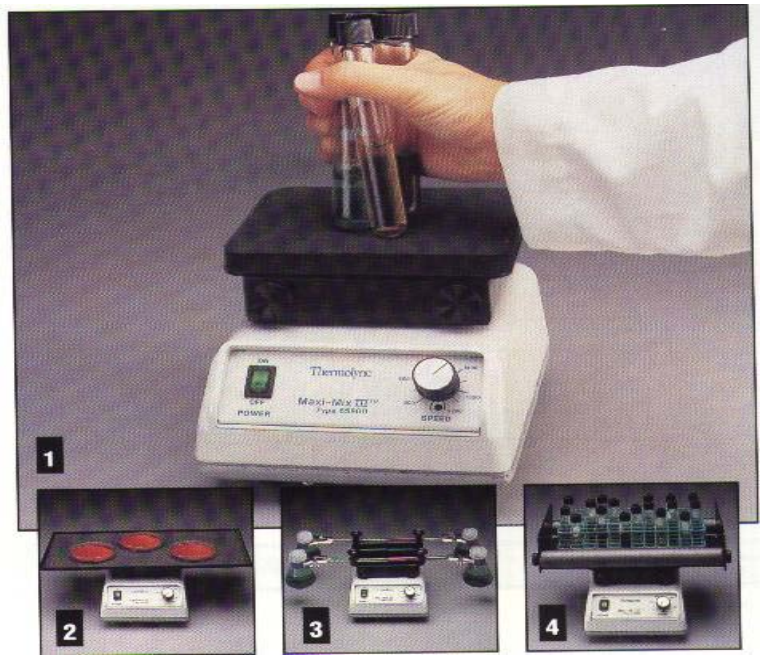
ANNEX 2

MEDIA IN PLATES

AUTOMATED
MEDIA
PREPARATION

STERILIZ-ATION for SMALL AMOUNT of MEDIA

MEDIA INOCULATION



Vortex and Shaking

Vortex for Single Tube

ANNEX 3

CENTREFUGE

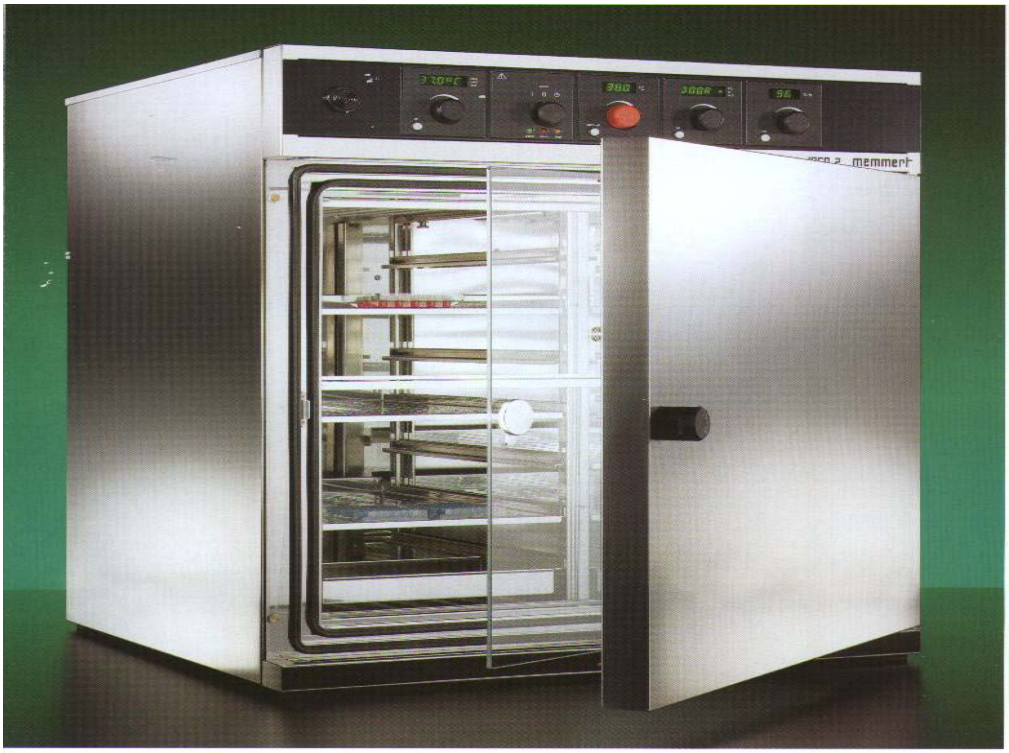
HIGH SPEED REFRIGERATED
MULTI-FUNCTION
CENTRIFUGE

MR 22

G.P. Variable Speed Centrifuge
Centurion
280
50
▲ 8 x 15ml/10 x 15ml Rotors (Cat Nos. 8008/10118)
G.P. Centrifuge (Cat No. 822)
▼ 4 x 4.5ml Swing out Rotor (Cat No. 8093)

ANNEX 4

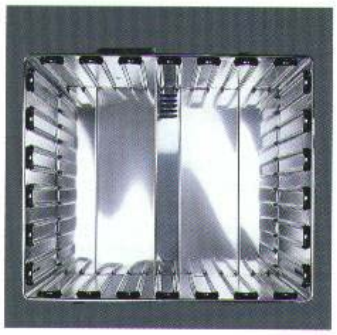
INCUBATOR

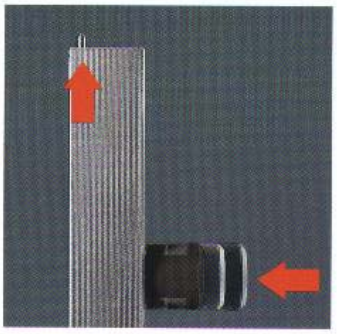

memmert

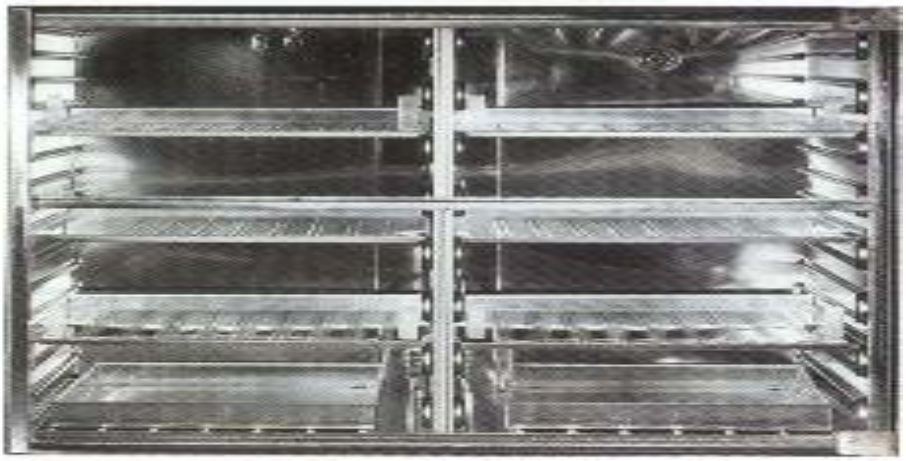
memmert

Incubator with Glass Door and Fan

At Memmert the control panel is ideally placed at eye level (and not at the level of the door handle or the base of the appliance). Functional, matt black and therefore dazzle-free operating modules, with their ergonomically designed switches, knobs, scales and displays (we consciously avoid the use of bright colours) facilitate – even when the doors are open – perfect identification of the set values and operating conditions as well as problem-free operation of the ovens (no "dashboard" in the door, no fiddly typing with foil keys).
Through innovative manufacturing technology the stainless steel oven body is now more rigid, more service friendly, and still more pleasing in appearance.



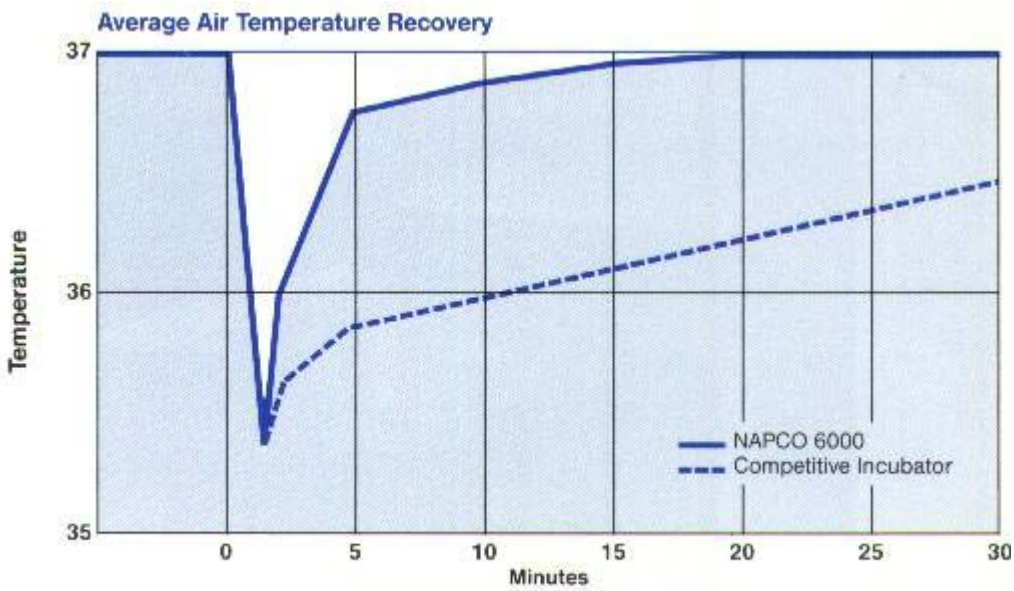




The deep-drawn stainless steel interior with rounded easy-to-clean corners is subjected to a final electropolishing process to produce a closed and therefore particularly hygienic surface with reduced danger of contamination.
Fig.: INCO 2/246

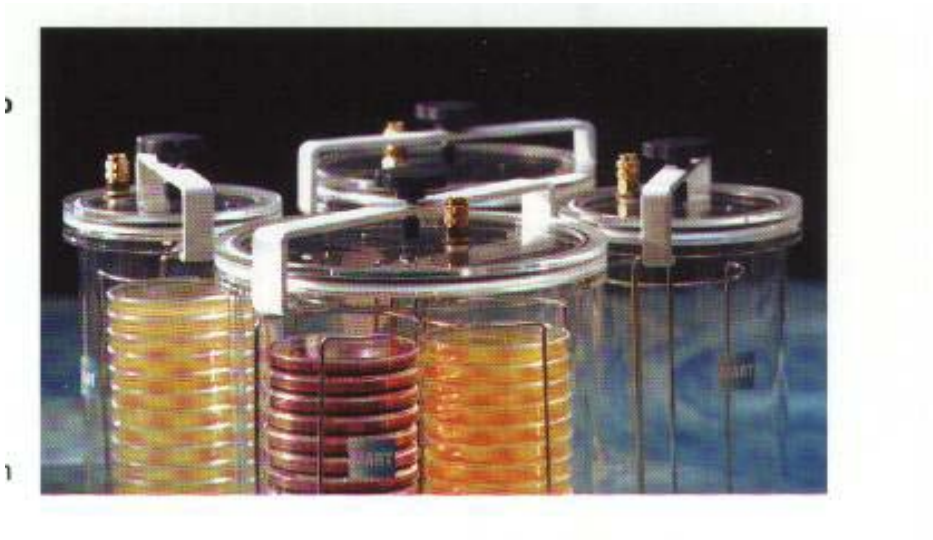
The deep-drawn large-area ribs are integral with the interior walls and ensure particularly gentle and uniform heating of the entire chamber while supporting the non-tilting stainless steel shelves. Automatic hot air sterilisation without removing the CO_2 measuring cell.

The interior, although usable over its full width, is fitted as standard on INCO 2/246 with a 4-part partitioning (dismantled for cleaning) which, in conjunction with the standard gas baffle, limits CO_2 loss on loading and unloading.



As this graph illustrates, NAPCO incubators return to setpoint conditions up to three times faster than ordinary incubators. Data compares a NAPCO 6000 Water-Jacketed Incubator with a comparable water-jacketed incubator. Testing was performed at ambient room temperature and humidity.

Incubation Return Setpoint Temperature

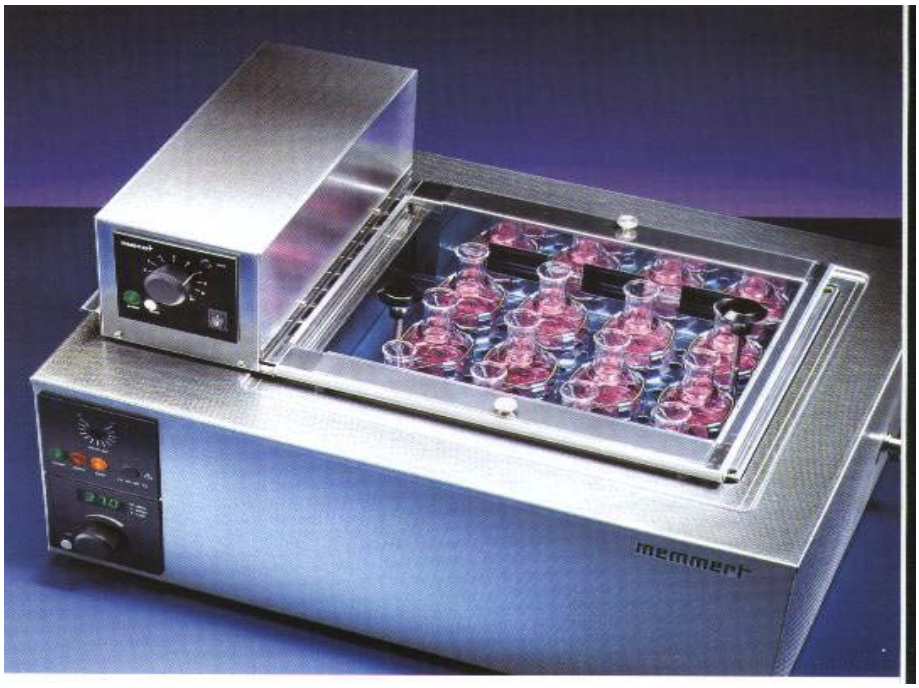


ANAEROBIC INCUBATION

ANNEX 5

WATER BATH

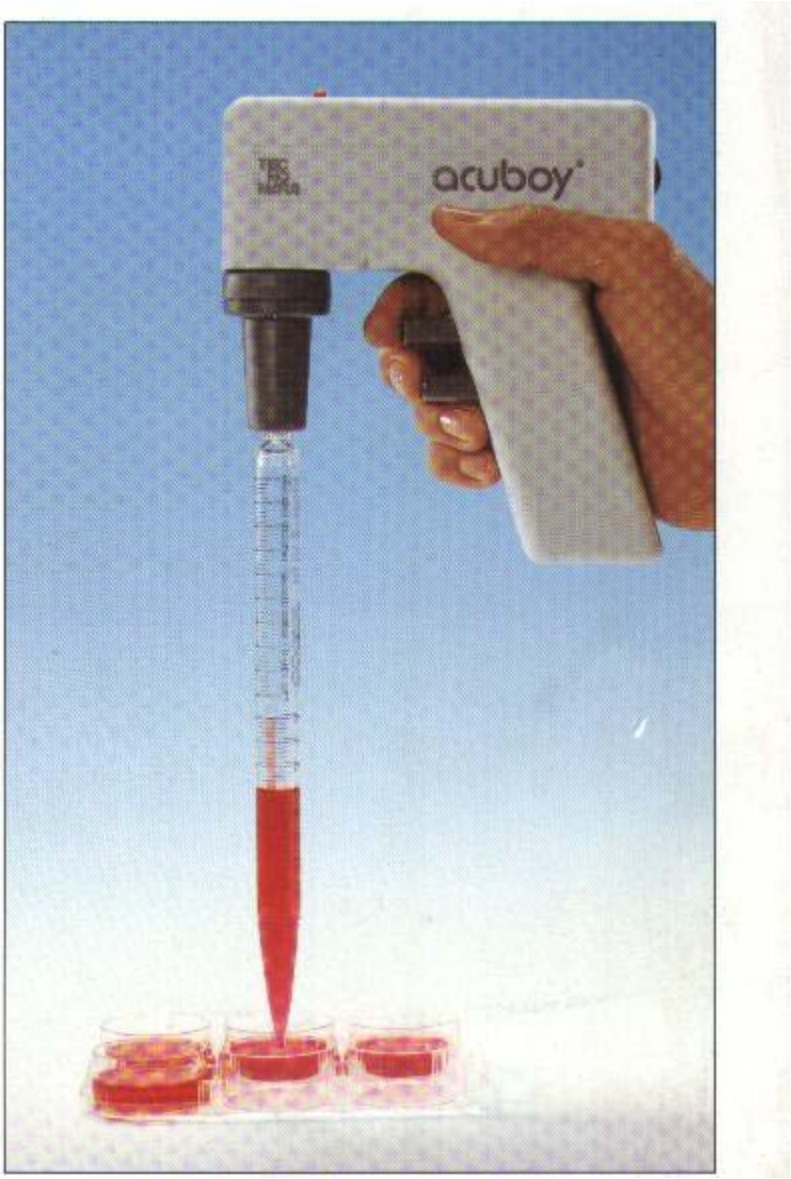
memmert


memmert

ANNEX 6

PIPET

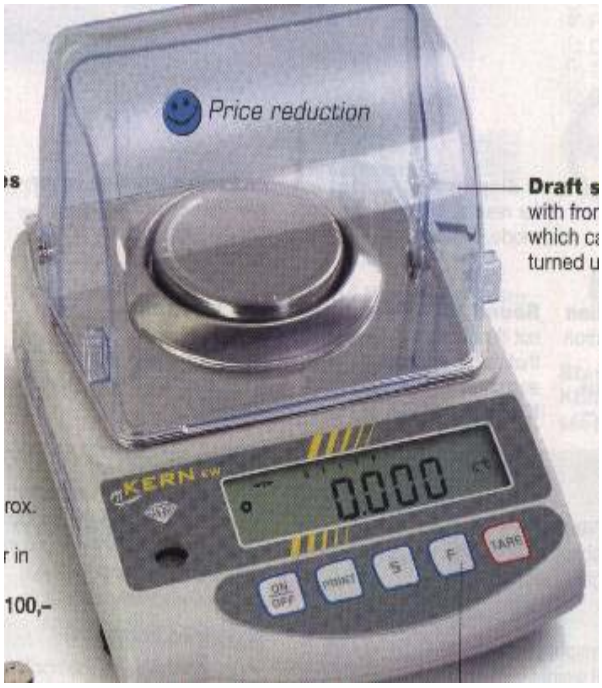
TES

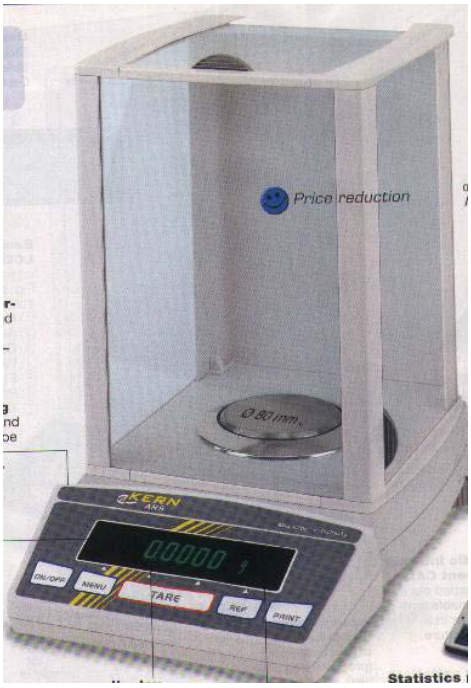


AUTOMATIC PIPETTE

ANNEX 7

BALANCES


Price reduction
KERN
0.000
ON OFF
PRINT
S
F
TARE


Price reduction
KERN
ON/OFF
MENU
TARE
REF
PRINT

Solar cells
Stainless steel weighing plate Ø 140 mm
NEW by KERN
KERN
ON/OFF
TARE
HOLD

ANNEX 8

BURNER

BURNER

ANNEX 9

MEMBRANE FILTRATION

Necessary Analytical Equipment

This section describes the Millipore equipment available for environmental microbiological analyses.

Fig. 4

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 13

Colony Visualization Apparatus

Colony examination, especially the coliform sheen colonies, require a minimum 10x magnification and fluorescent illumination.

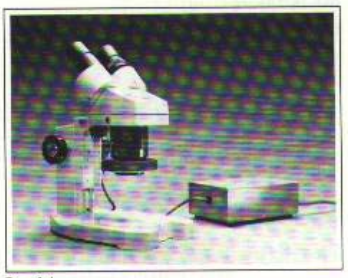


Fig. 14

Fig. 15

Filtration

The procedures that follow illustrate the use of a single Glass Filter Holder, but the test may be performed with any of several 47mm Millipore filter holders, either singly or in a manifold.

Fig. 24

3. Prepare the filtration apparatus as shown. Be sure to use a water trap between the pump and the filter holder.

ANNEX 10

REAGENT GRADE WATER

Compact Milli-Q 50 Reagent Grade Water Systems

- Produce ultrapure water on demand
- Provide consistent water purity
- Trouble-free maintenance

Function

Milli-Q Reagent Grade Systems are a reliable, cost-effective source of ultrapure water for the laboratory. Typical applications include clinical assays, reagent preparation, critical washing steps, qualitative chemistries, and flame AA/ICP.

These systems produce ultrapure, 18 megohm-cm water, on demand, at up to 0.7 liters per minute. Storage is not required, so there's no concern over degrading water quality. Maintenance is simple as cartridges can be changed in minutes without tools.

Specifications

General

Dimensions: 495 mm (H) x 297 mm (W) x 433 mm (D)
Weight: 13 kg
Electrical Requirements: 115 V/60 Hz/ 3.8 amp
Plumbing Connections: Feed 8 mm polyamide tubing connector

Inlet Water Requirements

Operating Temperature: 37°C (100°F) maximum; 5°C (40°F) minimum
Water Pressure: 0.5-14 psig
Feed must be pretreated by reverse osmosis, distillation, or deionization.
Water Production Rate: 0.7 l/min

Effluent Quality

Total dissolved solids (ppb): <20
Silicates (ppm): 0.01
Heavy metals (ppb): <1
Organics (ppb): <50
Microorganisms (cfu/ml): <10
Particulates (<0.22 µm): <1
Resistivity (megohm-cm at 25°C): 18
Grain-removal capacity (as $CaCO_3$): 800

Ordering Information

Description		Catalogue No.
Milli-Q Water System		
4-bowl, 115 V/60 Hz		ZD20 115 84
3-bowl, 115 V/60 Hz		ZD20 115 83
4-bowl, 220 V/50 Hz-UF		ZFMQ 240 UF
4-bowl, 220 V/50 HZ		ZFMQ 240 04
Expendables		
Milligard TP Cartridge, 10"	3/pk	CWSS 01T P3
Super-C Cartridge, 12"	4/pk	CDFC 012 04
Ion-Ex Cartridge, 12"	2/pk	CDMB 012 02
Millipak Filter Unit, 0.22 µm, sterile	2/pk	MPGL 04S K2
Ultrapure cartridge kit (exchange kit for 3-bowl system) includes: 1 carbon cartridge, 2 ion-exchange cartridges, and 1 Millipak final filter.		CDMF 012 04
Ultrapure cartridge kit (for 4-bowl Milli-Q system) includes: 1 carbon cartridge, 2 ion-exchange cartridges, 1 Milligard cartridge, and 1 Millipak final filter.		CDMF 012 05
Accessories		
TP Ion-Ex Cartridge, 12"	2/pk	CPMB 012 02
Pressure Regulator		ZD00 023 32
Organex-Q Cartridge	1/pk	CDEX 012 01
Ultrafilter cartridge for pyrogen-free systems	1/pk	CDUF 012 01

The Milli-Q 185 Plus Reagent Grade Water Purification System

Ease of use

The patented QPAK™ purification pack makes the Milli-Q 185 Plus system extremely easy to service. There is no requirement to remove multiple bowls and cartridges. No tools are required. Simply unplug the pack when it requires exchanging and plug in a new one. Annual exchange of the U.V. lamp is sufficient for optimum performance.

Final filtration

The dispense point of the system is fitted with a disposable Millipak™ filter unit containing only 2 materials: the 0.22 µm Durapore® PVDF membrane and polycarbonate (for housing and support structure). The Millipak filter unit is thermoplastically welded to avoid extractables from adhesives.

Feed water pretreatment

The Milli-Q 185 Plus system is designed to provide the final purification to pretreated water.
Pretreated water can be produced by Reverse Osmosis, Distillation, or Deionization. Millipore Milli-RO® Plus Reverse Osmosis systems provide the best source of pretreated water, in terms of final water quality and longevity of the purification pack. This is due to the "breadth" of purification provided by Reverse Osmosis. Reverse Osmosis is effective at removing a high percentage* of all four classes of contaminants found in normal tapwater:

- Inorganic Ions > 95% removal
- Organics (>300 MW) 99% removal
- Particulate Matter 99% removal
- Microorganisms 99% removal

* Percentage depends on membrane type. Values above are typical for TFC polyamide membranes.

Purification packs

Milli-Q purification packs (QPAK) are constructed of pure polypropylene with polypropylene end caps. All elements are thermally or ultrasonically welded to minimize extractables associated with the use of adhesives.
There are two types of pack available. Selection depends on the quality of feed-water used.

Purification pack: QPAK1

(to be used if feed water has been pretreated by reverse osmosis or distillation)

This purification pack contains activated carbon to remove dissolved organics, nuclear grade ion exchange resins to "polish" out inorganic ions to 18.2 Megohm·cm resistivity plus the Organex-Q™ organic scavenger mixture to remove trace organics.

Purification pack: QPAK2

(to be used if feed water has been pretreated by deionization)

Deionized water typically contains higher levels of particulate/colloidal matter, microorganisms, and organics than water produced by reverse osmosis or distillation. Accordingly, this purification pack contains an initial 0.5 µm prefilter to protect the other purification media. The pack also contains activated carbon, nuclear grade ion exchange resin, and the Organex-Q organic scavenger mixture.

Compact and versatile

The system is extremely compact (only 495mm high, 297mm wide, 433mm deep) and can be bench-top operated or wall mounted.

Consistently high water quality

Destruction of dissolved organic compounds by photooxidation results in a rapid rinse-down of the system. Optimum water quality is reached quickly, even after non-use periods.

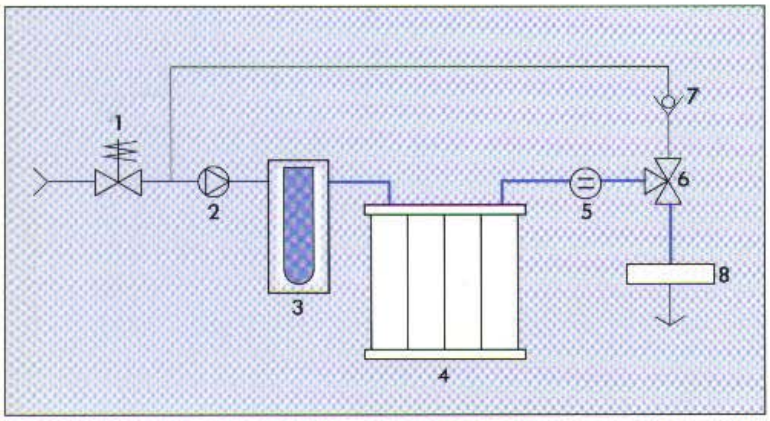
High purity components

All materials and components used in the Milli-Q 185 Plus system have been specifically selected and validated to guarantee a high purity level. All tubing and fittings in the hydraulic circuit between the ultraviolet lamp and the point-of-use final filter are made of PTFE.

User friendly

The system incorporates an indicator which signals the user when the purification pack should be changed in order to maintain low levels of Total Organic Carbon (T.O.C.). An additional indicator is illuminated when the ultraviolet lamp is operating.
An alphanumeric display clearly indicates the operating status of the system at all times.
The system has a built-in test of the accuracy of the resistivity measurement system. This test is carried out automatically each time the system is switched on. During periods of no demand, the system can be switched to standby operation. During standby operation water quality is maintained by automatic intermittent recirculation at preset intervals. This ensures rapid rise to quality when demand occurs, without the need to keep the pump running throughout the day. The built-in resistivity meter is temperature compensated to 25 °C, which is the standard for measuring ultrapure water.

Specifications



Flow schematic

1 – Inlet solenoid valve
2 – Pump
3 – U.V. photooxidation chamber
4 – Purification pack
5 – Resistivity sensor
6 – 3-way valve (manual)
7 – Check valve
8 – Millipak filter unit
— PTFE tubing and fittings

Flow rate

1.5 l/min.

Inlet Pressure

1 bar maximum.

Connections

8 mm polyamide inlet tubing connector.

Electrical requirements

230 V/50 Hz, 180 VA.
Fuse: 1 Amp., slow blow.

Dimensions

Height: 495 mm,
width: 297 mm,
depth: 433 mm.

Weight

17 kg operating weight.

Materials

Cabinet and purification pack: polypropylene; three way valve and outlet fitting: PVDF; tubing: PTFE; pump: 316 stainless steek (bodyl - Ryton® 316 stainless steel (internal componentsl.
U.V. lamp envelope and sleeve: ultrapure Quartz.
U.V. lamp housing: 316 L electropolished stainless steel.

Reverse Osmosis : the ideal purification method to pretreat Milli-Q185Plus feed water

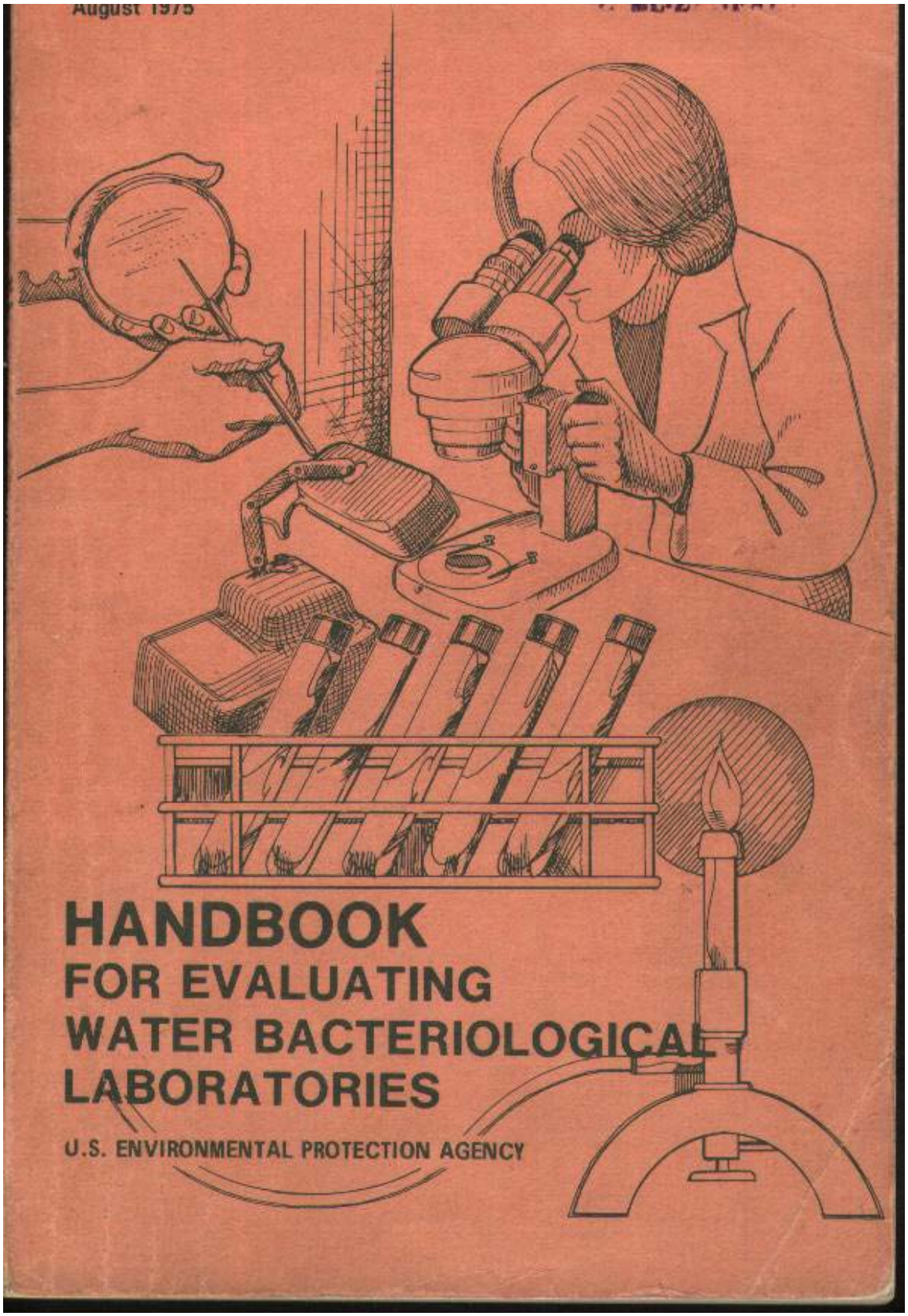
Water purification by Reverse Osmosis has rapidly developed from a scientific curiosity in the early 1960's to a well accepted technology for the production of purified water in today's analytical and research laboratories.
Reverse Osmosis is a "broad-based" primary purification technique which removes a high percentage of the four main classes of contaminants : inorganic ions, organics, particles and microorganisms.
As a result, Reverse Osmosis is, in many cases, an acceptable alternative to distillation for the production of general laboratory grade water. This water is ideal as a final rinse in glassware washing machines and for many other general laboratory applications such as analytical operations not requiring reagent grade water.
In addition, Millipore's Milli-RO Plus systems provide the ideal pretreated water to feed the entire range of Milli-Q systems, including the Milli-Q185Plus system.

Millipore Milli-RO Plus Reverse Osmosis Systems are available for 6 l/h (left) to 90 l/h (right) of purified general laboratory grade water.

For details on Milli-RO Plus Reverse Osmosis Systems, please contact your nearest Millipore subsidiary (see last page).

ANNEX 11

FOR READING


August 1975
HANDBOOK
FOR EVALUATING
WATER BACTERIOLOGICAL
LABORATORIES
U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY

CHAPTER X
LABORATORY MANAGEMENT

Laboratory involvement in developing the support data used for monitoring water quality has paralleled the increased concern over environmental pollution. Bacteriological services offered by the water laboratory, in addition to the traditional examination of potable waters, may also include gathering stream pollution data, monitoring fresh and saline recreational water qualities, checking the quality of shellfish growing waters, and evaluating effluent qualities from a variety of water users. The extent of these examinations will be governed by staff size, experience and training, and laboratory space and the availability of specialized equipment and safety provisions for handling waterborne pathogen investigations.

LABORATORY RECORDS

State health and environmental laboratories and municipal water plant laboratories examine approximately 3.5 million samples annually from this Nation's public and private water supplies. Frequency of unsatisfactory samples reported from public supplies, serving some 180 million individuals, varies from state to state but most often ranges from 3 to 5 percent. By contrast, about 40 to 60 percent of all private domestic water supplies, serving approximately 33 million consumers, fail to meet the Federal Drinking Water Standards. Available national data indicate that the MF procedure is being used by 72 state and branch laboratories and by over 125 municipal laboratories. MF applications range from use on only stream pollution samples to the analysis of all public and private potable waters.

Inspection of laboratory records on the bacteriological examination of public water supplies occasionally uncovers evidence of insufficient data retention, filing backlogs, and poor data retrieval. Compilations of data on water samples examined during the year should include a breakdown on the total number of samples for each of the following waters: public, private, swimming pool, natural bathing, and stream. Records from some laboratories using the MPN test must be divided by 5 because total examinations have been padded by counting five tubes per test as five examinations.

A study of the available engineering division's records for municipal supplies may indicate that only a minimum of the information available from the laboratory water sample report is being retained. Thus, inspection of laboratory water sample reports are, in general, more meaningful in evaluating the scope of the surveillance program. In one engineering record system, only the total number of positive tubes and the total number of presumptive tubes inoculated per month were recorded. This

made it impossible to reconstruct the MPN value for any given unsatisfactory sample or samples during the month, and the attempt to analyze these records for evidence of a repeat sampling requirement based on specific instances of unsatisfactory sample results was inconclusive.

Data submitted on water-stained report sheets must not be arbitrarily selected for use in monthly reports on public water supply monitoring only when results are satisfactory and be rejected when the laboratory findings are unsatisfactory. Any hypothesis that water-stained reports means the samples did leak in transit and become contaminated is difficult to substantiate by facts. The more logical explanation for water-stained reports is found in the common occurrence of wetness on the outside of the bottle acquired during sample collection. These water droplets then stain the laboratory report form, which often is wrapped around the bottle, then inserted into the mailing tube or sample case. Upon arrival in the laboratory, any received samples found to leak either from improper screw cap closure, defective cap liners, or cracked bottles should be rejected and the report marked with an explanation for rejection. Another sample must be immediately requested for analysis. Any further rejection of some laboratory reports based on water-stained sample sheets should be discontinued as purely speculative.

LABORATORY REPORTS

Reports on the examination of potable water samples may be prepared by the laboratory division personnel or, exclusively, by the division of engineering clerical staff. Uniformity in state record systems is rare. Report forms vary in complexity from a minimum of information on the specific sample to a detailed sanitary evaluation of the supply. The bacteriological water-sample report form for potable water must include information that identifies sample location, time and date of collection, sample collector's initials, time of receipt in the laboratory, and total coliform occurrence per 100 ml. Additional essential information spaces should be available for reporting chlorine residual, turbidity, standard plate count (48 hours at 35°C) per 1 ml, and a check box that states the sample does or does not conform to the Federal Drinking Water Standards. Finally, the form should also include a check spot to specify if the water sample is routine (part of the normal monitoring program), a recheck sample (repeat sample requested when potable water results are unsatisfactory), or a special sample. This latter information would be of assistance to the laboratory in processing samples and to the engineering section in separating repeat sample information from routine sampling data. The form sizes vary from quarter-page, half-page, and full-page, to cards used in IBM systems. Copies may be prepared with carbon, with forms where no carbon is required, or by various office copier machines. Reports may be kept 1, 3, or 5 years or on a perpetual basis with long-term storage on microfilm or in storage boxes located in state archives. In general, retrieval of records beyond 2 years is frequently difficult because of the location of inactive file storage areas.

Current files of reports on public water supplies may be indexed by individual municipal supplies, by county or regional area, or by month. In several states, the individual records for municipal supplies are scattered

over the state in the files of branch laboratories assigned the responsibility for examining the municipal water supplies in their geographical area.

PERSONNEL

The size of the laboratory staff required for a given volume of bacteriological examinations may be difficult to predict because of such factors as demands due to other laboratory program needs, availability of laboratory support personnel, and personnel involvement with laboratory administration and clerical duties. An analysis of 1965 to 1970 data on laboratory staffing indicates that 89.0 percent of the central state laboratories had only one to four technicians; 89.3 percent of municipal laboratories employed one to three technicians; and 92.6 percent of private laboratories had only one or two technicians involved in water analysis on a part-time basis. For the number of samples that could be analyzed per technician, data from 10 state laboratories employing the MF procedure was used to estimate an average of 5,400 samples per year. This estimate is about 10 percent higher than the 4,900 samples per year examined, on the average, by technicians using the MPN procedure in 36 other state and branch laboratories. A greater difference in workload would be evident if the numerous related duties (milk and food analyses, record keeping, etc.) common to these state health department laboratories were not involved.

Ideally, the professional staff should include a senior bacteriologist with a major in bacteriology from a recognized college and a MS (or MA) degree or equivalent experience in water bacteriology. As an assistant to the unit chief, the second staff member should have graduated from a recognized college with a major in bacteriology-biology or have equivalent practical experience in water bacteriology. Such employees can carry out or supervise routine test procedures, training activities, consultations on methods and problems, and evaluations of new or routine procedures as needed. Because of the greater number of samples collected during the summer months, qualified temporary help, to work under the direct supervision of the bacteriologists, may be added as required.

Laboratory support personnel, i.e. scientific aids, are also needed to clean glassware and prepare sterile media, sample bottles, and other materials. The specific number of scientific aids required is determined by demands for their services from other laboratory program needs, the volume of disposable plastic items used, the number of water examinations conducted, and the choice and variety of tests performed. Our study of man-power requirements in 18 state laboratories during the period 1965 to 1970 showed that for each staff bacteriologist in the water laboratory, the full-time support of 1.4 scientific aids, assigned to the preparation unit, was needed. In terms of the total number of samples examined each year, these same laboratories required back-up services of one scientific aid for every 6,900 water samples examined per year.

The laboratory staff must also have clerical support to type, file, and distribute copies of reports to the laboratory director, sanitary engineering section, water companies, and private individuals. Laboratory activities also require such additional services as handling telephone mes-

sages, preparing correspondence, requisitioning supplies, and compiling semi-annual or annual summaries of laboratory activities. In large laboratory operations, these activities generally require the services of two full-time clerk-typists; in the small municipal laboratory, one clerk-typist should be sufficient.

REFERENCE MATERIAL

A copy of the current edition of *Standard Methods* must be available in the laboratory for immediate use when some aspect of methodology must be reviewed, since this essential reference undergoes substantial revision with each new edition. Some state laboratory systems have prepared excellent methods manuals for distribution to laboratories within their states. These manuals serve as a guide to proper sampling techniques, and provide protocol on sample transit-time restrictions, the use of report forms, laboratory procedures, and data interpretation. This technical information is useful to sanitarians and laboratory personnel in city and county health departments, water works personnel, and institutions involved in the bacteriological examination of water. Concerted effort should be made to periodically up-date these manuals and to circulate them throughout the state to all laboratories. In addition, such references as the EPA manual on microbiological procedures (see reference 36, page 121) on approved protocols and the EPA student training manual (EPA-430/1-74-008, available from NTIS) employed for analysis of municipal effluents should be available and used.

A newsletter, initiated from the office of the state laboratory director on a quarterly basis, can be useful for keeping regional laboratory personnel informed of significant activities related to the mission responsibilities of the laboratory system. The newsletter could also include comments on operating and maintaining laboratory equipment, plus evaluation reports on equipment items for specific laboratory needs that might be purchased in the future.

Reference books that are recommended, but not mandatory, include recent editions of college textbooks on bacteriology, chemistry, statistics, the Merk Index, and commercial application manuals on dehydrated media and testing procedures. Other suggested references, which should be available in the laboratory, include current editions of training manuals acquired through staff participation in state-of-the-art laboratory courses given by the state health department or environmental agency or other specialized courses given by universities. Federal agencies, and commercial interests sponsoring workshops and seminars. Since the science of water bacteriology, chemistry, biology, and sanitary engineering is progressing at a rapid pace, it is essential that professional personnel be given the opportunity to obtain short-term specialized training in new concepts, instrumentation, and methodology.

Several laboratory groups can establish a policy of cooperative sharing of scientific periodicals obtained through personal memberships in various scientific societies. By circulating current journal issues among the staff or by alerting staff members to articles that relate to their specialties, the entire work group can be informed on new research findings. Among the scientific journals that frequently contain articles on water bacteriol-

ogy are Journal of the Water Pollution Control Federation; Applied Microbiology; Health Laboratory Science; Journal of the American Water Works Association; and Water Research: The International Journal on Water Pollution Research.

LABORATORY FACILITIES

Laboratory space must be adequate to accommodate periods of peak work load. Working space requirements must include sufficient bench-top area for processing samples; storage space for media, glassware, and portable equipment items; floor space for stationary equipment (incubators, water baths, refrigerators, etc.); and an adequate associated area for cleaning glassware and sterilizing materials. The bench-top working area needed for processing samples has been estimated to approximate 4 to 6 linear feet of continuous area per technician. This figure is a practical estimate derived from space requirements observed in various laboratories performing routine analyses. Where more specialized bacteriological examination of water is required, or in laboratories involved in bacteriological research, this space requirement may be inadequate.

The space required for both laboratory work and materials preparation in small water plant laboratories may be consolidated into one room, with the various functions allocated to different sections of the room. In larger water plants, county health department laboratories, and in state and Federal laboratories, the laboratory working area and supporting functions should be in separate rooms but located on the same floor and in proximity to each other. For laboratories engaged in various disciplines—i.e., water, milk, food—work space must be increased proportionally so that water and other samples may be processed as necessary throughout the day without the need to program limited work space and time for one or the other type of sample examination. Where laboratory facilities are limited, the quality of work and the reliability of data may be impaired.

Where possible, media preparation, glassware processing, and sterilization of materials for different laboratory groups in multi-function laboratories should be consolidated. Combining these services results in more economic operation, more efficient use of manpower assigned to these duties, and less duplication of equipment needed for such services (e.g., autoclaves, hot-air sterilizers, automatic glassware washers, automatic pipetting machines, pH meters, balances).

The laboratory should be located in a clean, well-lighted, well-ventilated room (preferably air conditioned) that is reasonably free of dust and draft and not subject to excessive temperature changes. A light intensity of 60 to 100 foot candles is recommended at all working surfaces (1). A bench height of 36 inches provides knee space and convenience for the technician who may choose to stand or sit while performing various tasks. Laboratory benches, 30 inches high should also be provided for use in counting pour plates and MF cultures, in scanning Gram stains, and in recording data on laboratory work sheets. Laboratory table or bench-top working areas should be level to avoid uneven colony distribution over pour plates or over the effective filtration area of MF's. A laboratory sink

is essential for the disposal of discarded samples, surplus media, or sample filtrates derived from MF procedures.

Ample cabinets, drawers, and/or shelves should be available in the laboratory for storage and protection of glassware, small laboratory equipment, and other materials, especially when sterilized items are stored for any length of time. The storage area for dehydrated media should not be located near the glassware working area because summer temperatures and humidity may cause deterioration of dehydrated media supplies.

LABORATORY SAFETY

Laboratory safety, which must be an integral and conscious effort in everyday laboratory operations, should provide safeguards to correct facility deficiencies and equipment failures, avoid electric shock, prevent fire, prevent accidental chemical spills, minimize microbiological dangers, and minimize radiation exposures (2-7). Laboratories now are under the Occupational Safety and Health Act or state equivalent safety and health program. Free consultation and advising services from these groups are usually available for safety programs.

Room space must be adequate to avoid storing equipment and supplies along traffic areas that must be accessible to carts, portable equipment, and free movement of technicians. The floors of the laboratory should be clean, dry, and free from projections that might trip personnel or jam cart passage. When floor wax is required, a nonskid wax should be chosen.

Protective maintenance of autoclaves requires periodic inspections by a representative of the manufacturer (see section on Autoclaves in Chapter III). Operating instructions for autoclaves and stills should be posted nearby, particularly if such equipment may be used by inexperienced personnel or on weekends or holidays when those routinely responsible for operation are away.

Electrical service in the laboratory should conform with local, state, or national electrical codes (8). Service feeders must be of adequate size as specified by the applicable electric code and be properly protected from overload by either automatic circuit breakers or fuses. All electrical outlets should be properly grounded using a three-wire ground system. In addition to providing equipment grounds, the three-prong plug orients connections to the electrical wiring so that the hot and neutral side of the equipment circuit always remain at the same potential. In the absence of the three-wire ground system, a separate ground wire, size No. 14 or 16 gauge, must be connected from laboratory equipment to a cold water pipe as a protection from electrical shock. Open wiring should not be used in the laboratory.

All laboratories should have access to both foam and carbon dioxide type fire extinguishers. Foam extinguishers are effective on small fires in ordinary combustible materials and in small quantitites of flammable liquids or grease. Carbon dioxide fire extinguishers must be used where electrical equipment fires occur. These fire extinguishers must be periodically inspected and replaced as necessary. Fire extinguishers should be located either in the laboratory or in a corridor so that a person need not travel more than 50 feet from any point to reach the nearest extinguisher.

Other equipment that should be available in case of fire or chemical accidents includes gas masks, fire blankets, and emergency shower stations. Fire exits from the laboratory must remain clear at all times and not become cluttered with equipment, boxes, or cartons of supplies.

Although the hazards from handling and storing chemicals in the bacteriological laboratory may not be of the magnitude found in the chemistry laboratory, bacteriologists and other laboratory personnel are often unaware of the basic safety rules that must be followed. All chemical containers must be clearly labeled; any materials in unlabeled containers should be carefully discarded. After a reagent has been used, any residual material adhering to the outside of the bottle should be wiped or rinsed off to prevent contact with the hands during future handlings. Flammable solvents should be stored either in an approved solvent storage cabinet or in a well-ventilated area. Avoid storing solvents above eye level in the work area, near open flames, or in refrigerators or cold rooms that also are used to store stock cultures and media. Fumes from leaking containers of organic solvents are often toxic to bacteria. Oxidizing materials such as nitrates and chlorates should be stored in a dry area separate from organic material. When it is necessary to open bottles that may be under pressure (hydrochloric acid or ammonium hydroxide), cover the bottle with a towel to intercept any chemical spray. Bottle carriers should be used when transporting glass bottles containing hazardous chemicals (acids, corrosives, or flammable liquids).

Compressed gas cylinders should be stored and transported with the shipping cap on. Use a wheeled cart to transport large cylinders, and be certain the cylinders are secured at all times. Gas cylinders should be stored and used in an upright position, being fastened securely and well away from any heat source. Before use, double check the identity of the gas cylinder to be certain it is the kind required for the experiment, and always use a reducing valve or preset pressure controller on the cylinder outlet. Do not force connections or use some improvised adaptors.

The microbial agents that might be of potential hazard in the water laboratory are those that could produce disease of varying degrees of severity (as the result of accidental inoculation or injection or other means of cutaneous penetration) but that should be contained by ordinary laboratory techniques (9). Basic dangers associated with microbiological hazards in the laboratory involve (a) hand-mouth contact while handling contaminated laboratory materials and (b) aerosols created by pipetting, centrifuging, or blending samples or cultures and those created by use of inoculating loops (10).

Aerosols can be created by blowing out the last drop from pipettes. Do not mix dilutions by blowing air through a pipet into the culture. When working with grossly polluted water samples, such as sewage or high-density bacterial emulsions, the use of cotton plugs in the mouth end or a rubber bulb attached to the mouth end of the pipet is recommended to prevent the accidental ingestion of sample material. Since untreated waters may contain waterborne pathogens, it is essential that all used pipets be discarded into a jar containing a disinfectant solution for decontamination before these items are returned to personnel responsible for glassware washing. The habit of placing discarded pipets on table tops,

laboratory carts, or in sinks without adequate decontamination presents an unnecessary health risk to the laboratory personnel. Quaternary ammonium compounds that include a compatible detergent and solutions of sodium hypochlorites are satisfactory disinfectants for pipet discard jars. The highest concentrations recommended for these commercial products should be used provided this concentration does not cause a loss of markings or fogging of glass pipets. Disinfectant solutions in the discard container should be replaced each morning to ensure maximum disinfection action. Contaminated materials (cultures, samples, used glassware, sereological discards, etc.) must be sterilized by autoclaving before being thrown away or being processed for reuse.

Shattering of culture-containing tubes during centrifugation liberates voluminous quantities of bacterial aerosol in the laboratory (11, 12). Blenders must be leak-proof and tightly covered during operation to prevent creating an aerosol spray that might contaminate technicians stationed some distance away. An investigation of various inoculating loop techniques showed that inserting a hot loop into a flask of broth culture created the greatest hazard in terms of aerosolized bacteria (13). The use of electric heater incineration for sterilizing inoculating loops or needles may be a desirable procedure, but observe caution to avoid a possible electrical shock that could occur if the person holding the loop touches the inside of the heater core while also being grounded (14).

Good personal hygienic practices are important in the control of contact exposures. Frequent disinfection of hands and working surfaces is essential. Smoking, eating, or taking coffee breaks at the work bench should be avoided. Drinking water should be available outside the laboratory, preferably from a foot-operated drinking fountain. The laboratory staff should also be immunized against tetanus and possibly typhoid or other infectious agents that might be under investigation.

Flies and other insect occurrences must be minimized in the laboratory to prevent contamination of sterile equipment, media, samples, and bacterial cultures in addition to the obvious desire to prevent any spread of infectious organisms to the personnel via this vehicle. Control measures must include restriction on food storage in desks and storage cabinets, installation of screens in all windows and outer doors for those laboratories without air-conditioning, and a program of periodic spraying of insecticide along toe-stripping, sink and storage cabinet areas, and utility service channels. Since some laboratories also include a chemistry section that analyzes waters for pesticides, application of insecticides to suppress insect occurrences must be carefully restricted to the immediate areas of the bacteriological laboratory section.

In those laboratories where radioactive chemicals for tracer studies and rapid bacterial detection systems are used, personnel should carry film badges or pocket radiation dosimeters for monitoring individual exposure. Records should be kept of yearly total exposure for each individual staff member. Work areas where radioactive materials are used should be monitored once a week and these readings logged also. Area monitoring should be conducted using a survey instrument (a Geiger-Müller or ionization chamber type) capable of detecting 0.01 milliroentgen per hour, with a maximum of 0.5 milliroentgen per hour at full-scale detection on

the lowest setting. Using disposable laboratory items will eliminate many washing problems. Radioactive-contaminated disposable items can be placed in special waste containers, which, when full, can be disposed of by the radiation safety officer. Nondisposable lab-ware contaminated by radioactivity should be held apart from other lab-ware items for suitable cleanup procedures. Where C^{14}-labeled compounds are used, liquid wastes may safely be released into the sanitary sewer provided the quantity released does not exceed an average concentration of 0.02 microcuries per liter. Other radioactive liquid wastes may also be disposed of via the sanitary sewer subject to concentration limits established under Federal regulations (15). Protective plastic or rubber gloves should be worn whenever handling radioactive liquids as a protection for skin cuts or hangnails. When hands are contaminated, they should be thoroughly washed (2 to 3 minutes) in warm water using mild soap or detergent. In no case should abrasive and/or alkaline soap be used. Washing should be repeated several times with the exposed skin area monitored for radioactivity until the hands are decontaminated.

Finally, every laboratory should have a copy of a manual on laboratory safety and a laboratory emergency treatment chart for guidelines in first-aid treatment of accident victims. First aid supplies should be checked frequently to replace out-of-stock items or items that have limited shelf life.

REFERENCES

1. Division of Hospital Facilities (Public Health Service, Federal Security Agency) et al. State Public Health Laboratory. Amer. Jour. Pub. Health 40:48-62 (1950).
2. Wedeun, A. G., Hanel, E., Phillips, G. B., and Miller, O. T. Laboratory Design for Study of Infectious Disease. Amer. Jour. Pub. Health 46:1102-1113 (1956).
3. Steere, N. W., Ed. Handbook of Laboratory Safety. Chemical Rubber Company, Cleveland, Ohio (1967).
4. Manufacturing Chemists Association. Guide to Safety in the Chemical Laboratory. Van Nostrand Co., Inc., New York (1954).
5. Darlow, H. M. Safety in the Microbiological Laboratory. In: Methods in Microbiology. Vol. 1. J. R. Norris and D. W. Ribbons, Eds. Academic Press, New York, p. 169-204 (1969).
6. National Bureau of Standards. Control and Removal of Radioactive Contamination in Laboratories. Handbook No. 48. (Available as National Council on Radiation Protection Report 8, Washington, D.C. 20014) (1951).
7. Science Products Division, Mallinckrodt Chemical Works. Laboratory Safety Handbook. Mallinckrodt Chem. Works, St. Louis, Mo. 60 p. (1969).
8. National Electrical Code 1968: A U.S.A. Standard. National Fire Protection Assoc. Boston, Mass. 466 p. (1968).
9. Office of Biosafety. Classification of Etiologic Agents on the Basis of Hazard. 4th ed. 13 p. Center for Disease Control, Atlanta, Ga. (July 1974).
10. Phillips, G. B., Microbiological Safety in U.S. and Foreign Laboratories. Technical Study 35. Biological Laboratories Project 4B11-05-015. U.S. Army Chemical Corps, Fort Detrick, Md. 291 p. (Sept. 1961).
11. Reitman, M., and Phillips, G. B. Biological Hazards of Common Laboratory Procedures. III. The Centrifuge. Amer. Jour. Med. Technol. 22:100-110 (1956).
12. Hall, C. V. A Biological Safety Centrifuge. Health Lab. Sci. 12:104-106 (1975).
13. Phillips, G. B., and Reitman, M. Biological Hazards of Common Laboratory Procedures. IV. The Inoculating Loop. Amer. Jour. Med. Technol. 22:16-17 (1956).
14. Gordon, R. C., and Davenport, C. V. Simple Modification to Improve Usefulness of the Bacti-cinerator. Appl. Microbiol. 26:423 (1973).
15. U.S. Code of Federal Regulations. Title 10, Section 20.303. p. 166. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1974).

GUIDELINES ON LABORATORY MANAGEMENT

Laboratory Records

Results assembled and available for inspection ..... _____
Data processed rapidly through laboratory and engineering sections ..... _____
Adequate data retention, efficient filing system, and prompt
channeling of report copies ..... _____
Number of tests per year
MPN Test - Type of sample _____
Confirmed (+)_____ (−)_____ (Total)_____
Completed (+)_____ (−)_____ (Total)_____
MF Test - Type of Sample _____
Direct Count (+)_____ (−)_____ (Total)_____
Verified Count (+)_____ (−)_____ (Total)_____

Personnel

Adequately trained or supervised for bacteriological examination of water . _____
Personnel involved:
Professional staff (total) _____
Sub-professional support (total) _____
Clerical assistance (total) _____

Reference Material

Copy of *Standard Methods* (current edition) available in the laboratory ... _____
State or Federal manuals on bacteriological procedures available for staff use _____
State or Federal agency newsletter on laboratory information
available for staff use ..... _____
Scientific journals in water research accessible ..... _____

Laboratory Facilities

Laboratory room space and bench-top area adequate for needs
during peak work periods ..... _____
Prep room space adequate and located near laboratory ..... _____
Sufficient cabinet space for media, chemicals, glassware,
and equipment storage ..... _____
Facilities clean, with adequate lighting and ventilation, and reasonably
free from dust and drafts ..... _____
Office space and equipment available for processing water examination
reports and mailing sample bottles ..... _____

Laboratory Safety

Personnel and carts permitted mobility without obstructions
that cause accidents ..... _____
Adequately functioning autoclaves and stills, with periodic
inspection and maintenance ..... _____
Electrical service conforms to local, state or National Electrical Codes ... _____
All electrical equipment grounded through three-wire system or
separate ground to cold water pipe ..... _____
Foam-type and carbon dioxide fire extinguishers accessible ..... _____
Fire exits from laboratory clear at all times ..... _____
Emergency (deluge) shower accessible and functional ..... _____
Safety features such as pipet waste jars with disinfectant, centrifuge
shield, splatter guard, and blender covers employed to avoid
bacterial aerosols ..... _____
Approved practices for handling and disposing of radioactive
chemicals used in special bacteriological procedures ..... _____

First aid supplies available and not out-dated ..... _____
Personnel trained to safely handle steam, flames, chemicals, pathogens, etc. _____
Personnel indoctrinated in first aid emergency procedures, fire control, etc. _____
Broken glass, sharp needles, etc., properly handled and disposed of ..... _____

CHAPTER XI
THE NARRATIVE REPORT

PREPARING A NARRATIVE REPORT

Once the on-site evaluation of the laboratory has been completed, including an informal conference summation of the findings, a narrative report must be prepared by the laboratory survey officer to accompany the completed survey form (EPA-103, Bacteriological Survey for Water Laboratories). The primary purpose of this report is to inform Federal and state authorities in the water supply program as to the acceptability of data being developed in the laboratory for use in water quality monitoring. This status report is then further detailed with recommendations directed toward furthering improved data refinement and monitoring effectiveness. Where deviations from *Standard Methods* or the recommended procedures in the EPA Microbiology Methods Manual are observed, the problem should be described with supporting evidence. Recommendations must also include an adequate rationale of the need for change. The technical report must not be used by the laboratory survey officer as a mechanism to express unsupported personal opinions nor should the report be used to promote personal favorite choices of methods, media, instruments, or commercial products without factual data or other evidence to support such claims. The text must be written in clear, concise, precise language. Sheer bulkiness of the report is no criterion of excellence. Finally, the narrative report must be prepared promptly upon laboratory survey officer's return to the duty station while the facts are still readily recalled from notes, survey form, and memory. The Federal Water Supply program recommends the following format:

1. Title

This first section of the report immediately identifies the what, where, when, and by whom for the reader.

Survey Report on the
Bacteriological Examination of Water
at the
(name of laboratory)
(street address)
(City, State, Zip Code)
(date of survey)
by
(name, title, organization,
and address
of reviewing consultant)

2. Laboratory Certification Status

This section immediately announces the survey officer's decision on the laboratory certification status.

Example:

> The equipment and procedures employed in the bacteriological analysis of water by this laboratory conformed with the provisions of *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (current edition) and with the provisions of the Federal *Drinking Water Standards* (see most recent update in the Federal Register), except for the items marked with a cross "X" on the accompanying survey form (EPA-103). Items marked "O" do not apply to the procedures programed in this laboratory. Specific deviations are described, and appropriate remedial action for compliance is given in the following recommendations:

3. Recommendations

List each deviation by item number used on the survey form; describe exact deviation, supplement by tabular data or specific case histories if necessary, and recommend procedural change for compliance with standard procedures.

4. Laboratory Evaluation Program

This section applies only when a Federal or state laboratory program, whose responsibility it is to evaluate other water laboratories within its geographical areas of responsibility, is, itself, being evaluated. All laboratories known to examine water within the geographical area, the nature of their involvement (bacteriological), dates of the most recent laboratory evaluations, and the names of the specific survey officers should be tabulated. Results of a split sampling program for these certified laboratories should also be included in the table whenever this supplemental service is performed. Where the program activity requires the endorsement of new or additional survey officers, a statement of their acceptability should be included in this section. Such endorsements can only be made after the senior evaluation officer in the state or Federal laboratory evaluation service has observed the candidate's technical competence and approach to the assignment during a survey.

Example:

> Ms. O. Serve, Supervising Microbiologist III, is the designated state water laboratory survey officer. During my 2-day conference on laboratory procedures at the Central Laboratory, Ms. Serve demonstrated the qualities of temperament desirable to obtain the cooperation of laboratory personnel in improving their procedures where necessary, without incurring a feeling of resentment. Ms. Serve is familiar with bacteriological indicator concepts, detection methods using multiple tube, membrane filter and pour plate techniques, laboratory ap-

paratus, media requirements, and analyses of laboratory records. For these reasons, we are pleased to certify Ms. Serve as the State Environmental Protection Agency (or State Health Department) water laboratory survey officer.

5. Remarks

Additional comments on procedures, description of special tests, record systems, equipment, space, and personnel needs may be included under this head. If there are no remarks, delete this section from narrative report.

6. Commendation

If there is administrative protocol or laboratory leadership in the water program deserving special commendation, place such remarks under this head. Such commendation should only be used for outstanding performance and include an adequate description of the impact on the water program. If no commendation is included, delete this section from narrative report.

7. Personnel Certification

Names and titles of personnel together with a general statement of the scope of procedures for which each individual has been approved are listed in this section. Names listed either by rank or in alphabetical order. Examples:

Dr. E. Coli, supervising bacteriologist, is approved for the application of multiple tube procedure and membrane filter method for total coliform detection and the standard plate count to the examination of potable water; and the fecal coliform, fecal streptococcus and *Salmonella* techniques to a variety of raw surface and groundwaters used for public water supply intake and treatment.

Ms. C. Water, laboratory technician, is approved for the application of the membrane filter total coliform procedure, and standard plate count examination of potable water.

As an alternative approach, personnel certification may also be given in a blanket approval to the staff, if all are equally knowledgeable and involved in the various water examination procedures. Example:

The following laboratory personnel are approved for the application of the membrane filter total coliform procedure (or multiple tube procedure) and the standard plate count to the examination of potable water:

Dr. P. Gram, Supervising Microbiologist
Mrs. B. Scope, Public Health Bacteriologist
Mr. M. Filter, Laboratory Technician IV

This staff is also approved for the application of total coliform, fecal coliform, fecal streptococcus, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Salmonella* procedures

to a variety of waters including fresh and marine recreational waters, effluents, and stream water quality measurements.

8. Conclusions

Give descriptive conclusions: include recommendations for approval or rejection of the laboratory. Typical conclusions of laboratory quality fall into one of three categories: (a) unqualified acceptance; (b) qualified acceptance; or (c) prohibitive status. Unqualified acceptance is the highest rating given to those laboratories that had no apparent deviations from standard procedures during the period of the on-site survey. Qualified acceptance recognizes some deviations from acceptable procedures—deviations that do not seriously affect the validity of results. The prohibitive rating is given when the laboratory lacks essential equipment, materials, or properly trained personnel, any one or all of which results in major technical deficiencies that grossly affect the validity of laboratory results. Reclassification of a laboratory on prohibitive status will require acquisition of essential laboratory equipment and supplies necessary to perform the bacteriological tests as described in the current editions of *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* or in the EPA Microbiological Methods Manual, in addition to training the designated laboratory personnel in basic techniques used in water bacteriology. Upon satisfactory completion of these requirements, the laboratory directors should request a resurvey of the laboratory, provided they wish the laboratory data to be used in any official compliance monitoring program.

The specific categories of conclusions can be expressed as:

A. Unqualified Acceptance

The procedures and equipment in use at the time of this survey were in compliance with the provisions of *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (current edition) and the Federal *Drinking Water Standards* (Federal Register, current revision). Therefore, it is recommended that the results of bacteriological examinations made by this laboratory be accepted as official data defined by the *Safe Drinking Water Act* (Public Law 93-523, Dec. 16, 1974).

B. Qualified Acceptance

The procedures and equipment in use at the time of this survey complied in general with the provisions of *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (current edition) and the Federal *Drinking Water Standards* (Federal Register, current revision), and with correction of deviations listed, it is recommended that the results of bacteriological examinations made by this laboratory be accepted as official data defined by the *Safe Drinking Water Act* (Public Law 93-523, Dec. 16, 1974).

C. Prohibitive Status

The procedures and equipment in use at the time of this survey showed major deviations from the provisions of *Standard Methods for the*

Examination of Water and Wastewater (current edition) and the Federal *Interim Drinking Water Standards* (Federal Register, current revision).

As a result of procedural deficiencies, test sensitivity is below an acceptable level for monitoring potable water quality, established at one coliform organism per ml. The laboratory is, therefore, placed on a prohibitive status for the bacteriological examination of public water supplies as required by the *Safe Drinking Water Act* (Public Law 93-523, Dec. 16, 1974).

Requirements for a reclassification of this laboratory to acceptable compliance will require: (a) acquisition of essential equipment items and supplies; (b) training of designated laboratory personnel in basic techniques used in water bacteriology, followed by; (c) satisfactory compliance in a resurvey of the laboratory to be requested at such time as the laboratory director deems that deficiencies cited in this report have been satisfied.

The narrative report must be signed by the survey officer or consultant who conducted the evaluation and prepared the completed survey form.

PROCESSING THE REPORT

In a cover letter prepared to accompany the report, comments concerning deviations are summarized and the laboratory director is requested to respond promptly, indicating that compliance or corrective actions were taken. Copies of the evaluation report (cover letter, narrative, and survey form) should be forwarded to the appropriate EPA regional office, the state engineering director, and state laboratory director. The original copy should be retained in the office of the laboratory survey officer as part of the file on this program activity.

GUIDELINES ON PREPARING AND PROCESSING A NARRATIVE REPORT

Anatomy of the Technical Report

Report prepared promptly ..... _____
Recommendations include an adequate rationale ..... _____
Devoid of unsupported personal opinion or personal preferences
not supported by facts ..... _____
Narrative in clear, concise, precise language ..... _____
Report Format
1. Title (what, where, when, and by whom) ..... _____
2. Lab Certification Status (approved or prohibited) ..... _____
3. Recommendations (deviations described) ..... _____
4. Laboratory evaluation program (program activity described) ..... _____
5. Remarks (suggestions, not deviations, noted) ..... _____
6. Commendation (unusual protocol or leadership noted) ..... _____
7. Personnel Certification (staff capabilities defined) ..... _____
8. Conclusions (data do or do not meet requirements of the *Federal Drinking Water Standards*) ..... _____

Processing the Report

Cover letter sent to laboratory director requesting response ..... _____
Report transmitted included cover letter, narrative, and completed laboratory survey form ..... _____
Copies of the report sent to EPA regional office, state engineering director, and laboratory director ..... _____

GLOSSARY

abatement: The method of reducing the degree or intensity of pollution, also the use of such a method.

acclimation: The physiological and behavioral adjustments of an organism to changes in its immediate environment.

acid: Most commonly refers to a large class of chemicals having a sour taste in water; ability to dissolve certain metals, bases or alkalies to form salts and to turn certain acid-base indicators to their acid form. Characterized by the hydrated H^+ ion.

aeration: The process of adding oxygen to, removing volatile constituents from, or mixing a liquid by intimate contact with air.

aerobe: An organism capable of growing in the presence of oxygen.

aerobic: Description of biological or chemical processes that can occur only in the presence of oxygen.

aerosol: A suspension of liquid or solid particles in the air.

agar: Dried polysaccharide extract of red algae (*Rhodophyceae*) used as a solidifying agent in microbiological media.

algae: Primitive plants, one- or many-celled, usually aquatic and capable of growth on mineral materials via energy from the sun and the green coloring material, chlorophyll.

alkalinity: The sum of the effects opposite in reaction to acids in water. Usually due to carbonates, bicarbonates, and hydroxides; also including borates, silicates and phosphates.

amperometric chlorine residual: A means of determining residual available chlorine with phenyl arsene oxide (PAO) titration using current response as an indicator of equivalence. For wastewater, the PAO preferably is used in excess with iodine backtitration.

anaerobe: An organism capable of growing in the absence of atmospheric oxygen, with essential oxygen being obtained from sulfates, carbonates, or other oxygen-containing compounds.

anaerobic: Life processes or chemical reactions that occur in the absence of oxygen or a condition in which dissolved oxygen is not detectable in the aquatic environment.

anion: A negatively charged ion in water solution. May be a single or a combination of elements, e.g., the Cl^- ion in a water solution of NaCl (common table salt) or SO_4^- ion in a H_2SO_4 (sulfuric acid) solution.

antibiotic: Organic toxins excreted by a microorganism (bacterium or fungus) that inhibits or kills another microorganism.

antibody: A protein molecule formed by the body in response to the presence of an antigen.

antigen: A foreign stimulant (usually a protein) that induces the formation of antibodies in the body.

approved laboratory methods: Approved laboratory methods are those specified in *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, prepared and published jointly by the American Public Health Association, the American Water Works Association, and the Water Pollution Control Federation and those specified by the EPA manual *Microbiological Methods for Monitoring the Environment*.

autoclave: An apparatus using steam under pressure for sterilization.

available residual chlorine: Generally refers to that part of the chlorine that will react with ortho tolidine or amperometric tests and exhibits significant germicidal activity.

bacillus: Rod-shaped bacterium; a genus of the family *Bacillaceae*.

bacteria: Primitive organisms having some of the features of plants and animals. Generally included among the fungi. Usually do not contain chlorophyll, hence commonly require preformed organic nutrients among their foods. May exist as single cells, groups, filaments, or colonies.

bactericide: Any component that will kill or destroy bacteria.

bacteriophage: A virus that infects bacteria and effects lysis of bacterial cells.

bacteriostatic: A condition during which the normal metabolic functions of bacteria are arrested until favorable conditions are restored.

biological oxidation: The process by which bacterial and other microorganisms feed on complex organic materials and decompose them. Self-purification of waterways and activated sludge and trickling filter waste water treatment processes depend on this principle. The process is also called biochemical oxidation.

BODs: The amount of dissolved oxygen consumed in 5 days by biological processes breaking down organic matter in an effluent.

buffer action: An action exhibited by certain chemicals that limits the change in pH upon addition of acid or alkaline materials to a medium or other fluid. In surface water, the primary buffer action is related to carbon dioxide, bicarbonate, and carbonate equilibria.

capsule: A gelatinous envelope or slime layer surrounding the cell wall of certain microorganisms.

carrier: A person in apparently good health who harbors a pathogenic microorganism.

catalyst: A substance that influences the rate of chemical change but either remains unchanged during the reaction or is regenerated thereafter.

centigrade: (Celsius) A temperature measurement in which the freezing point of pure water at sea level is designated as 0°C and the boiling point designated as 100°C.

cfs: Cubic feet per second, a measure of the amount of water passing a given point.

chloramines: Products of the combination of chlorine and ammonia. Commonly classified as combined available chlorine.

chlorination: The application of chlorine to water or wastewater for the purposes of disinfection, oxidation, odor control, or other effects. Pre-chlorination — before treatment; post-chlorination — after treatment; in-process chlorination — during treatment.

chlorine demand: The difference between applied chlorine and residual available chlorine in aqueous media under specified conditions and contact time. Chlorine demand varies with dosage, time, temperature, nature, and amount of the water impurities.

coagulant: A chemical, or chemicals, which when added to water suspensions will cause finely dispersed materials to gather into larger masses of improved filterability, settleability, or drainability.

coagulation: The clumping of particles to settle out impurities; often induced by chemicals such as lime or alum.

coccus: A spherical bacterium.

coliform group: A group of bacteria that inhabits the intestinal tract of man, warm-blooded animals; may be found in plants, soil, air, and the aquatic environment. Includes aerobic and facultative gram negative nonspore forming bacilli that ferment lactose with gas formation.

colloid, colloidal state: A state of suspension in which the particulate or insoluble material is in a finely divided form that remains dispersed in the liquid for extended time periods. Usually cloudy or turbid suspensions requiring flocculation before clarification.

colony: A macroscopic mass of microorganisms growing together, the cells of which have a common origin; often used in a limited sense to refer to bacterial masses growing on a solid medium.

combined available chlorine: Generally refers to chlorine-ammonia compounds exhibiting a slower reaction with ortho tolidine, determinable with phenyl arsene oxide after addition of potassium iodide under acid conditions; usually requires higher concentration and longer time to kill microorganisms in comparison with free available chlorine.

communicable: Pertaining to a disease whose causative agent is readily transferred from one person to another.

contamination: A general term referring to the introduction of materials into water that make the water less desirable for its intended use. Also introduction of undesired substances into air, solutions, or other defined media (chemical or biological).

counterstain: A background stain applied to stained material to increase contrast.

criterion (pl. criteria): Some physical, chemical, or biological characteristic that can be measured. Commonly used as a basis for standards.

cross connection: In plumbing, a physical connection between two different water systems, such as between potable and polluted water lines.

deionized water: Water that has been treated by ion exchange resins or compounds to remove cations and anions present in the form of dissolved salts.

desalinization: Salt removal from sea or brackish water.

detritus: The heavier material moved by natural flow, usually along the channel bed. Sand, grit, or other coarse material.

differential medium: Medium developed to elicit a specific characteristic of an organism or group of organisms.

digestion: The biochemical decomposition of organic matter. Digestion of sewage sludge takes place in tanks where the sludge decomposes and results in partial gasification, liquefaction, and mineralization of pollutants.

disinfection: Effective killing by chemical, radiation, or physical processes of all organisms capable of causing infectious disease. Chlorination is the disinfection method commonly employed in water and sewage treatment processes.

dissolved oxygen (DO): The oxygen dissolved in water or sewage. Adequately dissolved oxygen is necessary for the life of fish and other aquatic organisms and for the prevention of offensive odors. Low dissolved oxygen concentrations generally are due to discharge of excessive organic solids having high BOD and are the result of inadequate waste treatment.

distilled water: A purified water resulting from heat vaporization followed later by vapor condensation to separate the water from nonvolatile impurities.

drinking water standards: A list of standards prescribed for potable water acceptable for public consumption.The standards concern sources, protection, and bacteriological, biological, chemical, and physical criteria—some mandatory, some desired.

ecology: The interrelationships of living things to one another and to their environment or the study of such interrelationships.

effluent: Sewage, water, or other liquid, partially or completely treated or in its natural state, flowing from a reservoir, basin, or treatment plant into receiving streams or marine coastal waters.

endemic: Peculiar to or occurring constantly in a community.

endogenous metabolism: A diminished level of metabolism in which various materials previously stored by the cells are oxidized.

endotoxin: A toxin produced in an organism and liberated only when the organism disintegrates.

enteric organisms: Those organisms commonly associated with the intestinal tract of warm-blooded animals.

epidemiology: The study of diseases as they affect populations.

equivalent terms:

Exponential Value	American System	Symbol	British System	Symbol
1×10^{-6}	parts per million	ppm	parts per million	ppm
1×10^{-9}	parts per billion	ppb	parts per milliard	ppm
1×10^{-12}	parts per trillion	ppt	parts per billion	ppb

estuaries: Areas where the fresh water meets salt water. For example, at bays, mouths of rivers, salt marshes, and lagoons.

eutrophic lakes: Shallow lakes, weed-choked at the edges and very rich in nutrients. The water is characterized by large amounts of algae, low water transparency, low dissolved oxygen and high BOD.

eutrophication: An action involving the aging of lakes; characterized by nutrient enrichment and increasing growth of plant and animal organisms. The net effect is to decrease depth until the lake becomes a bog and eventually dry land. Man-made pollution tends to hasten the process.

facultative bacteria: Bacteria that can adapt themselves to growth and metabolism under aerobic or anaerobic conditions. Many organisms of interest in wastewater stabilization are among this group.

fahrenheit: A temperature scale in which pure water at sea level freezes at 32°F and boils at 212°F.

fastidious organism: An organism that is difficult to isolate or cultivate on ordinary culture.

fecal coliforms: A subgroup of coliform bacteria that has a high positive correlation with fecal contamination associated with all warm-blooded animals. These organisms can ferment lactose at 44.5°C and produce gas in a multiple tube procedure (EC confirmation) or acidity in the membrane filter procedure (M-FC medium).

fecal streptococci: Bacterial indicators of fecal pollution whose normal habitat is the intestinal tract of man and other warm-blooded animals. Species and their varieties of particular interest include: *S. faecalis*, *S. faecalis* var. *liquefaciens*, *S. faecalis* var. *zymogenes*, *S. durans*, *S. faecium*, *S. bovis*, and *S. equinus*.

fermentation: A form of respiration by organisms that requires little or no free oxygen, yields alcohol and carbon dioxide as end products, and releases only part of the food energy available; e.g., the conversion of sugars into alcohol by enzymes from yeasts.

filamentous: Characterized by threadlike structures.

filter: A porous media through which a liquid may be passed to effect removal of suspended materials. Filter media may include paper, cloth, sand, prepared membranes, gravel, asbestos fiber, or other granular or fibrous material.

filtrate: Liquid that has passed through a filter.

filtration rate: A rate of application of water or wastewater to a filter. Commonly expressed in million gallons per acre per day or gallons per square foot per minute.

flagellum: A flexible, whiplike appendage on some bacterial cells; used as an organ of locomotion.

floc: Gelatinous or amorphous solids formed by chemical, biological, or physical agglomeration of fine materials into larger masses that are more readily separated from the liquid.

free available chlorine: Generally refers to that chlorine existing in water as the hypochlorous acid. Characterized by rapid color formation with ortho tolidine. Can be titrated in neutral solution with phenyl arsene.

fungi: Simple or complex organisms without chlorophyll. The simpler forms are one-celled; higher forms have branched filaments and complicated life cycles. Examples are molds, yeasts, and mushrooms.

germicide: A chemical agent that kills microorganisms.

Gram stain: A differential stain by which bacteria are classed as Gram-positive or Gram-negative depending upon whether they retain or lose the primary stain (crystal violet) when subjected to treatment with a decolorizing agent.

groundwater: The supply of freshwater under the earth's surface in an aquifer or soil that forms a natural water resource.

growth curve: Graphic representation of the growth (population changes) of bacteria in a culture medium.

habitat: The natural environment of an organism.

hardness: Commonly refers to chemicals interfering with soap action or producing scale in boilers or heating units. Specifically refers to calcium and magnesium salts such as bicarbonate, carbonates, chlorides, and nitrates, sometimes includes iron, aluminum and silica.

humus: A brown or black complex and variable material resulting from decomposition of plant or animal matter.

hydrostatic head: The pressure exerted by a given height of liquid above a given datum point. May be listed in feet of head, pounds per square inch, or other criteria.

IMViC test: A collection of tests used to differentiate *Escherichia* from *Aerobacter*. IMViC stands for *I*ndole, *M*ethyl Red, *V*oges-Proskauer, and *C*itrate. The "i" is for pronunciation convenience only.

indicator: A substance that changes color as conditions change; e.g., pH indicators reflect changes in acidity or alkalinity. Redox indicators respond to changes in reduction-oxidation potential.

infection: Introduction of a foreign organism that can multiply and produce a resulting change from normal.

influent: Material entering a process unit or operation.

inhibition: Prevention of growth or multiplication of microorganisms.

inoculum: A concentration of microorganisms added to a medium to initiate a growth response.

inorganic: Being composed of material other than plant or animal materials. Forming or belonging to the inanimate world.

interstate carrier water supply: A water supply whose water may be used for drinking or cooking purposes aboard common carriers (planes, trains, buses, and ships) operating interstate. Interstate carrier water supplies are regulated by the Federal government.

interstate waters: According to law, waters defined as: (1) rivers, lakes, and other waters that flow across or form a part of State or international boundaries; (2) waters of the Great Lakes; (3) coastal waters, the scope of which has been defined to include ocean waters seaward to the territorial limits and waters along the coastline (including inland streams) influenced by the tide.

leaching: The process by which soluble materials in the soil, such as nutrients, pesticide chemicals, or contaminants, are washed into a lower layer of soil or are dissolved and carried away by water.

medium (pl. media): Any substance that supports the growth and multiplication of microorganisms.

membrane filter (MF): A flat, highly porous, flexible plastic disc, commonly about 0.15 mm in thickness and 47-50 mm in diameter. Membrane filters with a pore size of 0.45μ are used in water microbiology to entrap organisms from a sample. With the use of selected media, incubation time, and choice of temperature, they permit direct enumeration by colony count of selected organisms.

meniscus: The curved upper surface of a liquid in a tube that is concave upward when the containing walls are wetted by the confined liquid and convex upward when they are not.

mesophillic: Organisms capable of optimum metabolic activities at temperatures from about 80° to 110°F (26° to 42°C).

metabolite, essential: A substance whose presence in very low concentration (micrograms per milliliter or below) must be supplied from an external source so that the organism may carry out its normal functions or so that a specific biochemical reaction may be allowed to proceed.

meter: The length of a reference platinum bar used as a standard unit of measurement of length in the metric system; 1 meter = 39.37 inches.

mg/l: Milligrams per liter; a unit of concentration on a weight/volume basis. Equivalent to ppm when the specific gravity of the liquid is 1.0.

micro: 1/1,000,000 of a unit of measurement, such as microgram, microliter.

milli: An expression used to indicate 1/1000 of a standard unit of weight, length or capacity (metric system):

Milliliter	(ml)	1/1000 liter	(l)
Milligram	(mg)	1/1000 gram	(g)
Millimeter	(mm)	1/1000 meter	(m)

mixing zone: An area where two or more substances of different characteristics blend to form a uniform mixture; i.e., chlorine application, heated water, or other discharged materials entering a water mass will show significant differences of chlorine residual, temperature, or other criteria. These differences depend on the sampling location throughout the mixing zone and approach uniform results with respect to lateral, longitudinal, and vertical sampling positions when mixing has been completed.

moisture content: The content of water in some material. Commonly expressed in percentage of moisture in soil, sludge, or feces.

most probable number (MPN): A statistical method of determining microbial populations. A multiple dilution tube technique is utilized with a standard medium and observations are made for specific individual tube effects. Resultant coding is translated by mathematical probability tables into population numbers.

nitrification: The biological oxidation of ammonia to nitrate.

normality: (a) A means of expressing the concentration of a standard solution in terms of the gram equivalents of reacting substances per liter. (b) Generally expressed as a decimal fraction, such as 0.1 or 0.02 N.

nutrients: (a) Anything essential to support life. (b) Include many common elements and combinations of them. The major nutrients include carbon, hydrogen, oxygen, nitrogen, sulfur, and phosphorus. (c) Nitrogen and phosphorus are of major concern because they tend to recycle and are difficult to control.

organic: Substances formed as a result of living plant or animal organisms. Generally contain carbon as a major constituent.

organic chloride: Compounds containing chlorine in combination with carbon, hydrogen, and certain other elements.

ortho tolidine chlorine test: The dye ortho tolidine, under highly acid conditions, produces a yellow color proportional in intensity to the concentration of available residual chlorine and certain other oxidants or interfering materials.

outfall: The mouth of a sewer, drain, or conduit where an effluent is discharged into the receiving waters.

oxidation: Chemically, the addition of oxygen, removal of hydrogen, or the removal of electrons from an element or compound.

parasite: An organism that lives in or on another organism and results in varying degrees of harm or damage.

particulates: Detectable solid material dispersed in a gas or liquid. Small-sized particulates may produce a smoky or hazy appearance in a gas and a milky or turbid appearance in a liquid. Larger particulates are more readily detected and separated by sedimentation or filtration.

pasteurization: Use of heat for a prescribed period of time to reduce the total number of microorganisms, especially pathogenic or otherwise undesirable forms.

pathogen: An organism capable of eliciting disease symptoms in another organism.

Petri dish: Double glass or plastic dish used to cultivate microorganisms.

pH: An index of hydrogen ion activity. Defined as the negative logarithm (base 10) of H^+ ion concentration at a given instant. On a scale of 0 to 14, pH 7.0 is neutral; pH less than 7.0 indicates a predominance of H^+ or acid ions; pH greater than 7.0 indicates a predominance of OH^- or alkaline ions.

pollutant: Dredged spoil, solid waste, incinerator residue, sewage, garbage, sewage sludge, munitions, chemical waste, biological materials, radioactive materials, heat, wrecked or discarded equipment, rock, sand, and industrial, municipal, and agricultural waste discharged into water.

pond: A basin or catchment for retaining water used for equalization, stabilization, or other purposes. Commonly less than 5 feet deep.

potable water: Water suitable (from both health and aesthetic considerations) for drinking or cooking purposes.

ppm (parts per million): A unit of concentration signifying parts of some substance per million parts of dispersing medium. Equivalent numerically to mg/1 when the specific gravity of the solution is 1.0.

precipitate: The formation of solid particles in a solution, or the solids that settle as a result of chemical or physical action that caused the solids to suspend from solution.

pressure: The total load or force acting upon a surface. In hydraulics, the term commonly means pounds per square inch of surface, or kilograms per square cm, above atmospheric pressure on site. (Atmospheric pressure at sea level is about 14.7 pounds per square inch.)

primary effluent: Effluent from a sewage treatment process that provides partial removal of sewage solids by physical methods so that 1 liter of the effluent does not contain more than 1 ml of settleable solids as determined by an approved laboratory method.

proteins: Naturally occurring compounds containing carbon, hydrogen, nitrogen, and oxygen, with smaller amounts of sulfur and phosphorus and trace components essential to living cells.

protozoa: Single-cell or multiple-cell organisms, such as amoeba, celiates, and flagellates. Commonly aquatic and generally deriving most of their nutrition from preformed organic food.

psychrophilic organisms: Low-temperature-loving organisms, or organisms having a competitive advantage over other organisms at lower temperatures, i.e., from about 10°C downward to the freezing point.

public water supply: A water supply with at least 15-service connections on the distribution network or a supply regularly serving at least 25 individuals. This system includes the water works and auxiliaries for collection, treatment, storage, and distribution of the water from the sources of supply to the free-flowing outlet of the ultimate consumer.

pure culture: A culture containing only one species of organism.

putrefaction: Biological decomposition of organic matter with the formation of ill-smelling products, such as hydrogen sulfide amines, mercaptans; associated with anaerobic conditions.

qualitative: Defines a procedure for detecting the occurrence of organisms or chemical entities in water; applied to *nonmeasurable* aspects.

quantitative: Defines a procedure or object in terms of its *measureable* aspects or characteristics; implies the use of mathematics, especially statistics.

receiving waters: Rivers, lakes, oceans, or other bodies that receive treated or untreated waste waters.

reclaimed waste water: Waters originating from sewage or other waste that have been treated or otherwise purified to permit direct beneficial reuse or to allow reuse that would not otherwise occur.

reservoir: A pond, lake, tank, or basin, natural or man-made, used for the storage, regulation, and control of water.

river basin: The total area drained by a river and its tributaries.

salt: A chemical compound formed as a result of the interaction of an acid and an alkali (base). The most common salt is sodium chloride formed from hydrochloric acid and sodium hydroxide. This ionizes in water solution to form sodium and chloride ions.

saprophytic: Organisms feeding or growing on dead or decaying organic matter. Organisms that utilize nonliving organic matter as a food.

saturation: Commonly refers to the maximum amount of any material that can be dissolved in water or other liquid at a given temperature and pressure. For oxygen, this commonly refers to a percentage saturation in terms of the saturation value, such as about 9 mg 0_2 per liter at 20°C.

screen: A device with openings, generally having a relatively uniform size, that permits liquid to pass but retain larger particles. The screen may consist of bars, coarse to fine wire, rods, gratings, paper, membranes, etc., depending upon particle size to be retained.

sedimentation: The process of subsidence and deposition of suspended matter from wastewater by gravity. Also called clarification, settling.

sewage: Liquid or solid refuse (domestic and industrial wastes) carried off in sewers.

sewage slimes: Consisting of organisms growing on wastewater nutrients and forming mucilaginous films, streamers, or clumps. May consist of bacteria, molds, protozoa, or algae.

sewer: A pipe or conduit, generally covered, for the purposes of conveying wastewaters from the point of origin to a point of treatment or discharge.

sludge: Accumulated or concentrated solids from sedimentation or clarification of wastewater. Contains varying proportions of solids in wastewater depending upon source, process, and nature.

sludge banks: An accumulation of solids, including silt, mineral, organic, and cell mass particulate material, that is produced in an aquatic system characterized by low current velocity. Generally refers to gross deposits of appreciable depth.

sludge cake: The solids remaining after dewatering sludge by vacuum, filtration, or sludge drying beds. Usually forkable or spadable, with a water content of 30 to 80%. Also may occur on the boundaries of surface water.

smear: A thin layer of material, e.g., bacterial culture, spread on a glass slide for microscopic examination. Also referred to as a *film*.

solution: a) A homogenous mixture of gas, liquid, or solid in a liquid that remains clear indefinitely.
b) Generally an atomic, ionic, or molecular dispersion in a liquid (may be colored).
c) A water solution of dissolved material.

specific gravity (Sp. Gr.): a) The weight of a material per unit volume in reference to the weight of water at maximum density.
b) Water at 4°C has a weight of 1 gram per ml. The weight ratio of any substance divided by the weight of water is the specific gravity.

spore: A reproductive unit, lacking a preformed embryo, that is capable of germinating directly to form a new individual. A resistant body

formed by certain microorganisms; a resistant resting cell; a primitive unicellular reproductive body.

stabilization: (a) The activity proceeding along the pathway to stability. (b) In organic wastes, generally refers to oxidation via biochemical pathways and conversion to gaseous or insoluble materials that are relatively inert to further change.

stain: A dye used to color microorganisms; used an an aid to visual inspection.

standard: A measurement limit set by authority. Having qualities or attributes required by law and defined by minimum or maximum limits of acceptability in terms of established criteria or measurable indices.

standard methods: Methods of analysis prescribed by joint action of American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, or U.S. Environmental Protection Agency. Methods accepted by authority.

standard plate count: A measure of the general bacterial population in potable water and swimming pool water using standard plate count agar, 48-hour incubation, and 35°C incubation temperature. The incubation time of standard plate counts of bottled water, done as for potable water supplies, is extended to 72 hours because of the slow generation times for organisms in this water environment.

sterilization: The process of making a medium free of living organisms such as by killing them, filtering them through a porous medium fine enough to be a barrier to the passage of organisms, etc.

stock cultures: Known species of microorganisms maintained in the laboratory for various tests and studies.

stormwater: The runoff of rain and melted snow into the natural drainage pattern.

strain: A pure culture of microorganisms composed of the descendants of a single isolate.

substrate: (a) Any substance used as nutrient by a microorganism. (b) The liquid in an activated sludge aeration tank.

supernate: The liquid over a precipitate or sediment; the fluid remaining after removal of suspended matter.

suspended solids: The concentration of insoluble materials suspended or dispersed in waste or used water. Generally expressed in mg per liter on a dry weight basis. Usually determined by filtration methods.

symbiosis: The living together of two or more organisms in a mutually beneficial state.

synergism: The ability of two or more organisms to bring about changes (usually chemical) that neither can accomplish alone.

thermal pollution: Degradation of water quality by the introduction of a heated effluent. Primarily a result of the discharge of cooling waters from industrial processes, particularly from electrical power generation. Even small deviations from normal water temperatures can affect aquatic life. Thermal pollution usually can be controlled by cooling towers.

thermophilic: High-temperature-loving organisms. Generally considered to include organisms having a favorable competitive advantage at temperatures above 110°F or 42°C.

titration: The careful addition of a standard solution of known concentration of reacting substance to an equivalence point to estimate the concentration of a desired material in a sample.

TOC: Total organic carbon. A test expressing wastewater contaminant concentration in terms of the carbon content.

total solids: Refers to the solids contained in dissolved and suspended form in water. Commonly determined on a weight basis by evaporation to dryness.

ultraviolet rays: Radiations in the part of the spectrum having wavelengths from about 3,900 Angstrom to about 200 Angstrom.

velocity (flow): A rate term expressed in terms of linear movement per unit of time. Commonly expressed in ft per sec (English) or cm per sec (metric).

virulence: The capacity of a microorganism to produce disease.

virus: An obligate intracellular parasitic microorganism smaller than bacteria. A term generally used to designate organisms that pass filtration media capable of removing bacteria. Technically described as a collective term covering disease stimuli held by some to be living organisms and by others to be nucleic acids capable of reproduction and growth.

Voges-Proskauer reaction: A test (VP test) for the presence of acetylmethylcarbinol to assist in distinguishing between species of the coliform group.

volatile acids: A group of low-molecular-weight acids, such as acetic and propionic, that are distillable from acidified solution.

volatile material: a) Descriptive of chemicals having a vapor pressure low enough to evaporate from water readily at normal temperatures. b) With reference to dry solids, the term includes loss in weight upon ignition at 600°C.

wastewater: Refers to the used water of a community. Generally contaminated by the waste products from household, commercial, or industrial activities. Often contains surface wash, storm water, and infiltrations water.

water pollution: The addition of sewage, industrial wastes, or other harmful or objectionable material to water in concentrations or in sufficient quantities to result in measurable degradation of water quality.

water quality criteria: The levels of pollutants that affect the suitability of water for a given use. Generally, water use classification includes: public water supply, recreation, propagation of fish and other aquatic life, agricultural use, and industrial use.

water quality standard: A plan for water quality management containing four major elements: the use (recreation, drinking water, fish and wildlife propagation, industrial, or agricultural) to be made of the water; criteria to protect those uses; implementation plans (for

needed industrial-municipal waste treatment improvements) and enforcement plans; and an anti-degradation statement to protect existing high quality. waters.

watershed: The area drained by an entire river system, including tributary streams and intermittent creeks.

water supply system: The system for the collection, treatment, storage, and distribution of potable water from the sources of supply to the consumer.

water table: The upper level of groundwater.

zoogloea: A jelly-like matrix developed by certain microorganisms at some stage in their life cycle. Commonly associated with sludge flocculation in biochemical treatment operations.

Forms for Laboratory Evaluation

US, EPA

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY
Water Quality Office
Water Hygiene Division

Bacteriological Survey for
Water Laboratories

Indicating conformity with the 13th edition of Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1971).

Survey By	X = Deviation U = Undetermined O = Not Used	
Laboratory	Location	Date

Sampling and Monitoring Response

1. Location and Frequency
   - Representative points on system. . . . . ____
   - Frequency of sampling adequate . . . . . ____

2. Collection Procedure
   - Faucets with aerators should not be used. . . . . ____
   - Flush tap 1 min. prior to sampling . . . . . ____
   - Pump well 1 min. to waste prior to sampling . . . . . ____
   - River, stream, lake, or reservoir sampled at least 6 inches below surface and toward current. . . . . ____
   - Minimum sample not less than 100 ml . . . . . ____
   - Ample air space in bottle for mixing. . . . . ____
   - Promptly identify sample legibly and indelibly . . . . . ____

3. Sample Bottles
   - Wide mouth, glass or plastic bottles of _____ capacity. . . . . ____
   - Sample bottles capable of sterilization and rinse . . . . . ____
   - Closure:
     - a. Glass stoppered bottles protected with metal foil, rubberized cloth or kraft type paper . . . . . ____
     - b. Metal or plastic screw cap with leakproof liner . . . . . ____
   - Sodium thiosulfate added for dechlorination. . . . . ____
     - Concentration 100 mg/l added before sterilization . . . . . ____
   - Chelation agent for stream samples (optional). . . . . ____
     - Concentration 372 mg/l added before sterilization . . . . . ____

4. Transportation and Storage
   - Complete and accurate data accompanies sample . . . . . ____
   - Transit time for potable water samples should not exceed . . . . . ____
     - 48 hrs, preferably within 30 hrs . . . . . ____
   - Transit time for source waters, reservoirs, and natural bathing waters should not exceed 6 hrs . . . . . ____
   - All samples examined within 2 hours of arrival . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

Laboratory	Location	Date

4. Transportation and Storage (Continued)

Sample refrigeration mandatory on stream samples, optional on potable water samples. . . . . ____

5. Record of Laboratory Examination

Results assembled and available for inspection . . . . . ____

Number of Tests per year

MPN Test - Type of sample _____

Confirmed (+)_____ (-)_____ (Total)_____

Completed (+)_____ (-)_____ (Total)_____

MF Test - Type of sample _____

Direct Count (+)_____ (-)_____ (Total)_____

Verified Count (+)_____ (-)_____ (Total)_____

Data processed rapidly through laboratory and engineering sections . . ____

Unsatisfactory sample defined as 3 or more positive tubes per MPN test or 5 or more colonies per 100 ml in MF test . . . . . ____

High priority placed on alerting operator to unsatisfactory potable water results . . . . . ____

Prompt resampling for unsatisfactory samples . . . . . ____

6. Laboratory Evaluation Service

State program to evaluate all laboratories which examine potable water supplies. . . . . ____

Frequency of surveys on a _____year basis. . . . . ____

State survey officer (Name)_____. . . . ____

Status of laboratory evaluation service. . . . . ____

Total _____labs known to examine water

_____approved laboratories

_____provisional laboratories

Laboratory Apparatus

7. Incubator

Manufacturer_____Model_____

Sufficient size for daily work load . . . . . ____

Maintain uniform temperature in all parts (± 0.5°C). . . . . ____

Accurate thermometer with bulb immersed in liquid on top and bottom shelves. . . . . ____

Daily record of temperature or use of recording thermometer sensitive to 0.5°C change . . . . . ____

Incubator not subject to excessive room temperature variations beyond a range of 50 - 80°F . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

2

Laboratory	Location	Date

8. Incubator Room (Optional) Manufacturer _____
   - Well insulated, equipped with properly distributed heating and humidifying units for optimum environmental control. . . . . ____
   - Shelf areas used for incubation must conform to 35°C ± 0.5° temperature requirement. . . . . ____
   - Accurate thermometers with bulb immersed in liquid. . . . . ____
   - Daily record of temperature at selected areas or use recording thermometer sensitive to 0.5°C changes . . . . . ____

9. Water Bath
   - Manufacturer _____ Model _____
   - Sufficient size for fecal coliform tests . . . . . ____
   - Maintain uniform temperature 44.5°C ± 0.2°C. . . . . ____
   - Accurate thermometer immersed in water bath . . . . . ____
   - Daily record of temperature or use of recording thermometer sensitive to 0.2°C changes . . . . . ____

10. Hot Air Sterilizing Oven
   - Manufacturer _____ Model _____
   - Size sufficient to prevent crowding of interior . . . . . ____
   - Constructed to insure a stable sterilizing temperature . . . . . ____
   - Equipped with accurate thermometer in range of 160-180°C or with recording thermometer . . . . . ____

11. Autoclave
   - Manufacturer _____ Model _____
   - Size sufficient to prevent crowding of interior . . . . . ____
   - Constructed to provide uniform temperature up to and including 121°C . . . . . ____
   - Equipped with accurate thermometer with bulb properly located to register minimal temperature within chamber . . . . . ____
   - Pressure gage and operational safety valve . . . . . ____
   - Steam source from saturated steam line, or from gas or electrically heated steam generator . . . . . ____
   - Reach sterilization temperature in 30 min. . . . . ____
   - Pressure cooker may be used only if provided with a pressure gage and thermometer with bulb 1 in. above water level . . . . . ____

12. Thermometers
   - Accuracy checked with thermometer certified by National Bureau of Standards or one of equivalent accuracy. . . . . ____
   - Liquid column free of discontinuous sections and graduation marks legible . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

3

Laboratory	Location	Date

13. pH Meter
    Manufacturer_____ Model_____
    Electronic pH meter accurate to 0.1 pH units. . . . . ____

14. Balance
    Balance with 2 g sensitivity at 150 g load used for general media preparations, Type_____. . . . . ____
    Analytical balance with 1 mg sensitivity at 10 g load used for weighing quantities less than 2 g, Type_____. . . ____
    Appropriate weights of good quality for each balance . . . . . ____

15. Microscope and Lamp
    Preferably binocular wide field, 10 to 15 diameters magnification for MF colony counts, Type_____. . . . . ____
    Fluorescent light source for sheen discernment. . . . . ____

16. Colony Count
    Quebec colony counter, dark-field model preferred for standard plate counts . . . . . ____

17. Inoculating Equipment
    Wire loop of 22 or 24 gauge chromel, nichrome, or platinum iridium, sterilized by flame . . . . . ____
    Single-service transfer loops of aluminum or stainless steel, presterilized by dry heat or steam. . . . . ____
    Disposable single service hardwood applicators, presterilized by dry heat only. . . . . ____

18. Membrane Filtration Units
    Manufacturer_____ Type_____
    Leak proof during filtration. . . . . ____
    Metal plating not worn to expose base metal . . . . . ____

19. Membrane filters
    Manufacturer_____ Type_____
    Full bacterial retention, satisfactory filtration speed . . . . . ____
    Stable in use, glycerin free. . . . . ____
    Grid marked with non-toxic ink . . . . . ____
    Presterilized or autoclaved 121°C for 10 min. . . . . ____

20. Absorbent Pads
    Manufacturer_____ Type_____
    Filter paper free from growth inhibitory substances. . . . . ____
    Thickness uniform to permit 1.8 - 2.2 ml medium absorption . . . . ____
    Presterilized or autoclaved with membrane filters . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

4

Laboratory	Location	Date

21. Forceps
    Preferably round tip without corrugations. . . . . ____
    Forceps are alcohol flamed for use in MF procedure. . . . . ____

Glassware, Metal Utensils and Plastic Items

22. Media Preparation Utensils
    Borosilicate glass . . . . . ____
    Stainless steel. . . . . ____
    Utensils clean and free from foreign residues or
    dried medium. . . . . ____

23. Pipets
    Brand _____ Type _____
    Calibration error not exceeding 2.5%. . . . . ____
    Tips unbroken, graduation distinctly marked . . . . . ____
    Deliver accurately and quickly. . . . . ____
    Mouth end plugged with cotton (optional) . . . . . ____

24. Pipet Containers
    Box, aluminum or stainless steel . . . . . ____
    Paper wrapping of good quality sulfite paper (optional) . . . . . ____

25. Petri Dishes
    Brand _____ Type _____
    Use 100 mm x 15 mm dishes for pour plates . . . . . ____
    Use 60 mm x 15 mm dishes for MF cultures . . . . . ____
    Clear, flat bottom, free from bubbles and scratches. . . . . ____
    Plastic dishes may be reused if sterilized in 70% ethanol for
    30 min. or by ultraviolet radiation . . . . . ____

26. Petri Dish Containers
    Aluminum or stainless steel cans with covers, coarsely woven
    wire baskets, char-resistant paper sacks or wrappings . . . . . ____

27. Culture Tubes
    Size sufficient for total volume of medium and sample portions . . . . ____
    Borosilicate glass or other corrosive resistant glass . . . . . ____

28. Dilution Bottles or Tubes
    Borosilicate or other corrosive resistant glass . . . . . ____
    Screw cap with leak-proof liner free from toxic substances
    on sterilization . . . . . ____
    Graduation level indelibly marked on side of bottle or tube . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

5

Laboratory	Location	Date

Materials and Media Preparation

29. Cleaning Glassware

Dishwasher Manufacturer _____ Model _____

Thoroughly washed in detergent at 160° F, cycle time _____ . . ____

Rinse in clean water at 180° F, cycle time _____ . . . . . ____

Final rinse in distilled water, cycle time _____ . . . . . ____

Detergent brand _____

Washing procedure leaves no toxic residue . . . . . ____

Glassware free from acidity or alkalinity . . . . . ____

30. Sterilization of Materials

Dry heat sterilization (1 hr at 170°C)

Glassware not in metal containers . . . . . ____

Dry heat sterilization (2 hrs at 170°C)

Glassware in metal containers. . . . . ____

Glass sample bottles . . . . . ____

Autoclaving at 121°C for 15 min . . . . . ____

Plastic sample bottles . . . . . ____

Dilution water blanks . . . . . ____

31. Laboratory Water Quality

Still manufacturer _____ Construction Material _____

Demineralizer with _____ recharge frequency

Protected storage tank . . . . . ____

Supply adequate for all laboratory needs. . . . . ____

Free from traces of dissolved metals or chlorine . . . . . ____

Free from bactericidal compounds as measured by bacteriological suitability test . . . . . ____

Bacteriological quality of water measured once each year by suitability test or sooner if necessary . . . . . ____

32. Buffered Dilution Water

Stock phosphate buffer solution pH 7.2 . . . . . ____

Prepare fresh stock buffer when turbidity appears . . . . . ____

Stock buffer autoclaved and stored at 5 - 10°C . . . . . ____

1.25 ml stock buffer per 1 liter distilled water. . . . . ____

Dispense to give 99 ± 2 ml or 9 ± 0.2 ml after autoclaving. . . . . ____

33. pH Measurements

Calibrate pH meter against appropriate standard buffer prior to use . . ____

Standard buffer brand _____ pH _____

Check the pH of each sterile medium batch or at least one batch from each new medium lot number. . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

6

Laboratory	Location	Date

33. pH Measurements (Continued)
    Maintain a pH record of each sterile medium batch, the date and lot number. . . . . ____

34. Sterilization of Media
    Carbohydrate medium sterilized 121°C for 12 min . . . . . ____
    All other media autoclaved 121°C for 15 min . . . . . ____
    Tubes packed loosely in baskets for uniform heating and cooling . . . . ____
    Timing starts when autoclave reaches 121°C . . . . . ____
    Total exposure of carbohydrate media to heat not over 45 min. . . . . ____
    Media removed and cooled as soon as possible after sterilization . . . ____

35. Storage
    Dehydrated media bottles kept tightly closed and stored at less than 30°C. . . . . ____
    Dehydrated media not used if discolored or caked . . . . . ____
    Sterile culture media stored in clean area free from contamination and excessive evaporation . . . . . ____
    Sterile batches used in less than 1 week. . . . . ____
    All media protected from sunlight . . . . . ____
    If media is stored at low temperatures, it must be incubated overnight and any tubes with air bubbles discarded . . . . . ____

Culture Media - Specifications

36. Lactose Broth
    Manufacturer _____ Lot No. _____
    Single strength composition 13 g per liter distilled water . . . . . ____
    Single strength pH 6.9 ± 0.1, double strength pH 6.7 ± 0.1 . . . . . ____
    Not less than 10 ml medium per tube . . . . . ____
    Composition of medium after 10 ml sample is added must contain 0.013 g per ml dry ingredients . . . . . ____

37. Lauryl Tryptose Broth
    Manufacturer _____ Lot No. _____
    Single strength composition 35.6 g per liter distilled water . . . . . ____
    Single strength pH 6.8 ± 0.1, double strength pH 6.7 ± 0.1 . . . . . ____
    Not less than 10 ml medium per tube . . . . . ____
    Composition of medium after 10 ml sample is added must contain 0.0356 g per ml of dry ingredients . . . . . ____

38. Brilliant Green Lactose Bile Broth
    Manufacturer _____ Lot No. _____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

Laboratory	Location	Date

38. Brilliant Green Lactose Bile Broth (Continued)
    Correct composition, sterility and pH 7.2. . . . . ____
    Not less than 10 ml medium per tube . . . . . ____

39. Eosin Methylene Blue Agar
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Medium contains no sucrose, Cat. No. _____
    Correct composition, sterility and pH 7.1. . . . . ____

40. Plate Count Agar (Tryptose Glucose Yeast Agar)
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Correct composition, sterility and pH 7.0 ± 0.1 . . . . . ____
    Free from precipitate. . . . . ____
    Sterile medium not remelted a second time after sterilization. . . . . ____

41. EC Medium
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Correct composition, sterility and pH 6.9. . . . . ____
    Not less than 10 ml medium per tube . . . . . ____

42. M-Endo Medium
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Correct composition and pH 7.1 - 7.3 . . . . . ____
    Reconstituted in distilled water containing 2% ethanol. . . . . ____
    Heat to boiling point, promptly remove and cool . . . . . ____
    Store in dark at 2 - 10°C . . . . . ____
    Unused medium discarded after 96 hrs . . . . . ____

43. M-FC Broth
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Correct composition and pH 7.4 . . . . . ____
    Reconstituted in 100 ml distilled water containing 1 ml of
      a 1% rosolic acid reagent. . . . . ____
    Stock solution of rosolic acid discarded after 2 weeks or
      when red color changes to muddy brown . . . . . ____
    Heat to boiling point, promptly remove and cool . . . . . ____
    Store in dark at 2 - 10°C . . . . . ____
    Unused medium discarded after 96 hrs . . . . . ____

44. _____ Broth
    Manufacturer_____ Lot No. _____
    Correct composition and pH . . . . . ____

45. _____ Agar
    Manufacturer_____ Lot No. _____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

8

Laboratory	Location	Date

45. _____ Agar (Continued)

Correct composition and pH. . . . . ____

Multiple Tube Coliform Test

46. Presumptive Procedure

Lactose broth _____ lauryl tryptose broth _____

Shake sample vigorously . . . . . ____

Potable water: 5 standard portions, either 10 or 100 ml. . . . . ____

Stream monitoring: multiple dilutions . . . . . ____

Incubate tubes at 35° ± 0.5°C for 24 ± 2 hr . . . . . ____

Examine for gas _____ any gas bubble positive. . . . . ____

Return negative tubes to incubator. . . . . ____

Examine for gas at 48 ± 3 hr from original incubation . . . . . ____

47. Confirmed Test

Promptly submit all presumptive tubes showing gas production before or at 24 hr and 48 hr periods to Confirmed Test . . . . . ____

a. Brilliant green lactose broth

Gently shake presumptive tube or mix by rotating . . . . . ____

Transfer one loopful of positive broth or one dip of applicator from presumptive tube to brilliant green lactose broth. . . . . ____

Incubate at 35° ± 0.5°C and check at 24 hrs for gas production. . . ____

Reincubate negative tubes for additional 24 hrs and check for gas production . . . . . ____

Calculate MPN or report positive tube results. . . . . ____

b. Endo or eosin methylene blue agar plates adequate streaking to obtain discrete colonies separated by 0.5 cm. . . . . ____

Incubate at 35° ± 0.5°C for 24 ± 2 hr . . . . . ____

Typical nucleated colonies with or without sheen are coliforms . . ____

If atypical unnucleated pink colonies develop, result is doubtful and completed test must be applied. . . . . ____

If no colonies or only colorless colonies appear, the confirmed test is negative. . . . . ____

48. Completed Test

Applied to all potable water samples or a proportion each three months to establish the validity of the confirmed test in determining their sanitary quality. . . . . ____

Applied to positive confirmed tubes or to doubtful colonies on differential medium. . . . . ____

Streak positive confirmed tubes on Endo or EMB plates for colony isolation. . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

9

Laboratory	Location	Date

48. Completed Test (Continued)

Choice of selected isolated colony for verification should be one typical or two atypical to lactose or lauryl tryptose broth and to agar slant for Gram stain. . . . . ____
Incubate at 35°C ± 0.5°C for 24 hrs or 48 hrs . . . . . ____
Gram negative rods without spores and gas in lactose tube with 48 hrs in positive Completed Test . . . . . ____

Membrane Filter Coliform Test

49. Application as Standard Test

Use as a standard test for determining potability of water after demonstration by parallel testing that it yields information equal to that from the multiple-tube fermentation procedure . . . . ____

50. MF Procedure

Filter funnel and receptacle sterile at start of series . . . . . ____
Rapid funnel resterilization by UV, flowing steam or boiling water acceptable. . . . . ____
Membrane filter cultures and technician eyes should not be subject to UV radiation leaks . . . . . ____
Filtration volume not less than 50 ml for potable water; multiple dilutions for stream pollution . . . . . ____
Rinse funnel by flushing several 20 - 30 ml portions of sterile buffered water through MF . . . . . ____
Remove filter with sterile forceps . . . . . ____
Roll filter over M-ENDO medium pad or agar so air bubbles will not form . . . . . ____

51. Incubation

In high humidity or in tight fitting culture dishes . . . . . ____
At 35°C ± 0.5°C for 22 - 24 hrs . . . . . ____

52. Counting

All colonies with a metallic yellowish green surface sheen . . . . . ____
If coliforms are found in potable samples, verify by transfers to lactose broth, then to BGB broth for evidence of gas production at 35°C within 48 hr limit. . . . . ____
Calculate direct count in coliform density per 100 ml. . . . . ____

53. Standard MF test with Enrichment

Incubate MF after filtration on pad saturated with lauryl tryptose broth for 1 1/2 - 2 hr at 35°C ± 0.5°C . . . . . ____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

Laboratory	Location	Date

53. Standard MF test with Enrichment (Continued)

Transfer MF culture to M-Endo medium for a final 20 - 22 hr incubation at 35°C ± 0.5°C. . . . . _____

Count sheen colonies, verify if necessary, and calculate direct count in coliform density per 100 ml . . . . . _____

Supplementary Bacteriological Methods

54. Standard Plate Count

Plate not more than 1 or less than 0.1 ml (sample or dilution) . . . . . _____

Add 10 ml or more liquefied agar medium at a temperature between 43 - 45°C . . . . . _____

Melted medium stored for no more than 3 hr at 43 - 45°C . . . . . _____

Liquid agar and sample portion thoroughly mixed by gently rotating to spread mixture evenly . . . . . _____

Count only plates with between 30 and 300 colonies, exception being 1 ml sample with less than 30 colonies . . . . . _____

Record only two significant figures and calculate as "standard plate count at 35°C per 1 ml of sample". . . . . _____

55. Fecal Coliform Test

a. Multiple Tube Procedure

Applied as an EC broth confirmation of all positive presumptive tubes. . . . . _____

Place EC tubes in water bath within 30 min of transfers . . . . . _____

Incubate at 44.5°C ± 0.2°C for 24 hrs . . . . . _____

Gas production is positive test for fecal coliforms. . . . . _____

Calculate MPN based on combination of positive EC tubes . . . . . _____

b. Membrane Filter Procedure

Following filtration place MF over pad saturated with M-FC broth. . . . . _____

Place MF cultures in water-proof plastic bag and submerge in water bath within 30 min. . . . . _____

Incubate at 44.5°C ± 0.2°C for 24 hrs . . . . . _____

All blue colonies are fecal coliforms. . . . . _____

Calculate direct count in density per 100 ml . . . . . _____

56. Delayed-Incubation Coliform Test

After filtration, place MF over pad of M-Endo containing 3.2 ml of a 12% sodium benzoate solution per 100 ml of medium . . . . . _____

Addition of 50 mg cycloheximide per 100 ml of preservative medium for fungus suppression is optional . . . . . _____

Transport culture by mail service to laboratory within 72 hours . . . . _____

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

Laboratory	Location	Date

61. Laboratory Safety (Continued)

Adequately functioning autoclaves with periodic inspection and maintenance. . . . . ____
Accessible facilities for hand washing . . . . . ____
Proper maintenance of electrical equipment to prevent fire and electrical shock . . . . . ____
Convenient gas and electric outlets. . . . . ____
First aid supplies available and not out-dated . . . . . ____

62. Remarks

EPA-103 (Cin)
(Rev. 3-71)

13

LABORATORY CERTIFICATION

CRITICAL ELEMENTS FOR CERTIFICATION

Harry D. Nash, Chairman, Microbiology Sub-Committee
Microbiological Treatment Branch
Drinking Water Research Division
Municipal Environmental Research Laboratory
U.S. Environmental Protection Agency
26 West St. Clair Street
Cincinnati, Ohio 45268

The Drinking Water Laboratory Certification Implementation (DWLCI) Work Group established three Sub-Committees, one for each of three technical disciplines, microbiology, chemistry, and radiochemistry. Each sub-committee functions as a technical advisory group responsible to the DWLCI Work Group. One of the primary functions of each group was to revise the specific technical chapter of the "Manual for the Interim Certification of Laboratories Involved in Analyzing Public Water Supplies". During the revision, the sub-committee incorporated suggestions and recommendations which were received as a result of an extensive review program of the Manual for Interim Certification. These suggestions and recommendations were received from all EPA Regions, States, municipalities, and science advisory groups. As the revision progressed, drafts were again submitted for extensive review and all additional comments were considered and used to develop the final draft submitted to the DWLCI Work Group for approval prior to final approval by the Office of Drinking Water.

Basically the revision was one of format to separate Critical Elements for Certification from Recommended Practices, to define quality control items and to clarify some of the existing critical element items. A sincere effort was made not to create additional critical elements and certainly not to change recommended practices to critical elements. The format revision was accepted by the reviewers and was considered to be a substantial improvement. The chapter is now divided into three sections: (1) Critical Elements for Certification, those items essential to the proper application of approved methodology which will determine laboratory certification approval; (2) Recommended Practices, those items providing guidance for good overall laboratory practice; and (3) A Sample Evaluation Form which can be used during an on-site evaluation. The sample form is to aid the evaluator in conducting a systematic on-site evaluation and lists only those items presented in the section on Critical Elements for Certification. The sections on Critical Elements and Recommended Practices are subdivided into nine categories: Personnel; Laboratory Facilities; Laboratory Equipment, Supplies, and Materials; General Laboratory Practices; Analytical Methodology; Sample Collection, Handling, and Preservation; Quality Assurance Program; Data Reporting; and Action Response to Laboratory Results. Of the two major sections, Critical Elements for Certification and Recommended Practices, only the Critical Elements for Certification are to be used to determine laboratory certification approval. Furthermore, critical elements

are used to determine certification only if the laboratory uses the equipment required for the methodology or has the final delegated responsibility relating to any critical element. Critical elements relative to the membrane filter procedure would not be applicable to laboratories conducting only the multiple tube fermentation procedure. Also, the critical element referring to sample collectors being trained in sampling procedures would not be used to determine certification approval if the laboratory were not delegated the responsibility of training sample collectors.

The number and extent of detail of the critical elements in the chapter on microbiology are greater than those set forth in the chemistry chapter. Standard samples having true values of bacterial densities which can consistently be recovered using the best methodology are not available to the microbiologist. Performance evaluation and quality control samples for microbiology serve to substantiate the correct application of the methodology to the analysis. Therefore, expansion of the number and detail of the microbiological critical elements was necessary to insure that the most accurate and valid data are obtained by the analytical method applied to the analysis.

It is important to understand that the intent of the critical elements was not to impose a burden upon laboratories by increasing the work load. Many of the quality control items are being and have been conducted by many of the laboratories in the past. However, in many cases, documentation of quality control measures has been inadequate and must be updated. The need for some improved documentation relates to pH meter standardization, media pH, calibration of balances, sterility of materials and autoclaving procedures. The critical elements relating to these items are minimal but are considered necessary to assure that the method will provide valid data.

All quality control measures relating to Critical Elements for Certification are designated by the capital letters "QC" and require documentation. Quality control items relating to laboratory equipment and supplies are:

1. Standardizaton of pH meters using a pH 7.0 standard buffer. Many reviewers recommended the use of three standard buffers, pH 4.0, 7.0 and 10. This appears excessive to include in the critical elements; however, use of these standard buffers would not be discouraged.

2. Calibration of balances monthly using Class S or S-1 reference weights. Non-reference weights may be used if calibrated annually with Class S or S-1 reference weights. This does provide an option as to the purchase of Class S or S-1 reference weights.

3. Calibration of glass/mercury thermometers annually against a reference NBS thermometer at the temperature for use.

4. Recording the temperatures of incubators on the days in use, at least twice per day with each reading separated by at least four hours.

5. Recording the date and sterilization time and temperature for each sterilization procedure.

Quality Control items relating to General Laboratory practices are:

1. Confirming sterility of sample bottles using a non-selective broth.

2. Testing the quality of laboratory pure water which includes conductivity, total chlorine residual and performance of the test for bacteriological quality of distilled water.

3. Checking sterility of rinse water using a non-selective broth.

4. Conducting the Inhibitory Residue Test to insure that lab ware washing compounds do not leave a toxic residue.

5. Recording media prepared: the date of preparation, type of medium, lot number, sterilization time and temperature, final pH and technicians initials.

6. Conducting MF sterility checks at the end of each filtration series.

It must be emphasized that these quality control items are minimal and all laboratories are encouraged to expand quality control measures as needs are recognized. Also, quality control becomes ineffectual unless it is adequately documented.

Critical elements relating to time limits for autoclaving of materials were intentionally written as minimal times for sterilization of sample bottles, glassware, dilution water, rinse water and contaminated test materials. Sterilization times will vary depending upon volume, container size and load size. Stating specific time limits would not allow the flexibility needed to insure sterility.

Critical elements addressing verification of sheen colonies and conducting the completed test were not intended to increase laboratory work loads. However, many comments suggested that the work load would be increased, especially during the warmer seasons. The critical element relating to verification of sheen colonies is to be applied only to those samples which are determined to be unsatisfactory (presence of five or more sheen colonies). Also, conducting the completed test is applied only to those analyses showing three or more postive tubes. This provides a mechanism by which false positive results can be corrected and water systems will not be reported to be in non-compliance in an official report. Adjustment of coliform data can be based only upon verified colonies or completed test results; however, the initial reporting of unsatisfactory samples should be based upon unverified MF and confirmed test MPN data. Therefore, verification of sheen colonies and conducting completed tests will not delay action response to laboratory findings. It is important to remember that these critical elements apply only to samples initially determined to be unsatisfactory. The work load will increase only if corrective action is not taken to upgrade the water systems.

Complete test.

Critical elements that relate to sample transit time were not changed because sufficient data is not yet available to justify making the sample transit/storage time more stringent. However,

States having primacy can require a transit time which is more stringent than the federal guidelines based upon specific needs.

The test for bacteriological quality of distilled water (distilled water suitability test) also remains as a critical element. Other tests, such as the "Interval Plating Procedure" and the "Use Test" were considered as alternatives. However, based upon reviewer comments and the lack of sufficient data to demonstrate that the alternate tests are comparable or better than the distilled water suitability test, the distilled water suitability test was retained.

It is recognized that personnel and laboratory facilities are critical to the best application of methodology which assures obtaining valid data: however, there are no critical elements relating to Personnel and Laboratory Facilities in the revised chapter. In fact, there were no minimum requirements proposed in the interim certification manual. During the course of the revision, critical elements were suggested relating to academic training, on-job-training, and experience for both the analyst and supervisor or consultant. Also, critical elements relating to laboratory facilities were suggested. State laws and regulations pertaining to personnel and facilities vary so greatly among the States that any critical element acceptable to all State programs would be ineffectual. Each State can better address the needs pertaining to personnel and facilities based upon the individual State laws and regulations. However, guidelines are given in the Recommended Practices section of the revised manual relating to both personnel and facilities.

Time does not permit discussion of every critical element. Reviewer comments were used to determine which items would be included in the Critical Elements for Certification section and all of the critical elements are considered minimal. Only the critical elements are to be used to determine certification approval. Recommended Practices are guidelines used to assist in overall good laboratory practices. States having primacy can make critical elements more stringent or include additional critical elements in accordance with State programs.

During the course of the Microbiology Chapter revision, the Subcommittee recognized additional needs based upon reviewer comments. Therefore, the Subcommittee recommended that the DWLCI Work Group consider three additonal proposals. (1) That an official central clearinghouse be designated by the DWLCI Work Group to respond to technical questions from both Regions and States concerning laboratory evaluations. This clearinghouse could also provide guidance as to how critical elements are applied to determine certification approval, hopefully, assuring more uniformity of the overall certification program. For example, would determination of non-compliance for a single critical element result in a recommendation for certification disapproval? (2) The certification program should function so that the evaluators are qualified to provide technical assistance to those laboratories experiencing difficulties rather than functioning solely for certification. (3) The regional laboratory evaluators should meet annually to exchange viewpoints, discuss problems and propose needed changes to insure uniformity relating to evaluations. Input from evaluators will be of particular benefit for future revision and updating of the certification manual. These recommendations appear even more important now that the EPA National Training and Operational Technology Center has been abolished.

In summary, the revised Microbiology Chapter was basically a format revision. The chapter was reorganized into three sections with the Critical Elements for Certification section listing all items, including quality control items, to be applied to the evaluation of laboratories involved in analyzing public drinking water. Drafts of the revision were submitted for extensive review and all comments received were considered in preparation of the revised chapter. A sincere effort was made not to include additional critical elements which were not initially in the mannual for interim certification. Future revisions will be necessary in order to update and improve critical elements. These revisions will reflect the needs of laboratories and the certification program based upon additional data and recommendations of those involved in the program.

خطة التدريس للدورة التدريبية فى
مجال ميكروبيولوجيا مياه الشرب
(التحكم فى الجودة – أجهزة المعامل – العينات)

مقدمة إلى

الشركة القابضة لمياه الشرب و الصرف الصحى

Holding Company for Water and Wastewater

إعداد

البرنامج التدريبى للمعامل المركزية

ميكروبيولوجيا المياه

(التحكم فى الجودة – أجهزة المعامل – العينات)

Central Laboratories Training Program

Water Microbiology

(Quality Control/Quality Assurance- Laboratory Apparatus- Sampling)

GTZ

مايو 2008

المحتويات

أولا: نظرة عامة ع لى البرنامج التدريبى ميكروبيولوجيا المياه (التحكم فى الجودة – أجهزة المعمل – العينات)

1. الهدف العام للدورة التدريبية
2. المجموعة المستهدفة
3. عدد المتدربين
4. منهجية التدريب
5. مساعدات التدريب
6. قائمة الدورات التدريبية
7. مكان التدريب و طريقة الجلوس بجلسات التدريب

ثانيا: خطة التدريس بالدورة التدريبية ميكروبيولوجيا المياه (دورة التحكم فى الجودة – أجهزة المعمل – العينات).

1. أهداف الدورة
2. موضوعات الدورة
3. مدة الدورة
4. البرنامج الزمنى للدورة

أولا: نظرة عامة على البرنامج التدريبى ميكروبيولوجيا المياه (الجودة – الأجهزة- العينات)

1. الهدف العام للدورة التدريبية

يهدف هذا الجزء الى تعريف الدارسين بجزئية هامة تلعب دورا كبيرا فى نتائج التحاليل البكتريولوجية والتى هى الأخرى من أهم الأسس التى يعتمد عليها فى الوصول الى الحكم على صلاحية مياه الشرب هذه الجزئية التى سنتناولها هى تأمين النوعية/ التحكم فى الجودة Quality Assurance QA/Quality Control QC.
ان وضع برنامج للتحكم وتأمين نوعية مياه الشرب مهم لأنه هو الوسيلة التى تجعل هناك ثقة فى نتائج التحاليل التى يقوم بها المعمل . وبتطبيق البرنامج يمكن أن يكون المعمل معتمد لدى الجهات الدولية الأمر الذى يزيد الث قة فى نتائج المعمل بل من الممكن أن يكون معمل مرجعى يمكن من خلاله تقييم نتائج المعامل الأخرى.
فى نهاية هذه الجزئية سيتمكن كل دارس من الوقوف على أول خطوة من خلالها يمكن التحرك فى اتجاه اهدف الأساسى وهو تطبيق برنامج (QA/QC) تلك الخطوة هى تقييم المعمل تم هيدا لتطبيق برنامج تأمين والتحكم فى الجودة . وبمعرفة الدارس أسس تلك النظم فمن خلال عمله وتطوير الأداء بدءا من جمع العينات ، واتباع الطرق القياسية فى التحليل مع تطبيق برامج QA/ QC والتى من أهدافها تقليل الأخطاء فى المعمل والتى تنعكس على دقة النتائج المتحصل ع ليها سيكون هناك فى النهاية سجلات للنتائج وتحليلها يمكن الاعتماد عليها لتأكيد سلامة مياه الشرب.
وفى نهاية البرنامج سيكون هناك مجموعة من الميكروبيولوجين معدون نظريا وعمليا ومن خلال ما سيتسلموه من مادة علمية على صورة مذكرات ومجموعة Power point سيتمكنون م ن نقل ما تلقوه خلال الدورة الى مجموعة أخرى من العاملين وبالتالى تتسع الخبرة النظرية والعملية ويتم تحديث خبراتهم بكل ما يخدم العاملين فى هذا المجال.

2. المجموعة المستهدفة

- الميكروبيولوجيين العاملين بالمعامل المركزية لشركات المياه التابعة للشركة القابضة لمياه الشرب والصرف الصحى.

3. عدد المتدربين

يبلغ عدد المتدربين المقدر لحضور دورة ميكروبيولوجيا المياه (التحكم فى الجودة – أجهزة المعمل – العينات) ما بين 20 – 22 متدرب من المعامل المركزية مجزئين على مجموعتان.

4. منهجية التدريب

تعتمد منهجية التدريب بالدور ة على عدة اسس يكون الهدف الرئيسى منها توصيل المعلومة بسهولة و يسر للمتدرب و كذلك ضمان المشاركة الفعالة من المتدربين أثناء جلسات التدريب والتأكد من الفهم الك امل لمحتويات و موضوعات الدورة و التدريب العملى والشخصى على الموضوعات التى ستتناولها الدورة.
هذا ويمكن تلخيص المنهجيةِ المتبعة فيما يلى:

- **المحاضرات:** التى يلقيها المدر ب ذا الخبرة بهدف توصيل أحدث المعلومات على صورة نظرية وعملية والتأكد من التطبيق العملى بطريقة صحيحة وعلى أساس من الفهم مما يمكنه من تلاشى الأخطاء التى من الممكن أن تلعب دورا فى صحة النتائج التى يتحصل عليها والتى تهتم بجودة مياه الشرب.
- **الشرائح Power point:** التى تعرض أثناء الشرح لإبراز النقاط الرئيسية لكل موضوع فى تسلسل منطقى ولضمان وتثبيت المعلومة لدى المتدرب.
- **المناقشات المفتوحة :** ويديرها المدرب أو المحاضر وتتيح هذة المناقشات الفرصة لتبادل الأراء وتوجيه الأسئلة و الحصول على معلومات جديدة كما إنه يتم من خلالها نقل المعارف و الخبرة العملية والنظرية من المدر ب إلى المتدربين واصلاح لمفاهيم الغير صحيحة أو غير حديثة لدى المتدربين.
- **دراسة الحالات الواقعية :** وهى تفيد فى عرض المشاكل العملية التى يواجهها المتدربون أو التى سوف يواجهونها فى عملهم و أساليب التغلب عليها بالاسلوب العلمى الصحيح.
- **التدريب العملى:** والذى سيتاح بصورة فردية لكل متدرب باستخدام الطرق القياسية الحديثة لضمان الفهم التام والتطبيق الصحيح من المتدرب للمعلومات والطرق العملية التى تم تدريسها.

- **المراجع العلمية و الكودات و المواصفات:** يتم إعطاء المتدرب المراجع العلمية التى أعتمد عليها والتى يمكن ا لرجوع إليها لزيادة التعمق فى المجال و كذلك الإشارة ومناقشة الكود الخاص بتشغيل محطات معالجة مياه الشرب والمواصفات الحديثة الحاكمة والمعمول بها فى مصر وعلى المستوى الدولى فى مجال مياه الشرب.
- **فى نهاية الدورة يتم تقييم الحاضرين من خلال اختبار تحريرى فى مواد الدورة.**

5. مساعدات التدريب
   - جهاز عرض الشرائح (Power Point Projector)
   - سبورة بيضاء أو سبورة ورقية
   - شاشات عرض.

6. قائمة الدورات التدريبية

سيتم عمل عدد 4 دورات فى مجال ميكروبيولوجيا المياه ويتم إعادة كل دورة مرتان. وعنوانين الدورات كالتالى:

- دورة التحكم فى الجودة – أجهزة المعمل – العينات.
- دورة ميكروبيولوجيا المياه السطحية والجوفية.
- دورة أسس التحليلات الميكروبيولوجية وتقدير البنود الأساسية.
- دورة الطرق والبنود الخاصة فى التحليل والمواصفات القياسية لمياه الشرب.

7. مكان التدريب و طريقة الجلوس بجلسات التدريب

يجلس المتدربون وفى مواجهتهم المحاضر فى المنتصف وعلى يمينه جهاز الكمبيوتر لعرض الشرائح Power Point وشاشة العرض وعلى يساره السبورة البيضاء أو السبورة الورقية ويكون وضع كل من شاشة العرض والس بورة بحيث يسمح بسهولة الرؤية لجميع المتدربين.

وتقدر المساحة المطلوبة لقاعة التدريب بما لا يقل عن 5 × 7 مترا لتستوعب المتدربين والمدرب لتسمح بسهولة حركة المدرب وإمكانية وصولة لأماكن جلوس المتدربين. ويلزم أن تتوفر بالقاعة الإضاءة اللازمة والتهوية الكافية والأجهزة الصوتية المناسبة.

كما يلزم توفير معمل يتسع لعدد 10 – 12 متدرب (يمكن عمل 5 – 6 مجموعة من شخصين على الأكثر) والمعمل يكون مجهز بالامكا نيات من أجهزة وأدوات، أما البيئات والكيماويات وبعض المستلزمات فسيقوم بتوفيرها وكالة التعاون الفنى الالماني gtz.

تتم دورتان بتكرارها فى المعمل المركزى بمحطة الفسطاط بالقاهرة ودورتان بمكررها بالمعمل المركزى بشركة مياه البحيرة بدمنهور.

ثانيا: خطة التدريس بالدورة التدريبية

أ. دورة التحكم فى الجودة – أجهزة المعمل – العينات.

محاضر: أ.د. حلمى توفيق الزنفلى

تدريبات عملية: مساعد من هيئة العاملين بالمعمل الذى تتم فيه الدورة وذلك بالتناوب.

أهداف الدورة

- التعرف على ضرورة تطبيق برنامج للتحكم وتأمين جودة مياه الشرب من الناحية الميكروبيولوجية.
- الخطوط الاسترشادية لبرنامج تأمين نوعية مياه الشرب.
- أهداف برنامج تأمين النوعية.
- عناصر برامج تأمين والتحكم فى الجودة.
- العينات جمعها من المصادر المختلفة – حجمها– نقلها - حفظها

موضوعات الدورة

- المقدمة وشرح الهدف من الدورة
- مقدمة عن تأمين النوعية/التحكم فى الجودة.
- الخطوط الاسترشادية لبرنامج تأمين النوعية
- أهداف برنامج تأمين النوعية
- عناصر برنامج تأمين النوعية
- دور كلا من الأشخاص – التسهيلات – الأجهزة- الامدادات المعملية- طرق التشغيل- طرق التحليل- طرق التحكم فى طرق التحليل- تأكيد النتا ئج- الوثائق والاحتفاظ بالسجلات- تناول النتائج- المراجعة الخارجية- اختبار البراعة الخارجى.
- البيئات المعملية : تحضيرها- تخزينها- ضبط التفاعل- التعقيم – تخصص البيئات.
- العينات : أوعية جمعها – ازالة الكلور – طريقة الجمع من المصادر المختلفة – برنامج جمع العينات وعددها - الرواسب – أجهزة الجمع – حجم العينة – حفظ العينات ونقلها.

مدة الدورة

تستغرق الدورة مدة خمسة أيام متواصلة و يبدأ العمل يوميا من الساعة الثامنة والنصف صباحا حتى الساعة الخامسة و النصف بعد الظهر، أى مدة تسع ساعات (بواقع خمسة ساعات نظرى وثلاث ساعات عملى) يوميا يتخللها ساعة لتناول المشروبات والغداء.

4 البرنامج الزمنى للدورة

اليوم	الجلسة	التوقيت	الموضوع	المحتوى	
	التسجيل	8:30	**إستقبال و تسجيل المشاركين فى الدورة**		**الشرائح**
اليوم الأول	**جلسة الإفتتاح**	10.00 – 9:00	**التعارف** **المقدمة والهدف** **الهدف من الدورة**	• **أهداف أختبارات نوعية المياه** • **ضرورة تطبيق برنامج QC/QA** • **الصعوبات التي تواجهة تطبيق البرنامج** • **الخطوط الاسترشادية لبرنامج QA** • **مسئوليات الإدارة** • **ضابط QA** • **المنسق**	**16-1**
	الجلسة الأولى	1.30 – 10.30	**عناصر برامج QA**	• **الأعضاء** • **أهداف برنامج QA** • **عناصر البرنامج** • **الخطوط الاسترشادية للتحكم في النوعية خلال المعمل**	**27 - 17**
	الجلسة الثانية	4.00 – 2.30	**أهمية أجهزة المعمل**	• **مراقبة نوعية المياه**	

اليوم	الجلسة	التوقيت	الموضوع	المحتوى	
				• الاشخاص العاملين في المعمل (1) • التسهيلات • أجهزة وأدوات المعمل	83- 29
اليوم الثانى	الجلسة الثالثة	10.00 -9:00	استكمال عناصر برامج QA	• زجاجيات المعمل • البيئات الميكروبية • تحضير البيئات • زجاجات البيئات • اختبار السمية • الماصات	100 - 85
	الجلسة الرابعة	1.30 – 10.30	استكمال عناصر برامج QA	• أطباق البترى • الأنابيب • زجاجيات التحضير • برنامج المراقبة علي أجهزة المعمل • مياه المعمل واختباراتها	142- 101
	الجلسة الخامسة	4:00 – 2.30	زيارة المعمل	• التعرف علي أجهزة المعمل وتشغيلها	
اليوم الثالث	الجلسة السادسة	10.00 –9:00	مكونات المعمل وأهميتها والتأكد من الجودة واختباراتها	• الدلائل • الصبغات • المرشحات الغذائية	154 - 143

اليوم	الجلسة	التوقيت	الموضوع	المحتوى	
	الجلسة السابعة	1.30 – 10.30	**جودة المواد المستخدمة في المعمل**	• **بيئات المزارع** • **التعقيم** • **استعمال البيئات** • **تخزين البيئات** • **التحكم في نوعية البيئات**	**169 - 155**
	الجلسة الثامنة	4:00 – 2.30	**معمل**	• **تحضير البيئات** • **تعقيم البيئات** • **تداول البيئات** • **تخزين البيئات**	
اليوم الرابع	**الجلسة التاسعة**	10.00 – 9:00	**طريقة التشغيل القياسية** **العينات أخذ العينات والتعامل معها**	• **طرق التشغيل القياسية** • **أخذ العينات** • **التخطيط للعينات** • **جمع العينات** • **العبوات** • **إزالة الكلور**	**183 - 170**

اليوم	الجلسة	التوقيت	الموضوع	المحتوى	
				• عينات مياه الشرب والتعامل معها	
	الجلسة العاشرة	1.30 – 10.30	العينات وكيفية التعامل معها طبقاً لبرنامج QA	• عينات المياه الخام • شواطي الاستحمام • الرواسب والحمأة • الاختبارات البكترولوجية للمواد الصلبة الحيوية • جمع العينات يدوياً • أدوات جمع العينات • حجم العينات	198 - 184
	الجلسة الحادية عشر	4:00- 2.30	التدريب علي التعقيم وجمع العينات		
اليوم الخامس	الجلسة الثانية عشر	10.00 – 9:00	طرق التحليل ودورها في تحقيق الجودة التحكم في الجودة داخل المعمل	• طرق التحليل • التحكم في نوعية طرق التحليل • طريقة العد الاحتمالي • قياس دقة الطرق • التأكد من النتائج	214 – 199
	الجلسة الثالثة عشر	1.30 – 10.30	تقييم طرق التحليل واختبارها	• الاختبارات الإنزيمية • البكتريا السبحية البرازية • طريقة المرشحات الغشائية	251 - 215

اليوم	الجلسة	التوقيت	الموضوع	المحتوى	
				• بكتريا القولون البرازية • بكتريا القولون الكلية • مجموعة الانتيروكوكي • تسجيل النتائج ومعالجاتها • التقارير • مناقشة الكود المصري لتشغيل المحطات وأهميته في تحقيق الجودة • قوائم استبيان الأجهزة والكيماويات لتقييم المعمل واستكماله	
	الجلسة الرابعة عشر	3:00 – 2.30	التعامل مع البيئات وقراءة النتائج والتدريب علي عمل التقارير عملياً		
		4:00 – 3:00	التقييم النهائي للمتدربين		

WATER MICROBIOLOGY

Module 1
Quality Control/Quality Assurance
Laboratory Apparatus
Sampling

Prof. Dr. Helmy T. El-Zanfaly

Mai 2008

أهداف اختبارات نوعية المياه

- التحقق من توافر الهدف الأساسى من وراء معالجة المياه وهو حماية الصحة العامه ومنع انتشار الأمراض بين جمهور المستهلكين وذلك من خلال :
  - تحديد درجة تطابق خصائص المياه المعالجة (كيماويا وميكروبيولوجيا واشعاعيا) مع المواصفات القياسيه الموضوعة والمحددة بواسطة الجهات المعنيه (وزارة الصحة والسكان).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

• الوقوف على اداء كافة مراحل المعالجة ومعالجة القصور ان وجد فى احداها.

•الوقوف على حالة شبكات التوزيع والحاجة الى الصيانه من خلال تقدير مدى التغير فى خصائص المياه نتيجة مرورها فيها ولضمان وصول المياه الى المستهلك باقل تغيرات ممكنه فى الخصائص عند خروج المياه من محطة المعالجه.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

•The setting of realistic standards, considering the different pollutants and the need for development according to the new findings in that respect,

•To have laboratories, supplied with the appropriate facilities,

•The use of appropriate monitoring technology for assessing water quality,

gtz Partner for the Future. Worldwide.

•To have programs of Quality Assurance/Quality Control to ensure the realistic results.

•An important consideration in the development and maintenance of safe water supplies is:

gtz Partner for the Future. Worldwide.

يتم ذلك من خلال:

•الوقوف على أحدث المواصفات والتى تضع الحدود القصوى

• لكل ملوث والمسموح بها فى مياه الشرب لمنع أو الحد من الاضرار بالصحة العامة.

•توفير المعامل المجهزة والقوى البشرية بما يتيح لها القيام باختبار وتقدير وتحديد نوعية المياه من خلال :

gtz Partner for the Future. Worldwide.

•جمع عينات بدءا بالمياه الخام عند المأخذ ومرورا بمراحل المعالجة المختلفة الى المياه المعالجة عند نقطة طرد المحطة ثم من نقاط متفرقة ممثله ومحددة على طول شبكة التوزيع وذلك

طبقا لجدول زمنى محدد، وباتباع الطرق القياسية والاحتياطات فى جمع ونقل وحفظ العينات، الالتزام باتباع أحدث الطرق القياسية فى جميع التحليلات،

gtz Partner for the Future. Worldwide.

•ضرورة تطبيق برامج QC /QA فى المعمل لضمان صحة ودقة النتائج المتحصل عليها فاذا تحقق ذلك فانه من خلال النتائج يمكن:

- اعتماد نتائج المعمل والاعتداد بها لدى الجهات المسؤوله
- تأكيد صلاحية المياه من الناحية الميكروبيولوجيه
- تفهم كفاءة عملية المعالجة والتى هى ضرورية
- تعديل نظام التشغيل لتحقيق أقصى انتاج من المياه المعالجه
- مراجعة مدى مناسبة التركيب الحالى لنظام المعالجة
- تحقيق اقتصادية المعالجة

gtz Partner for the Future. Worldwide.

Quality Assurance/ Quality Control

هناك اهتمام بنوعية المياه (من خلال وضع مواصفات قياسية)

↓

تنفيذ- الزام - مراقبة

↓

Laboratory + Analyses

↓

Quality Assurance Program

↓

تقوية وتجسيد فعالية بيانات التحليل

عمليات ضرورية لازالة الأخطاء

(طرق-أجهزة وأدوات-عينات- أشخاص)

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- البرنامج يجب أن يكون :

*عمليا + متكامل

*لا يحتاج الى وقت طويل (الاهمال)

- نتائج تطبيق برنامج متوازن QA:
- بيانات من نوعية عالية الجودة
- ١٥ % من وقت المعمل لبرنامج QA
- التحليلات الميكروبيولوجية مختلفة عن التحليلات الكيميائية

(Ref. + Standards)

gtz Partner for the Future. Worldwide.

صعوبات

•برامج QA تختلف بين المعامل؟

الجهات التنظيميه - المسؤوليات – الأهداف - حجم المعمل- القدرات- الامكانيات- مهارة الأعضاء- التدريب

كل معمل يختار مستوى QA طبقا لهدفه.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الخطوط الاسترشادية لبرنامج QA

البرنامج يتوافق مع الاحتياجات الخاصة بالمعمل ومخطط استعمال النتائج .

- بناء على النتائج سيكون هناك قرار (تكاليف + مغزى)
- البرنامج سيزيد الثقة فى النتائج.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- **مسئوليات الادارة:**

- ادراك الحاجة الى البرنامج،
- توفير الماليات،
- الأشخاص (الكوادر)،
- تحديد مسؤليات الادارة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

مسئول QA Officer:

- تطبيق البرنامج،
- الاتصال بالادارة العليا لنقل التقارير اليها،
- تعليم عملى Technical education
- مدرك كل ما يقوم به المعمل،
- على علم بالطرق الاحصائيه لتقييم النتائج،
- مسئولية اقناع الأعضاء بأهمية تطبيق البرنامج،
- تدريب أعضاء المعمل.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

المنسق:

- مراجعة مستمرة مع مشرف المعمل لتقدير
- الانجازات تحديد المشاكل وحلولها.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الأعضاء (المعمل + Field)

- الاشتراك مع الادارة فى تخطيط البرنامج،
- تحضير طرق التشغيل القياسية،
- تطبيق البرنامج،
- مراجعة للبرنامج،
- اعداد التقرير بالنتائج،
- توضيح المشاكل والعمل على حلها مع المشرف ومنعها.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

أهداف برنامج QA:

- نتائج جيدة،
- أداء معملى جيد،
- تقييم العمليات المعمليه،
- تحديد نقاط الضعف فى العمليات المعمليه
- الاحتياج الى التدريب،
- تحسين التوثيق والاحتفاظ بالسجلات.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

عناصر برنامج QA:

- خطه (وصف البرنامج + الأنشطه بالمعمل)
- تحديد الأهداف الخاصة بالمعمل
- طرق جمع العينات
- تنظيمات العاملين
- احتياجات المعمل من الأجهزة
- توصيف الاحتياجات

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- طرق التحليل
- الطرق القياسية للتشغيل
- الاحتياجات التوثيقيه
- الاحتياج الى التقييم :
  - التدقيق الداخلى
  - التقييم فى الموقع
  - دراسات تقييم الأداء
- اجراءات التصحيح

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الخطوط الاسترشاديه للتحكم فى النوعية خلال المعمل

(Intralaboratory)

- تستنبط من الفطرة السليمه
- أسس التجارب المحكمه
- البرنامج يستخدم التطبيقات الضروريه لتقليل الأخطاء.
- مشاكل خاصة فى الميكروبيولوجى:
- التحاليل القياسيه - العينات المرجعيه - مطلوب الحكم الشخصى

البرنامج هام من جمع العينات الى تسجيل النتائج وتحليلها.

- المعامل الصغيرة تحتاج الى برامج صارمه.

مـــراقـــــــبة نـــــوعـــية المـــياه

Monitoring Drinking Water Quality

مراقبة نوعية المياه تبدأ بالمصدر المستخدم لأن نوعية المياه المنتجه تعتمد على نوعية مياه المصدر وكفاءة خطوات المعالجه.

وتعتمد النتائج المتحصل عليها على:

- طريقة جمع العينات – نقلها – حفظها،
- عدد العينات المجمعه من نفس الموقع،
- الطريقة المستخدمة فى التحليل،

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- دقة وحساسية الأجهزة المستخدمة،
- دقة وخبرة القائم بالتحليل.

ومن أهم النقاط وضع برنامج زمنى لجمع العينات من المواقع المختلفة والمحددة مع تحديد عناصر التحليل عند كل مرحلة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

هذا البرنامج من المفروض أن يأخذ فى الاعتبار عدة نقاط من أهمها:

- نوعية المصدر (مياه سطحية – مياه جوفية)،
- مدى ثبات نوعية المياه ومدى احتمال تعرضها للتلوث،
- نوعية وكمية الملوثات التى يستقبلها المصدر،
- عدد السكان اللذى تخدمه المحطة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

١.الأشخاص:

- ميكوبيولوجى أو فنى محترف
- تحديد الواجبات
- التدريب
- تقييم الأشخاص
- المشرف يراجع الطرق + تحضير البيئات + الأدوات + طرق التحكم فى الجودة للحد من المشاكل.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٢. التسهيلات Facilities

- التهوية
- استغلال الفراغ
- مساحة Bench
- الحوائط والأراضى
- مراقبة منطقة العمل
- نظافة المعمل

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٣. أجهزة وأدوات المعمل

LABORATORY APPARATUS

Basic laboratory apparatus must be:

- of adequate quality to meet levels of sensitivity,
  high level of accuracy,
  high durability,
  need only minimum service,
  availability of spare-parts.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

Long –term laboratory equipment items

should be:

- of proper capacity to meet the current needs during peak working periods,
- have an approx. 50% additional reserve capacity for future needs.
- Understanding of operational controls and properly using the apparatus, minimize laboratory accidents.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الترمومترات/ وسائل تسجيل الحراره

- Selected calibration points should include temp. most commonly used, such as 5°C, 20°C, 35°C, 44.5°C, 121° C, and 170°C. 0.1°C can be easily read (long stem).
- Accurate, compared by readings of a National Bureau of Standards certified thermometer or equivalent.
- Checking periodically for Hairline breaks in mercury.
- Air space elimination (High and low temp. water bath), max. temp. does not exceed the thermometer range.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

المـــــــيزان

- Trip pan balance (several hundred grams of media).
- Sensitivity of better than 2 grams/150 gram load.
- Weights built into the system or may be added separately in a pan.
- Weights kept in a protective box, handle only by forceps.

- Use cover (dust), avoid spilling dehydrated media on.
- Balance with 10 gr. Load ang 1 mg sensitivity for media additives, reagents, dyes. Protected from vibrations, dust, and wind current.
- Annual preventive maintenance (adjustment cleaning, and repair (qualified instrumentation service organiz.)

pH meter

- +/- 0.1 pH units.
- Problems: poor electronic emission, gas buildup, Internal noise to heater element failure.
- Preventive maintenance
- Electrodes may become defective at the thin-walled tip and cause erratic performance (spare electrode).

- When not in use, electrode tips should be immersed in a small beaker of distilled water (dry, caked with potassium chloride crystals).

- Bleeding of potassium chloride (loss), can be controlled by inserting the rubber plug at the filling port and using rubber cap over the electrode tip.

- Colorimetric pH methods are not accept-able (colored media).

- Placing pH meter on metal table cause interference (non metal stand).

حـضـانـــة الهـــــواء الساخـــن

AIR INCUBATION REQUIREMENTS

- Incubator temperature is essential to detect organisms of sanitary significance (in water & sewage).
- The major emphasis have been on studies of those species or groups of bacteria derived from contamination by human or animal wastes.
- It is necessary to choose an incubation temperature, incubation time favorable to this specific bacterial segment of bacteria (for their direct detection or its physiological activities).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

BENCH-TOP INCUBATORS

- Must have sufficient space to accommod-ate culture tubes (MPN) or MF plates during peak work periods.
- Provided by automatic recoding thermo-meter (manual temperature record, morning and afternoon).
- Deviations in the records of the adjusted temperature +/- 0.5° C (proper thermostat adjustment.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Sufficient insulation to protect against room temperature fluctuations.
- Temperature instability may due to:
- Poor insulation (non-water jacketed)
- Decrease of line voltage (powerstat transformer between the incubator and power outlet).

- Locating near a window
- (sunlight, cold air).
- Ambient temperature in the room (18- 27°C), adjusted by air condition.
- Water-jacketed incubators are far superior.
- Hot spots" resulting from nonuniform radiation

- Some shelf areas at higher or lower temp. than the desired (thermometers at top and bottom shelves to have the average + thermometer bulbs must be immersed in water as buffering from changes due to door opening).

- Air incubator produce low humidity (media composition and pH changes with long incubation period).

- Agar plates incubated at 35° C for 48 hrs should not have loss greater than 15%.

- High losses = Suppress bacterial growth +Small , poorly differentiated colonies on MF

- Partially submerging a towel in a beaker of water increases humidity of the incubator chamber (fungi growth replaced). + water reservoir at the bottom.

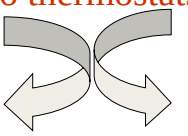
INCUBATOR ROOM

- More complex environmental controlling system:

(+/- 0.5° C , 75 – 85 % relative humidity). That need:

- Primary heating control (30 -40° C) + Secondary heating source (maintain the temp. +/- 0.5° C).

- Two separate heat generators with two thermostats.



34 – 35° C 0.5°C

- Alarm 35°+/-

- One heat source + Blower (to distribute heat) is more economic (subject to excessive temp. variations).

- An exhaust port in the center of the ceiling with a low speed exhaust fan to pull heated air through all portions of the room and then exit it through the exhaust port.

- Humidifying system may be necessary.

- Thermometers, with their bulbs immersed in water, may be placed at several locations in the shelf area.

- Recoders.

Water Bath

- Large bench-top water baths with gabled covers can effectively maintain a temperature of 44.5°C within +/- 0.5° C (lowered to +/- 0.2° C by adding a low speed stirring motor).

- Stainless-steel or plastic-coated baskets and racks should be used in water baths to avoid corrosion. Heavy deposits of rust act as a heat insulator and must be removed.

- (Rust Inhibitor)

2 gr. Of Potassium or Sodium dichromate and 0.5 gr of Sodium carbonate or 1.0 gr of Sodium bicarbonate, dissolve each in a little water and adding to the water bath separately (violent heat if added at same time).

- Disinfection (Bleaching powder, QAC) in case of slime formation, 24 hr, flushing and refilling with distilled water.

ELEVATED TEMPERATURE INCUBATION REQUIREMENTS

- Recovery of salmonella, 7 hr test and standard method for fecal coliforms (41.5^{o} C – 44.5^{o} C). Precise temperature is essential.
- The inoculated media should be brought to the desired temperature within 10 to 15 min. Circulating water baths are recomm-ended. The desired stable temp. can be achieved prior to time of use.
- A continuous temperature recorder sensitive to 0.2^{o}C changes should be used.
- Accurate thermometer.

DRY HEAT STERILIZATION

- 170 – 180° C +/- 10°C for 2 hrs.
- Accurate calibrated recording thermometer (through a center ceiling port, the bulb located near the center of the chamber). Care from broken.

AUTOCLAVE

- Sterilization of: media, sample bottles, MF equipment, and decontaminating culture discards.
- Adequate capacity to prevent crowding (ineffective sterilization).
- The chamber should be equipped with an accurate thermometer with bulb in the exhaust line.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Time necessary when chamber temp. plateau is achieved.

- The use of the recording thermometer to know:

Rate of initial temp. acceleration, Max. temp. achieved,Constancy of sterilization temp., Rapidity of exhaust, Total exposure time (Carbohydrate media).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Vertical, Horizontal, Household pressure cookers (Emergency cases), Steam sterilizer.

- Taps with heat-sensitive color changing ink in the central area (heat penetration).

- Spores of Bacillus stearothermophilus in culture media as a control (killed at 121ºC for 15 min.).

- Steam for the autoclave may be supplied from a steam line (reach sterelization temp. quickly)

Periodic inspection and preventive maintenance.

Microscope and Light Source

•MF colonies are best counted using 10 x to 15 x magnification (binocular, wide-field dissecting microscope).

Using reading lens is not recommend-ed (low power**).**

- Colored colonies are best observed with diffused daylight developed from cool-white fluorescent lamps, with the light source adjusted to an angle of 60º to 80º above MF culture. Low angle lighting in case of non-pigmented colonies.

- A fluorescent light source, two 4 watt daylight tubes mounted on a flexible arm attached to a heavy cast base is recommended for MF colony illumination.

COLONY COUNTER

• Colonies on pour plates (Back lighting).
Some colonies are difficult to detect by top lighting, but are readily seen when illuminated by uniform intensity, transmitted light.

Large diameter magnifier (2 power) for pinpoint colonies.
Scanning the plate.

INOCULATING EQUIPMENT

INOCULATING EQUIPMENT

- Wire loop (No.), nichrome, chromel, tungesten, or platinum. Loop diameter 4 mm or greater (6 – 7 mm).
- Standard loop (0.001 ml) in case of milk.
- 1.45 mm to transfer from presumptive to confirmatory.
- The wire shank 7 – 8 cm to prevent cont. from loop holder.

Wire thickness No. 22 (fast cooling).

Fecal streptococci (Azide dextrose to EVA) large inoculum (triple loop).

Flame sterilization, or single service transfer loops.

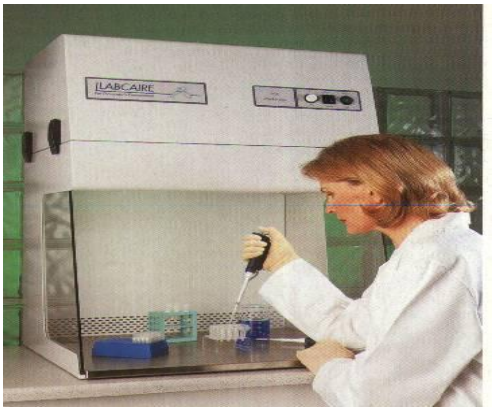
Hardwood applicator (single service) steam ster. XXX dry heat ster. OK. Flame ster. XXX.

Pasteur pipettes for culture transfer XXXX (heavy Inoculum).

Needles.

Burner

Biohazard Hood



MEMBRANE FILTRATION UNITS (MF)

- Funnel + funnel receptacle (support MF).
- Borosilicate glass, autoclavable plastic, stainless steel, or metal plate materials.
- No leakages.
- Funnel + funnel receptacle (support MF).
- Borosilicate glass, autoclavable plastic, stainless steel, or metal plate materials.
- No leakages.

FORCEPS

- Alcohol flame for sterilization
- Smooth, spade-shaped ends, slightly curved.

KEY QUALITY CONTROL PRACTICE

Item	Action	Frequency
Reagent water	Monitor quality	
Bench surface	Monitor for contamination	Weekly
Air in workplace	Monitor bacterial density	Monthly
Thermometers	Check accuracy	Semiannually
Balances and weights	Check accuracy	Monthly
Balances	Service and recalibrate	Annually
pH meter	Standardize	Each use
	Check against another meter	Monthly
Media-dispensing apparatus	Check volume accuracy	Each use
Hot-air oven	Check performance	Monthly
Autoclave	Check performance	Each use
Refrigerator	Check temperature	Daily
Freezer	Check temperature	Daily
	Defrost	Semiannually
Membrane filtration equipment	Check for leaks and surface scratches	Each use
UV lamps	Test with UV meter	Quarterly
Biohazard hood	Monitor air and UV lamps	Monthly
	Inspect for airflow	Quarterly
Incubator	Check temperature	Twice daily
Microscope	Clean optics and stage	Each use
Glassware	Inspect for cleanliness, chips, and etching	Each use
	Check pH	Each batch
	Conduct inhibitory residue test	Annually
Dilution water bottles	Check pH and volume	Each use
Media	Check pH and appearance	Each use
Autoclave	Check performance	Weekly
Plate counts	Perform duplicate analyses	Weekly
	Repeat counts	Monthly

GLASSWARE, METAL UTENSILS, & PLASTIC ITEMS

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Glassware subjected to:

  Corrosive materials,
  High temp. during sterilization,
  Vigorous cleaning schedules,
  Careless handling.

- Speed glassware to ultimate discard and replacement

  Technology Improvement

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Hard glass (borosilicate) items (disposable)

Plastic substitutes, Stainless-steel

Substitution with disposable or reusable plastic items must be fully evaluated in terms of:

labor costs,
possible reassignment of responsibilities,
suitability of reuse plastic items,
availability of stock items from supplier

• Plastic materials (low cost, light weight, break) must be:
free from toxic residual lubricants used in the moldin process,

exhibit clarity:

have accurate calibration marks for volume measurements, withstand repeated autoclaving.

MEDIA PREPARATION UTENSILS

•Borosilicate glass, noncorrosive material (stainless steel) are OK.

Aluminum, copper, zinc alloys, not recommended because it react with media and introduce metal ions that are toxic to bacteria.

Utensils should be thoroughly cleaned, clean crevices around handle rivets (harbor caked deposits from previous media).

S 7000

gtz Partner for the Future. Worldwide.

Magnetic stirrers should thoroughly cleaned.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

SAMPLE BOTTLE SPECIFICATIONS

- Wide-mouth (less contamination)
- Borosilicate , with quick fit (metal foil) , metal or screw-cap closures (nontoxic, leak proof liner).
- Toxicity due to residual phenol , detoxified by autoclaving with distilled water 6 succ-essive times.

Plastic bottles that can withstand autoclaving for 15 min. at 121°C.

Polyethylene bottles not recommended, polypropylene or polycarbonate types are recommended.

Plastic bottles should not have the screw caps tightly closed during sterilization (collapse of the side walls).

Poly ethylene bottles with polypropylene screw closure should not be used (leakage in refrigerat-or because difference in coefficient of expansion rate).

The same material is recommended.

Sterile Plastic Bags may be useful (limited sample number, unchlorinated water), Problems of leakage,

contamination, aseptically adding a dechlorinated agent, toxic plasticizers with long storage.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

PIPETS

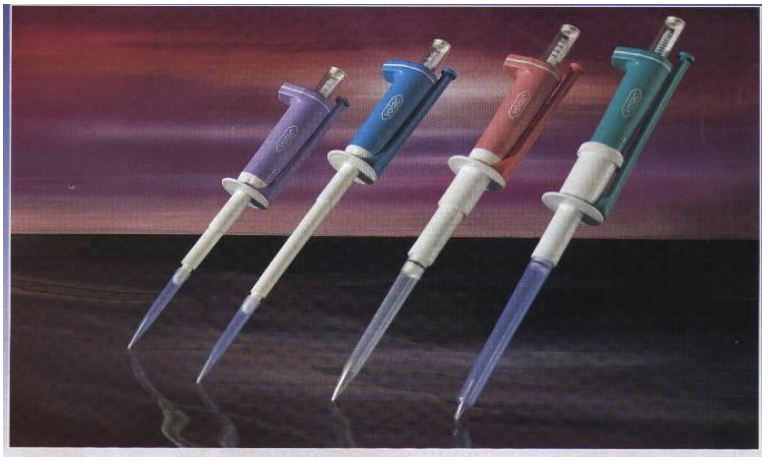
Convenient size,accurate, deliver the required volume quickly.

If graduated to the tip and tip is broken, should be discarded.

10 ml with narrow open is undesirable (slow flow), cut??
(reduce the accuracy).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Graduation should be permanent.
- No etching during cleaning (Borosilicate is OK) poor visibility.
- Plastic pipettes, disposable, sterile, no toxic material, accurate volume.
- Cotton plug , safety (not so tight or loose).
- Bulb or mechanical , automatic pipetting may be used.



PIPET CONTAINER

- Metal boxes or cans, not from copper (toxic, oxidize by high temp.), stainless steel, aluminum are OK.
- Wrapping individually in good paper (resist temp.) impractical.
- Pad of nonabsorbent cotton, glass wool, teflon, silicone rubber in the bottom of the box (protective), should replaced.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

PETRI DISHES

- Poured plates 100 mm x 15 mm. Larger sample volume, larger agar quantity to solidify, large size of dishes.
- MF 50 mm x 12 mm.
- Disposable plastic dishes (lower cost, less preakage, no washing and sterilization).
- Transparent, flat bottom, free from bubbles and scratches, tight fitting covers (MF), loose fitting (Poured plates)??

gtz Partner for the Future. Worldwide.

PETRI DISH CONTAINERS

- Stainless steel, aluminum, copper NO (oxidize).
- Wrapping paper or heavy foil is OK.
- Plastic disposable, presterilized in plastic backs, boxes

gtz Partner for the Future. Worldwide.

Culture Tubes and Closures

- Sufficient size, without over full.
- Gas detection, fermentation or gas vial (Durham)tube.
- 16 – 18 mm x 15o mm culture tubes with 10 x 75 mm fermentation tube (sample 1 ml).
- 25 mm x 150 – 200 mm culture tube size (sample 10 ml) with the same fermentation tubes.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- Stainless-steel, plastic, aluminum caps (more durable, more economical than nonabsorbent cotton) are recommended closures (cover upper inch of the tube).
- Cotton plugs should extend 20 – 30 mm into the tube and 30 mm out for proper handling.
- Culture tubes with screw-cap closures for biochemical tests and stock cultures collection.

- Borosilicate glass or other corrosion resistant glass.

- Corrosive action of improper cleaning or chemical reagents, excessively scratched from use (visibility impaired) they must be discarded.

- Soda lime glass (soft glass) is not recommend-ended for the interaction between media and glass during storage, susceptible to etching during cleaning (disposable tubes).

Dilution Bottles or Tube

Screw –cap tubes (1:10) or bottles (1:100).

Borosilicate glass, graduated or marked 9 & 99 ml.

Separated from other tubes that use for other purposes.

No leakage (aerosols).

Cotton plugs or metal or plastic capsmare unsuitable, screw-cap closures are preferred.

Check plastic caps for toxicity.

Crack around the neck (discarded).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٣. أدوات المعمل والأجهزة

- الترمومترات/ وسائل تسجيل الحراره
- الميزان
- pH meter
- نظام تنقية المياه
- المياه المقطرة
- وحدات التناضح العكسى

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- وسائل توزيع البيئات
- فرن الهواء الساخن
- الأوتوكلاف
- الثلاجات
- الفريز
- جهاز الترشيح الغشائى.Membrane filtration equip

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- لمبات UV
- كابينة الأمان Biohazard hood
- حضانة الحمام المائى
- الحضانة بالهواء أو الماء
- الميكروسكوب

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٤. تجهيزات المعمل:

- الزجاجيات

مـراجعـــــــــــــة pH

الاختبار للمواد المانعة للنمو

- الأوانى والحاويات لتحضير البيئات
- المياه Reagent grade

مياه المعمل

Reagent Grade Water

QUALITY OF PURIFIED WATER USED IN MICROBIOLOGY TESTING

Test	Monitoring Frequency	Limit
Chemical tests:		
Conductivity	Continuously or with each use	> 0.5 megohms resistance or < 2 μmhos/cm at 25°C
pH	With each use	5.5–7.5
Total organic carbon	Monthly	< 1.0 mg/L
Heavy metals, single (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, and Zn)	Annually*	< 0.05 mg/L
Heavy metals, total	Annually*	≤ 0.1 mg/L
Ammonia/organic nitrogen	Monthly	< 0.1 mg/L
Total chlorine residual	Monthly or with each use	< detection limit
Bacteriological tests:		
Heterotrophic plate count (See Section 9215)	Monthly	< 1000 cfu/mL
Water quality test (See 3c1)	Annually and for a new source	0.8–3.0 ratio
Use test (see 3d)	Annually and for a new source	Student's $t \leq 2.78$

* Or more frequently if there is a problem.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

اختبار النوعية البكتريولوجية للمياه Reagent grade

Enterobacter aerogene in Minimal growth medium

- مياه العمل - مياه كونترول Ultrapure
- +/- ٢٠ % فى الأعداد = مواد مشجعة أو مثبطه للنمو
- الاختبار يجرى سنويا أو عند تغيير مصدر المياه
- الاختبار صعب وحساس

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- **المواد والأدوات**

بوروسليكات تغسل بمياه معاد تقطيرها فى جهاز معقم (زجاجيات استعمال أول) – Enterobacter aerogenes

- **Reagents**

من نوع ACS فى ماء مقطر حديثا

gtz Partner for the Future. Worldwide.

REAGENT ADDITIONS FOR WATER QUALITY TEST

Media Reagents	Control Test mL		Optional Tests mL		
	Control A	Test Water B	Carbon/Nitrogen Available C	Nitrogen Source D	Carbon Source E
Sodium citrate solution	2.5	2.5	—	2.5	—
Ammonium sulfate solution	2.5	2.5	—	—	2.5
Salt-mixture solution	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Phosphate buffer (7.3 ± 0.1)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Unknown water	—	21.0	21.0	21.0	21.0
Redistilled water	21.0	—	5.0	2.5	2.5
Total volume	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0

gtz Partner for the Future. Worldwide.

محلول سترات الصوديوم - محلول كبريتات الألومنيوم – محلول مخلوط الأملاح – محلول الفوسفات المنظم Buffered

الطريـــقـــة:

اغل محاليل الأدلة ١ – ٢ دقيقة

خزن فى زجاجات معقمة

احفظ فى الظلام على ٥ مئوية لبضع أشهر تختبر لتعقيمها قبل كل استعمال

حضر محلول خليط الأملاح (رواسب لتحول الحديدوز الى حديديك) بدون الحديدوز وتضاف وقت الاستعمال بعد غليانها.

العكارة = تخلص من المحلول

gtz Partner for the Future. Worldwide.

• **العينات:**

١٥٠ الى ٢٠٠ ملل Reagent grade water + كونترول Redistilled water فى دورق بورسليكات معقم

اغلى ١ – ٢ دقيقة (الغليان الطويل = تغيرات كيماويه)

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الطريقه:

• ٥ دوارق بوروسليكات A-E + عينات مياه + دلائل بيئيات + ماء معاد تقطيره كما فى الجدول.

•أضف معلق كل دورق ٣٠ – ٨٠ خلية / ملل

•(أقل = نسب متناقضة - أعلى= نقص الحساسيه للمغذيات)

•اعرف العدد الأصلى باستعمال ٣ مكررات (١ملل من كل دورق) + Plate count agar حضن عند ٣٥ لمدة ٢٤ ساعة .

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- اجر العد النهائى باستعمال تخفيفات.
- تحضير معلق البكتريا فى اليوم السابق للعمل.
- سلالة البكتريا على Slant Nutrient Agar الجزء المائل ٦.٣سم فى أنابيب بقلاووظ .
- تحضين على ٣٥ مئويه لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- احصد الخلايا من أنابيب الأجار المائل: ١-٢ ملل من مياه التخفيف المعقمه- حضر معلق بالماصة ولا تجرح الأجار .
- خذ المعلق وحضر تخفيف ١ : ١٠٠ فى ماء معقم.
- اعمل تخفيف ١ : ١٠٠ من الزجاجة الأصليه ،
- تخفيف ١ : ١٠٠ من الزجاجة الثانية
- تخفيف ١ : ١٠ من الزجاجة الثالثة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- رج بشده - أضف ١ ملل من التخفيف الرابع ١ : ١٠٠٠٠٠الى كل دورق من A-E وهذه الطريقة تنتج ٣٠-٨٠ خلية/ مللمن محلول الاختبار.

- أجر تأكيد لعدد البكتريا من التخفيف الثالث .

- اختار الحجم المناسب من التخفيف الثالث الذى عندما يخفف بثلاثين ملل فى الدوارق سوف يعطى ٣٠ – ٨٠ خلية / ملل.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

مصاعب الطريقه:

- تخزين المياه فى زجاج ضعيف Soft glass
- عدم تسوية حافة الغطاء المعدنى
- استعمال كيماويات ليست Analytical-reagent grade *عدم النجاح فى استعمال عدد البكتريا المطلوب
- التأخر فى صب الأطباق
- زيادة مدة التحضين عن ٢٤ ساعة يؤدى الى اضعاف الحساسية .

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الحساب- للمواد التى توقف أو تمنع النمو :

عدد المستعمرات / ملل ، الدورق B

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل، الدورق A

نسبة ٠.٨ إلى ١.٢ تعنى مواد غير سامة؛ نسبة أقل من ٠.٨ تبين وجود مواد تمنع النمو فى مياه العينة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

بالنسبة للنيتروجين والكربون اللذان يشجعان النمو:

عدد المستعمرات / ملل، الدورق C

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل، الدورق A

النيتروجين كمصدر يشجع النمو:

عدد المستعمرات / ملل، الدورق D

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل ، الدورق A

بالنسبة للكربون كمشجع لنمو البكتريا:

عدد المستعمرات / ملل ، الدورقD

النسبة = ----------

عدد المستعمرات / ملل ، الدورق A

لا تقدر الثلاث نسب الأخيرة عندما تظهر النسبة الأولى فعل سام. لهذه النسب القيمة أعلى من ١.٢ تدل وجود مصدر لنمو البكتريا.

تفسير النتائج Interpretation of results

عدد المستعمرات من الدورق A بعد ٢٠ – ٢٤ ساعة عند ٣٥ مئوية سيعتمد على عدد الكائنات التى تم زراعتها أساسا فى الدورق A والسلالة من انتيروباكتر ايروجينز التى استعملت. لهذا السبب اجر كنترول، الدورق A الدورق لكل سلسلة منفردة من الاختبارات.

ومع ذلك، فانه بالنسبة لكل سلالة من انتيروباكتر ايروجينيز تحت الظروف البيئية ذاتها ، العدد يلزم أن يكون إلى حد ما ثابت عند تماثل الزلاع الأصلى .

الفرق فى الزرع الأصلي من ٣٠ إلى ٨٠ سيكون حوالي ٣ أضعاف اكبر بالنسبة للعد الأصلي المحقون فى الدورق A اعتبارا أن معدل النمو سيبقى ثابت. لذلك، فانه أساسي أن عدد المستعمرات الأصلي Initial فى الدوارق A و B سيكون تقريبا متساو.

عندما تزيد النسبة عن ١.٢، يفترض أن المواد المشجعة للنمو متواجده. وعلى ذلك فان هذه الطريقة حساسة جدا والنسبة ٣ لها مغزى بسيط فى المزاولة الفعلية.

ومع ذلك، فانه إذا كانت النسبة ما بين ١.٢ و ٣ لا تجر اختبارات C, D, E ما عدا تحت ظروف خاصة.

عندما تزيد النسبة عن ١.٢، يفترض أن المواد المشجعة للنمو متواجده. وعلى ذلك فان هذه الطريقة حساسة جدا والنسبة ٣ لها مغزى بسيط فى المزاولة الفعلية.
ومع ذلك، فانه إذا كانت النسبة ما بين ١.٢ و ٣ لا تجر اختبارات C, D, E ما عدا تحت ظروف خاصة.

عادة الدورق C سيكون منخفض جدا، والدورق D و E سيكون له نسبة أقل من ١.٢ عندما تكون النسبة بين الدورق B والدورق A بين ٠.٨ و ١.٢ . العوامل المجدة للنمو فى الدورق A هى النيتروجين والكربون العضوي. كمية النيتروجين على صورة أمونيا بدون كربون عضوي يمكن أن تزيد النسبة فى الدورق D أعلى من ١.٢ ، أو غياب النيتروجين مع تركيز عال من الكربون يمكن أن يعطى نسب أعلى من ١.٢ فى الدورق E مع نسبة بين A , B بين ٠.٨ و ١.٢ .

عندما تكون النسبة أقل من ٠.٨ فان ذلك يدل على أن المياه تحتوى على مواد سامة، وهذه النسبة تشمل كل القدرة على التحمل المسموحة. وكما هو موضح تحت جزئية الطريقة، النسبة يمكن أن ترتفع من ١.٢ إلى ٣ دون عاقبة غير مرغوبة.

لا توجد وسائل إصلاح محددة يمكن أن يوصى بها فى ظروف خاصة من وجود أخطاء فى جهاز التقطير. ومع ذلك، يجب إعطاء اهتمام خاص لأجهزة التقطير مع مراجعة الناتج وتداول المياه المقطرة للمساعدة فى تحديد اصلاح مسبب الصعاب.

مياه تغذية المقطر غالبا تمر خلال عمود إزالة الأيونات ومرشح كربون. إذا كانت تلك الأعمدة جيدة، معظم الملوثات العضوية وغير العضوية ستزال. إذا كانت الصيانة سيئة، المياه الناتجة ستكون سيئة وربما أسوء من مياه الصنبور الخام.

أفضل نظم التقطير مصنوعة من زجاج الكوارتز أو بوروسليكات عالي السيليكا. جهاز التقطير المطلي من الداخل بالقصدير لا يوصى به.

للوصلات استعمل ستانلس ستيل ، زجاج بوروسليكات، أو أنابيب بلاستيك خاصة مصنوعة من البولي فينيل كالوريد PVC. استعمل خزانات ستانلس ستيل واحميها من التراب.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

اختبار الحساسية Test sensitivity

إذا أخذ النحاس كمقياس لسمية المياه المقطرة، فان أقصى حساسية هى ٠.٥ مجم نحاس / اللتر من عينة المياه المقطرة.

استعمال اختبار لتقييم Reagent water ، البيئات، المرشحات الغشائية Membrane filters

عندما يرد لوط جديد من البيئات، المرشحات الغشائية، أو مصدر جديد للمياه Reagent water للاستعمال أو كاختبار سنوى للمياه،

gtz Partner for the Future. Worldwide.

استعمال اختبار لتقييم Reagent water ، البيئات، المرشحات الغشائية Membrane filters

عندما يرد لوط جديد من البيئات، المرشحات الغشائية، أو مصدر جديد للمياه Reagent water للاستعمال أو كاختبار سنوى للمياه،

تجرى اختبارات مقارنة بين اللوط الموجود تحت الاستعمال (لوط مرجعي) وبين اللوط الجديد (اللوط المختبر) كالتالي:

الطريقة

- استعمل مياه مرجعية Control (معاد تقطيرها Redistilled أو مقطرة ومنزوعة الأيونات Deionized)، زجاجيات، مرشحات غشائية، أو غيرها من المواد اللازمة للتحكم فى المتغيرات الأخرى عدا ما هو تحت الدراسة.

اجر اختبارات أطباق مصبوبة أو زراعة سطحية Pour or spread plate أو ترشيح غشائي Membrane filter على كلا من اللوط المرجعي واللوط المختبر وهو اللوط الوارد للاستخدام . وكحد أدنى،اعمل تحليل فردى على خمسة عينات مياه موجبة

يمكن اختبار مكررات Replicate من التحليل، وعينات أخرى لزيادة الحساسية لاكتشاف الاختلافات بين اللوطين (المرجعي والمختبر).

عند مقارنة مصادر للمياه، اجر الاختبارات متلازمه in paralle1 باستعمال مياه مرجعيه والمياه المختبرة منفردة لكل المياه المستعملة فى الاختبارات (التخفيف، الشطف، تحضير البيئات وغيرها).

العد والحساب- بعد التحضين،

قارن المستعمرات البكتيرية الناشئة من اللوطين بالنسبة للحجم والمظهر. إذا كانت المستعمرات بالنسبة للوط الوارد أصغر بنسبة ملحوظة عن مستعمرات اللوط الموجود أصلا، سجل وجود منع للنمو Inhibition أو مشكلة أخرى، بصرف النظر عن الاختلافات بين الأعداد.

عد الأطباق واحسب كل عدد منفرد/ ملل أو ١٠٠ ملل. حول الأعداد إلى اللوغاريتم وضع النتائج فى عامودين لكلا من اللوطين. احسب الفرق (d) بين النتيجتين المحولتين لكل عينة وضع علامة + أو - ، المتوسط (- d) والانحراف القياسي لهذه الاختلافات (sd) Standard deviation .

احسب Student’s t static باستعمال عدد العينات n :

$$t = \frac{\bar{d}}{s_d / \sqrt{n}}$$

التفسير

•استعمل قيمة t الحدية critical الحدية من جداول Student t للمقارنة بالقيمة المحسوبة. عند مستوى معنوي ٠.٥ هذه القيمة ٢.٧٨ لخمسة عينات (٤ درجات حرارية).

• إذا كانت قيمة t المحسوبة لا تزيد عن ٢.٧٨ فان معنى ذلك أن اللوط لا يعطى نتائج ذات فروق معنوية ويكون اللوط الجديد المختبر مقبول. إذا كانت قيمة t المحسوبة تزيد عن ٢.٧٨، اللوطات تعطى نتائج ذات اختلافات معنوية.

- أما إذا كانت قيمة t المحسوبة للوط المختبر تزيد عن نتائج اللوط الأصلي (تحت الاستعمال أو المرجعي) فان اللوط الجديد (test lot) يكون اقل تشجيعا (تحفيزا) للنمو.

- إذا كانت المستعمرات غير نموذجيه Atypicalأو أقل حجما بصورة ملحوظة على اللوط المختبر، Student's t تزيد عن ٢.٧٨ تراجع ظروف الاختبار، يكرر الاختبار، ويمكن رفض اللوط المختبر ويحصل على لوط آخر.

الدلائل Reagents :

يجب أن تؤمن النوعية.

استعمل الكيماويات من النوعية ACS أو ما يساويها فى الدرجة لأن الشوائب يمكن أن تقتل البكتريا أو توفر مغذيات، أو قد تؤدى إلى عدم إعطاء التفاعل المطلوب.

يكتب التاريخ على الكيماويات أو الدلائل عند ورودها وكذلك عندما تفتح لاول مرة.

حضر الدلائل إلى الحجم فى دوارق معياريه Volumetric flasks وانقلها للتخزين فى زجاجات بلاستيك خامل Inert plastic من نوع جيد أو زجاج بوروسليكات بغطاء ى ايثيلين أو أي غطاء بلاستيكي محكم.

أكتب على الدلائل المحضرة اسمها، التركيز، تاريخ التحضير، اسم من قام بالتحضير.

الصبغات Dyes and stains:

•فى التحليلات الميكروبيولوجية تستعمل الكيماويات العضوية كعامل انتقائي Selective agent (مثل البريلينت جرين)Brillient green، كدليل أو كشاف Indicators (مثل فينول ريد لاكتوز Phenol red lactose) وكصبغة ميكروبيولوجية (مثل صبغة جرام Gram stain).

•الصبغات التى ترد من الموردين التجاريون تختلف من لوط الى آخر فى نسبة الصبغة، تعقيده، المواد الغير قابلة للذوبان، المواد الخاملة. ولأن الصبغة التى تستخدم فى الأغراض الميكروبيولوجية يجب أن تكون ذات تركيز معين كما يجب أن تكون ثابتة لتنتج تفاعلات صحيحة، استعمل فقط الصبغات المضمونة من Biological Stain Commission . اختبر الصبغات البكتريولوجية قبل الاستخدام على الأقل مع مزرعة موجبة وأخرى سالبة معروفة وسجل النتائج.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

المرشحات الغشائية والوسائد Membrane filters and pads :

تختلف نوعية وكفاءة المرشحات الغشائية حسب المصنع، النوع، الماركة، اللوط. تلك الاختلافات تنتج عن الاختلاف فى طريقة التصنيع، المواد المستخدمة فى التصنيع، نوعية التحكم، ظروف التخزين.

- المرشحات الغشائية والوسائد المستخدمة فى تحليل المياه يجب أن تتوافر فيها الاشتراطات التالية:

gtz Partner for the Future. Worldwide.

أ) قطر المرشح (الفاتر) ٤٧ مم، قطر الثقوب ٠.٤٥ مبكرون. المرشح البديل وأحجام الثقوب ربما تستعمل إذا قدم المصنع البيانات التى تدل على أن الكفاءة تساوى أو أفضل من تلك ذات القطر ٤٧ مم والثقوب ٠.٤٥ مبكرون. على الأقل ٧٠ % من مساحة المرشح يجب أن تكون ثقوب.

ب) عندما تطفو المرشحات على Reagent water، تنتشر المياه بانتظام خلال المرشحات خلال ١٥ ثانية بدون مناطق جافة على المرشحات.

ج) معدلات الانسياب Flow rates خلال المرشحات على الأقل ٥٥ ملل/الدقيقة/سم٢ عند ٢٥ درجة مئوية والضغط التفاضلي Differential pressure ٩٣ KPa .

د) المرشحات لا يكون لها تأثير سام، خالية من المواد التى تمنع أو تشجع النمو، خالية أيضا من المواد التى تتداخل بطريقة مباشرة أو غير مباشرة مع نظم الدلائل البكتيرية الموجودة فى البيئات؛ الحبر المستخدم فى تقسيم الفلتر يكون غير سام.

المتوسط الحسابي لنسبة الأعداد البكتيرية التى تظهر على المرشحات يجب أن تكون ٩٠ % على الأقل من المتوسط الحسابي للعدد على خمسة أطباق معدة بطريقة الفرد السطحي Spread plates وباستعمال نفس الحجم من العينة وبيئة الآجار.

ه) المرشحات تحجز الكائنات من ١٠٠ ملل من معلق بكتيريا Serratia marcesens يحتوى على ٣١٠ خلية.

و) المستخلص المائي للمرشح لا يزيد عن ٢.٥ % بعد غليان المرشح فى ١٠٠ ملل ماء لمدة ٢٠ دقيقة، يجفف، يبرد، ويصل إلى وزن ثابت.

ز) الوسادة الماصة Absorbent pad قطرها ٤٧ مم، السمك ٠.٨ مم، قدرة الامتصاص ٢ +/- ٠.٢ ملل من مرق الأندو Endo broth.

س) الوسائد Pads تخرج أقل من ١ مجم من الحموضة الكلية مقدرة على صورة كربونات كالسيوم Ca Co3 عندما تعادل باستخدام ٠.٠٢ نورمال من الصودا الكاوية NaOH مع الفينول فيثالين Phenolphthalein.

ش) إذا كان المرشح والوسادة الماصة غير معقمة يجب أن لا تتحلل بالتعقيم عند ١٢١ درجة مئوية لمدة ١٠ دقائق. أكد التعقيم بغياب النمو عند وضع المرشح والوسادة مشبعة بمرق مستخلص التربتون جلوكوز Try tone glucose extract broth or agar والتحضين على ٣٥ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة.

الاختبارات القياسية Standard tests:

للمحافظة على التحكم فى النوعية راقب كل لوط من الأغشية قبل الاستعمال وخلال الاختبارات لتأكيد أنها مستديرة ، مرنة Pliable، دون تشوه فى خطوط التقسيم بعد التعقيم فى الأوتوكلاف. بعد التحضين، المستعمرات يجب أن تظهر واضحة بلون وشكل محدد كما هو مذكور فى الطريقة. حبر التقسيم لا يجب أن يمنع نمو المستعمرات.

يجب أن تكون المستعمرات موزعة عبر سطح المرشح الغشائي.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

بيئات المزارع

البيئات الجاهزة (Standard plate count (APHA

أطلب كميات محددة لا تبقى أكثر من عام.

عبوات صغيره المحتوية على سكريات

لا تعرض للحرارة أكثر من ٤٥ دقيقة

اخرج البيئة عقب التعقيم من الأوتوكلاف

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- سجل نوع، كمية، مظهر البيئة الواردة، رقم اللوط ، تاريخ التوريد، تاريخ الفتح.

- *راجع قائمة الجرد كل ٣ شهور واستبعد البيئات التى مضى تاريخ صلاحيتها، تحجرت، تغير لونها، أو ظهر عليها أى علامات التدهور فى الصفات.

- لأن الحرارة، الضوء، والرطوبة تختلف بين المعامل، فانه ليس ممكنا وضع حدود لعمر البيئة الغير مفتوحة. ولكن بصفة عامة فان حدود الوقاية للعبوات من البيئة الغير مفتوحة هو عامان على درجة حرارة الغرفة. وإذا كانت العبوة عمرها أكثر من عام، قارن قدرتها على الاسترجاع Recovery لمزرعة نقية حديثة وعينة طبيعية باستعمال البيئة القديمة وبيئة جديدة (لوط جديد).

١) تحضير البيئة- حضر البيئة فى أوعية على الأقل ضعف الحجم المطلوب تحضيره. أثناء التسخين تقلب البيئة، خاصة المحتوية على آجار.

استعمل عبوات البيئات المفتوحة خلال ٦ شهور بعد الفتح وطالما فتحت العبوة احفظها فى مجفف مباشرة بعد الفتح.

تجنب الغليان الزائد أو التشييط Scorching باستعمال حمام مائي أثناء تحضير الكميات الصغيرة من البيئة وسخان أو لهب بالنسبة للحجوم الكبيرة مع التقليب ياستمرار باستخدام Hot plate-magnetic stirrer

حضر البيئة من جديد وباستعمال مياه من مصدر جديد. إذا كانت المياه مناسبة و pH البيئة لا زال غير صحيح ، حضر البيئة من عبوة أخرى من البيئة.

سجل مشاكل pH فى دفتر البيئات وارسل تقرير للمنتج إذا كانت البيئة هى مصدر المشكلة. اختبر البيئة الحضرة للون الغير معتاد، قتامة اللون أو الرواسب وسجل ملاحظاتك.

خذ فى اعتبارك

الاختلاف فى التعقيم ودرجة الحرارة كمسببات ممكنة للمشاكل. إذا حدث أى مما سبق تخلص من البيئة

حضر كل البيئات فى مياه مزالة الأيونات أو ماء مقطر من نوعية جيده. عاير حجم المياه والبيئات بمخبار مدرج متوافق مع NIST ومواصفات APHA. بالنسبة للعينات شديدة التلوث، لا تستعمل ماصات تنطلق منها السوائل بعنف Plow out pipettes. بعد التحضير والتخزين، تصهر بيئات الآجار فى ماء مغلي أو تيار بخار.

التعقيم

١٢١ – ١٢٤ مئوية

الأوتوكلاف ثنائى الجدار

كفاءة التعقيم Bacillus sterothermophilus spores

الترشيح للتعقيم

الأوتوكلاف الأوتوماتيكى

. TIME AND TEMPERATURE FOR AUTOCLAVE STERILIZATION

Material	Time at 121°C
Membrane filters and pads	10 min
Carbohydrate-containing media (lauryl tryptose, BGB broth, etc.)	12–15 min
Contaminated materials and discarded cultures	30 min
Membrane filter assemblies (wrapped), sample collection bottles (empty)	15 min
Dilution water, 99 mL in screw-cap bottles	15 min
Rinse water volumes of 0.5 to 1 L	30 min
Rinse water in excess of 1 L	Adjust for volume; check for sterility

gtz Partner for the Future. Worldwide

استعمال الآجار والمرق Use of agar and broths

لطف Temper الآجار المنصهر Melted agar فى حمام مائي عند ٤٤ – ٤٦ درجة مئوية حتى وقت الاستعمال ولكن لا تتركها فى الحمام أكثر من ٣ ساعات .

لمراقبة حرارة الآجار، عرض زجاجة من الماء لنفس ظروف التسخين والتبريد مثل الآجار. اغمس ترمومتر فى زجاجة المراقبة لتقدير متى تصل الحرارة إلى ٤٤ – ٤٦ درجة مئوية.

بعد صب الآجار فى الأطباق للزرع على سطحه جفف سطح الآجار تترك الأطباق مفتوحة قليلا فى خزانة بكتريولوجية Bacteriological hood لمدة ١٥ دقيقة على الأقل لمنع التلوث.

عند استعمال أنابيب التخمر Fermentation tubes ضع أنابيب درهام بحيث تكون خالية من الهواء حتى تمنع النتيجة الإيجابية الغير صحيحة False positive

. HOLDING TIMES FOR PREPARED MEDIA

Medium	Holding Time
Membrane filter (MF) broth in screw-cap flasks at 4°C	96 h
MF agar in plates with tight-fitting covers at 4°C	2 weeks
Agar or broth in loose-cap tubes at 4°C	1 week
Agar or broth in tightly closed screw-cap tubes at 4°C	3 months
Poured agar plates with loose-fitting covers in sealed plastic bags at 4°C	2 weeks
Large volume of agar in tightly closed screw-cap flask or bottle at 4°C	3 months

gtz Partner for the Future. Worldwide

Storage of media تخزين البيئات

حضر البيئة المعقمة بكميات تستعمل خلال فترة محددة كما فى الجدول.
ويفضل تحضير البيئات فى نفس يوم استعمالها.
فى حالة إسالة بيئات الآجار وتبقى جزء فى الدورق بعد الاستعمال لا تتركه ليتصلب ويعاد استعماله مرة أخرى، تخلص من المتبقي فورا.

الأطباق من البيئات التى لم تستعمل فى يوم تجهيزها وذات الغطاء الغير محكم تحفظ فى الثلاجة باستعمال أكياسبلاستيكي محكمة الغلق هذا إذا لم تكن ستستعمل خلال يومين.

إذا بردت أنابيب بيئة التخمر حتى وقت الاستعمال، حضن الأنابيب قبل الاستعمال حتى لا يكون هناك نتائج إيجابية غير صحيحة.

حضر البيئات التى تخزن لمدة أطول من أسبوعين فى أنابيب محكمة ذات غطاء قلاووظ لمنع فقد الرطوبة وإذا لم تتوافر تلك النوعية من الأنابيب تستعمل أنابيب عادية وتوضع فى أكياس بلاستيكية محكمة الغلق. للكشف عن الفقد فى الرطوبة من أنابيب المرق Broth tubeالمرق ضع علامة على مستوى البيئة ولاحظ الفقد فى الرطوبة.

إذا قدر الفقد وكان أكثر من ١٠% استبعد الأنابيب. احمي البيئات التى تحتوى على الصبغات من الضوء، إذا تغير اللون استبعد البيئة ولا تستعمل.

المرق والآجار المحضر والمعقم المتوافر تجاريا Ready to use ربما يوفر مزايا عند الرغبة فى إجراء التحليل متقطعا وعند عدم توافر الفنى للتحضير، أو عندما يمكن أن تتوازن التكاليف مع العوامل الأخرى للعمليات المعملية. أضبط كفاءة البيئات كما سيرد فى البند التالي . الفترة التى يمكن الاحتفاظ خلالها بالبيئة محددة فى الجدول السابق.

التحكم فى نوعية البيئات المحضرة Quality control of prepared media المحضرة احتفظ فى المعمل بسجل للمعلومات كاملة عن كل تشغيله من البيئات المحضرة مع اسم من قام بالتحضير والتاريخ، رقم لوط البيئة، كمية البيئة التى تم وزنها، حجم البيئة المحضرة ، مدة التعقيم والحرارة، pH المقاس والضبط له. قارن ما بين البيئات الموردة حديثا والتى كانت فى حوزة المعمل من حيث الكفاءة على الاسترجاع Recovery. اختبر البيئات باستخدام مزارع البيئة إيجابية لها وأخرى سلبية كذلك تأثير التعقيم على صفاتها.

طرق التشغيل القياسية

- **Standard operating procedures (SOPs)**

الطرق القياسية للتشغيل هى العمود الفقري لتشغيل معمل التحاليل مثل تحضير المحاليل والأدلة، Reagent water بيئات المزارع، الاستعمال المناسب للميزان، عمليات التعقيم، عمليات غسيل الأدوات والأطباق، وأيضا طريقة أخذ وجمع العينات، التحليل، والتحكم فى الجودة. والطرق تصف الأعمال tasks التى يقوم بها أعضاء المعمل يوم بيوم، التوجيه نحو استخدام الأجهزة ونوعيات العينات.

طرق التشغيل القياسية تعتبر مرشدا للعمليات الروتينية، ويقدم وسائل قوية للتدريب.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

أخذ العينات Sampling

التخطيط Planning:

يجب أن يشارك الميكروبيولوجى Microbiologist فى تخطيط برامج المراقبة Monitoring programs والتى ستشتمل على التحاليل الميكروبية. ويستطيعوا أن يقدموا ذا الخبرة فى اختيار مواقع العينات، عدد العينات والتحاليل اللازمة، أحمال العمل، والأجهزة والإمدادات اللازمة. معرفة كثافة الميكروبات المحتملة، والتأثير الموسمي، الجو، المد والجزر Tideالجزر وشكل الرياح، مصادر التلوث المعروفة، والمتغيرات الأخرى، وهى لازمة لوضع خطة اخذ العينات.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الطرق:

خطة العينات يجب أن تكون خاصة بكل موقع. الاسترشاد قبل أخذ العينات يمكن أن يكون عاما فى طبيعته، والتعريف بالعوامل التى يجب أخذها فى الاعتبار لكل موقع. الطرق القياسية لأخذ العينات تصف أجهزة أخذ العينات، التقنية Techniques، التكرار،زمن الانتظار وظروفه Holding time ، قواعد الأمان، وغيرها، تلك سوف تستعمل تحت ظروف مختلفة لمواقع مختلفة. على ضوء المعلومات من طرق التشغيل القياسية سوف ترسم خطة العينات.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

جمع العينات Samples collection

- العبوات Containers

اجمع العينات للاختبارات الميكروبيولوجية فى عبوات تم تنظيفها وشطفها بعناية مع الشطف النهائي بماء مقطر، وتم تعقيمها كما ذكر مسبقا تحت بند التعقيم. لبعض الاستخدامات يتم جمع العينات فى أكياس بلاستيكية سابقة التعقيم.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- إزالة الكلور Dechlorination

أضف عامل اختزال إلى العبوات المعدة لجمع العينات المحتوية على كلور متبقي Residual chlorineأو أى هالوجين آخر إلا إذا احتوت على مرق Broth للزرع المباشر. ويعد ثيوسلفات الصوديوم Sodium thiosulphate (Na2S2O3) عامل جيد لإزالة الكلور ويقوم بمعادلة الهالوجين المتبقي ويمنع استمرار القضاء على البكتريا خلال نقل العينة. وبالتالي فان الاختبار سوف يظهر المحتوى الميكروبي للمياه وقت أخذ العينة بدقة أكثر.

لأخذ عينات مخلفات سائلة معالجة بالكلور يضاف صوديوم ثيوسلفات كاف إلى زجاجة نظيفة ليعطى تركيز ١٠٠ مجم/اللتر من العينة. فى عبوة ١٢٠ ملل ٠.١ ملل من محلول ١٠% من الصوديوم ثيوسلفات سوف يعادل عينة محتوية على حوالي ١٥ مجم /اللتر كلور متبقي. بالنسبة لعينات مياه الشرب، تركيز عامل نزع الكلور ربما ينخفض: ٠.١ ملل من محلول ٣ % من الصوديوم ثيوسلفات فى عبوة ١٢٠ ملل سوف يعطى تركيز نهائي ١٨ مجم/اللتر فى العينة وسوف يعادل كلور متبقي حتى ٥ مجم/اللتر. فى حالة الطوارئ واستعمال تركيز عال من الكلور أضف عامل إزالة الكلور بكمية كافية وليعطى تركيز ١٠٠ مجم/اللتر من العينة.

غط العبوة وعقمها باستخدام حرارة جافة أو رطبة وكما هو موضح سابقا. متوافر على المستوى التجاري أكياس البلاستيك سابقة التعقيم والتى تحتوى على صوديوم ثيوسلفات.

اجمع عينات المياه العالية فى محتواها من النحاس أو الزنك وعينات المخلفات السائلة العالية فى محتواها من المعادن الثقيلة فى عبوات تحتوى على Chelating agent والذي يقلل من سمية المعدن. هذا يكون له مغزى بصفة خاصة إذا كان الوقت اللازم لنقل العينات ٤ ساعات فأكثر. استعمل ١٧٢ مجم/اللتر من Disodium salt of ethylene diaminetetraacetic acid (EDTA)

أضبط pH محلول EDTA عند ٦.٥ قبل الاستعمال. أضف EDTA منفردة إلى عبوة العينة قبل تعقيمها (٠.٣ ملل من محلول ١٥% إلى عبوة العينة سعة ١٢٠ ملل أو اخلطه مع محلول الصوديوم ثيوسلفات قبل الإضافة.

- طريقة أخذ العينة Sampling procedure

عند جمع العينة، اترك جزء فراغ فى العبوة للهواء (على الأقل ٢.٥ سم) لتسهيل الخلط بالرج، قبل الاختبار. اجمع العينات الممثلة للمياه التى ستختبر، عقم فوهة العبوة واستعمل طريقة معقمة لمنع تلوث العينة. حافظ على عبوة العينة مغلقة حتى وقت ملاها. زل الغطاء مع ورقة القصدير كوحدة واحة معا واحرص على عدم تلوث السطح الداخلي للغطاء أو غطائه من ورق الألومنيوم وكذلك رقبة العبوة. املأ العبوة دون شطف، واعد الغطاء مباشرة بعد الاستعمال، ضع غطاء أمان (تشمع) حول رقبة العبوة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

أ. مياه الشرب Potable water :

إذا كانت عينة المياه ستؤخذ من صنبور نظام التوزيع (الشبكات) دون مرفقات Attachments، اختار صنبور على ماسورة الخدمة متصلة بالأصل مباشرة أى لا يكون مصدر مياه الصنبور خزان أو حوض. افتح الصنبور على أقصى درجة ودع الماء يجرى إلى البالوعة من ٢ إلى ٣ دقائق، أو لفترة تسمح بنظافة خط الخدمة من المواسير. اخفض انسياب المياه من الصنبور لتسمح بملأ العبوة دون تناثر المياه. إذا كانت نظافة الصنبور مشكوك فيها استخدم محلول هيبوكلوريت الصوديوم (١٠٠ مجم NaOCl / اللتر) فى تطهير الصنبور:

gtz Partner for the Future. Worldwide.

اترك المياه تنساب لمدة ٢ إلى ٣ دقائق بعد معالجة الصنبور. لا تأخذ العينة من صنبور فيه تسرب فان هذا يسمح للمياه بالمرور على جسم الصنبور فتتلوث.
ولأخذ عينة من خلاط ، زل الملحقات مثل المصفاة مانع الرذاذ، افتح المياه الساخنة دقيقتين، ثم المياه الباردة ٢ – ٣ دقيقة، واجمع العينة كما ذكر أعلاه.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

إذا كانت العينة ستؤخذ من بئر مثبت عليه طلمبة يدوية، دع المياه تنساب إلى البالوعة لمدة حوالي ٥ دقائق قبل جمع العينة. إذا كان البئر مزود بطلمبة ميكانيكية، اجمع العينة من صنبور على المياه الخارجة. إذا لم يكن هناك طلمبة، اجمع العينة من البئر مباشرة باستعمال عبوة معقمة بها ثقل فى القاع؛ وخذ الحذر لمنع تلوث العينة من أى ريم قد يكون موجود على السطح.

عند تقييم مياه الشرب، اجمع عينات من المياه النهائية ومن مواقع توزيع مختارة لتأكيد تغطية منتظمة كل شهر.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

باحتراس اختار مواقع عينات شبكة التوزيع لتشمل النهايات Dead-endلتمثل النوعية الميكروبيولوجية خلال الشبكة لتأكيد أن التلوث الموضعي من خلال تقاطع خطوط الصرف الصحي مع خطوط مياه الشرب Cross-connections، الكسور فى خطوط التوزيع، أو خلال انخفاض الضغط الموجب لا يتواجد. مواقع جمع العينة قد يكون مواقع عامة، مراكز الشرطة ومكافحة الحريق، مبنى مكاتب حكومية، مدارس، محطات الأوتوبيس أو القطار، مطار، غابات ترتاد من الجمهور)، المنشآت التجارية (المطاعم، محطات البنزين، مباني المكاتب، مصانع)، إقامة خاصة (مباني الشقق، إقامة فردية، مجمعات المنازل)، ومحطات خاصة للعينات مبنية على شبكة التوزيع. ضع برنامج للعينات بالاتفاق مع مسئول الصحة .

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ب. مصدر المياه الخام Raw water supply

لجمع عينات من نهر، مجرى، بحيرة، خزان، ينبوع، أو بئر غير عميق مباشرة، احصل على عينات ممثلة من المياه التى تمثل مصدرا لإمداد المستهلكين. ليس من المستحب أخذ عينات قريبا جدا من الشاطئ أو بعيدة جدا عن نقط السحب، أو على عمق أعلى أو اسفل نقطة السحب.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ج. المياه السطحية : Surface water

من دراسة المنطقة اختر مواقع عينات البكتريولوجى لتشمل موقع أعلى التيار ، مصبات مخلفات الصناعة والصرف الصحي فى منطقة دراسة المجرى الأساسي، الفروع عدا ذات التدفق Flow أقل من ١٠% من المجرى الأصلي، نقط المآخذ لمحطات المياه والمصانع، عينات اسفل التيار تعتمد على وقت تدفق المجرى Stream flow time، ومناطق الاستجمام Recreational areas اسفل التيار. انتشار المخلفات السائلة فى المجارى المستقبلة ربما يجعل ضروريا عمل دراسة لمقطع Cross-section لتقدير استكمال الخلط.

شمول مجرى فرعى يلزم اختيار نقطة جمع العينات قرب الالتقاء مع المجرى الأساسي. ربما تجمع العينات من قارب أو كوبري قرب نقط الدراسة الخطير. اختار تكرار العينات ليعكس حالة المجرى أو جسم المياه. مثلا، لتقيم مخارج المخلفات، اجمع عينة كل ٤ إلى ٦ ساعات ويمتد الوقت من ٧ إلى ١٠ أيام.

لمراقبة نوعية مياه جدول وبحيرة حدد أماكن العينات عند المواقع الخطيرة. تكرار العينات ربما يكون موسميا بالنسبة لمياه الاستجمام Recreational، يوميا بالنسبة لمآخذ مصادر المياه، كل ساعة عندما يكون هناك اضطراب فى التحكم فى معالجة المخلفات والناتج يصرف فى مناطق جمع المحار Shellfish .

د. شواطئ الاستحمام Bathing beaches

مواقع العينات فى مناطق الاستجمام يلزم أن تعكس نوعية المياه خلال منطقة الاستجمام. اشمل مواقع من المساحات المحيطة أعلى المجرى والمواقع الملاصقة لمصارف أو المحيط الطبيعي االذى تصرف فيه تجمعات مياه العواصف أو مخلفات خزانات الصرف الصحى. اجمع عينات من منطقة السباحة على عمق حوالي ١ متر. خذ فى الاعتبار عينات الرواسب Sediment من مكان التقاء المياه مع الشاطئ لأن الأطفال الصغار يتعرضون لها.

للحصول على معلومات على نوعية مياه البحار للسباحة يجب أن تشتمل العينات المستوى العالي والمنخفض والمد والجزر.

اربط تكرارية العينات بفترة الذروة للاستحمام، والتى عموما تحدث بعد الظهر. من المفضل جمع عينات يومية خلال موسم السباحة؛ بحد أدنى أيام الجمعة، السبت، الأحد والعطلات . وعند اقتصار العينات على أيام الذروة ، يفضل جمع العينات فى الصباح وبعد الظهر. اربط نتائج البكتريولوجى بمستويات العكارة أو سقوط الأمطار على المياه لعمل تقييم سريع للتغير فى نوعية المياه.

ه. الرواسب والحمأة Sediment and sludges

الحالة البكتريولوجية لرواسب القاع هامة فى خزانات مصادر المياه، فى البحيرات، الأنهار، والمياه الساحلية المستعملة لأغراض الاستجمام، ومياه تنمية المحاريات Shellfish . الرواسب ربما توفر بيان كامل للنوعية العامة للمياه أعلاها والتى تغطيها، خاصة عندما توجد اختلافات كبيرة فى نوعية المياه.

تكرارية العينات فى الخزانات (احتياطي المياه Reservoirs) والبحيرات ربما ترجع أكثر إلى التغيرات الموسمية فى حرارة الماء وجريان مياه العواصف.
التغيرات فى رواسب القاع فى مياه النهر ربما تكون متأثرة بجريان مياه العواصف، زيادة سرعة التيار، والتغيرات المفاجئة فى نوعية المياه الواردة إلى النهر.

الاختبارات البكتريولوجيه للمواد الصلبة الحيوية Biosolids من المياه وعمليات معالجة المخلفات السائلة مرغوبة لتقدير تأثير صرفها فى المياه التى تستقبلها، الصرف فى المحيطات أو عمليات دفنها فى المحيطات، الاستعمال فى التربة أو الدفن فى التربة. مراقبة الحمأة ربما تظهر أيضا فعالية عمليات معالجة المخلفات السائلة.

اجمع وعامل المواد الصلبة الحيوية وذات المحتوى أقل من ٧% مواد صلبة كليه تتبع طريقة عينات أخرى خلاف مياه الشرب. أما إذا كان محتواها أكثر من ٧% وقوامها بلاستيكي أو شبه صلب مثل الحمأة التى أجرى عليها معالجة لتكون سميكة فإنها تحتاج إلى جهد متناه لكي تنساب. مقاومة الانسياب هذه تنتج توزيع غير متجانس من المواد الصلبة الحيوية فى الخزانات والبحيرات الضحلة Lagoons. استعمل مقطع مستعرض Cross - section لأخذ عينة من المواد الصلبة الحيوية لتقدير توزيع الكائنات الدقيقة خلال هذه التجمعات.

استعمل جهاز جمع العينات به زجاجة مركب فيها ثقل تفتح على العمق المطلوب عند مواقع محددة.

المخلفات الصلبة الحيوية والمعالجة لا تحتوى على سوائل حرة فانه من الأفضل أن تجمع العينات أثناء النقل. فتجمع العينات باستخدام Grab sample عبر عرض الناقل ويتم تكوين عينة مركبة Composite sample.

و. جمع العينات يدويا Manual sampling :

خذ عينات من النهر، النهير Stream ، البحيرة، أو الخزان Reservoir بمسك وعاء العينة من قرب قاعه باليد وغامرا له، مع جعل الرقبة مائلة، اسفل السطح. لف الوعاء حتى تصبح الرقبة إلى أعلى مع توجيه الفوهة نحو التيار. وإذا لم يكن هناك تيار، كما فى حالة المياه المخزنة، اعمل تيار صناعي بدفع الوعاء إلى الأمام أفقيا فى اتجاه بعيدا عن اليد.

إذا كان جمع العينات يتم من قارب، خذ العينات من جانب القارب فى اتجاه ضد التيار Upstream . إذا لم يكن ذلك ممكنا خذ العينات بالكيفية التالية من هذه المواقع. ثبت ثقل فى قاعدة وعاء جمع العينات واخفضه فى الماء. فى جميع الأحوال، خذ الحذر لمنع التلامس مع الشاطئ أو القاع، وإلا ربما يحدث تلوث للمياه.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ز. أدوات جمع العينات : Sampling apparatus

تلزم أدوات خاصة والتى تسمح بإزالة غطاء وعاء جمع العينات تحت سطح الماء لجمع عينات من أعماق البحيرة أو المياه المخزنة. متوافر أنواع مختلفة من الوسائل لجمع العينات على أعماق. الأكثر شيوعا من الأجهزة هو ZoBell J-Z (1941) وفيه يستخدم وعاء ٣٥٠ ملل معقم وغطاء من المطاط من خلاله تمر قطعة من الزجاج. هذه الأنبوبة متصلة بقطعة أخرى من الزجاج بواسطة خرطوم مطاط.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

الوحدة مثبته على إطار معدني يحتوى على سلك ومرسل أو ناقل Messenger . عندما يطلق المرسل، فانه ينفذ إلى القطعة الزجاجية عند النقطة المضعفة بخدش. أنبوبة الزجاجية تكسر بالمرسل والتوتر سهل المنال بواسطة المطاط الذي يصل الخرطوم ينطلق والسدادة تدور إلى الجانب. تشفط المياه فى العبوة كنتيجة للتفريغ الجزئي الناشئ عند غلق الوحدة فى وقت التعقيم. ومتاح تكيف Adaptation تجاري لهذا الجهاز وغيره.

رواسب القاع تحتاج إلى جهاز للحصول على عينات منها والجهاز الذى وصفه VanDonsel &Geldreich (1971) وجد أنه فعال لأخذ عينات من مواد متعددة من القاع لمياه عميقة أو سطحية. جهاز العينات هذا يفضل أن يكون من الاستنلس ستبل وملائم لأكياس البلاستيك المعقمة. بعد نفاذ الجهاز للرواسب يقفل الكيس بحبل نايلون. قضيب منزلق يحفظ الكيس مغلق خلال النزول ويفتح خلال جمع العينة.

لجمع عينات المخلفات السائلة، النظام السابق يعتبر بصفة عامة مناسب.

٤. حجم العينة

حجم العينة يلزم أن يكون كافيا لإجراء جميع الاختبارات اللازمة ويفضل أن لا تقل عن ١٠٠ ملل.

طرق التحليل Analytical methods

أ. اختيار الطريقة Method selection:

الاختلافات الضئيلة بين الطرق يمكن أن تتسبب فى اختلافات كبيرة فى النتائج، ولذلك فان الطرق الميكروبيولوجية يجب أن تكون قياسية وبالتالي تكون النتائج متماثلة بين المعامل. اختار الطريق المناسبة للتحليل من ضمن الطرق القياسية لاختبار المياه والمخلفات السائلة Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, American Public Health Association (APHA) 2000

أو أي مصدر آخر وتأكد من أن الطريقة أقر صلاحيتها وطبقت فى دراسة تكون أجريت فى معامل متفرقة Multilaboratory study باستخدام عينات مختلفة.

ب .الهدف من النتائج : Data objectives

راجع الطرق المتاحة وقدر الطريقة التى تنتج النتائج التى تنطبق مع متطلبات البرنامج من حيث الدقة ، الحيادية، التخصص، الانتقاء، وحدود فعالية الطريقة Detection limits. تأكد أن الطرق تم تطبيقها وحققت الأهداف السابقة باستعمال عينات مماثلة للعينات التى تقوم بتحليلها

ج. التحكم فى الجودة داخليا Internal quality control

الطرق التحليلية المكتوبة يجب أن تشمل الكشف عن التحكم فى الجودة باستعمال مزارع إيجابية وأخرى سلبية، عينة معقمة sterile blankمعقمة مكررات للتحليلات Replicate analyses ومدى الدقة، ومزرعة معروفة، إذا كان ذلك متاحا.

د. طرق قياسية للعمل Standard operating procedure

يجب أن يتاح لكل قائم بالتحليلات نسخة من طرق التحليل مكتوبة فى خطوات متتالية طبقا لما سيتم على العينة، الأجهزة والأدوات اللازمة المستعملة فى المعمل.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

. **التحكم فى نوعية طرق التحليل**

Analytical Quality Control Procedures

أ. الطرق العامة للتحكم فى النوعية

١) لاختبارات المرشحات الغشائية، تحقق من تعقيم البيئات، المرشحات الغشائية، ماء التخفيف والشطف، الزجاجيات، الأجهزة، على الأقل عند نهاية كل سلسلة من العينات، باستعمال ماء معقم كالعينة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٢) فى طريقة الأنابيب المتعددة Multiple tube procedureالمتعددة تحقق من تعقيم البيئات، ماء التخفيف، والزجاجيات. لاختبار تعقيم البيئات، عرض أجزاء مختلفة من كل تشغيله Batch للتحضين عند حرارة مناسبة لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة ولاحظ النمو. تحقق من تعقيم ماء التخفيف عن طريق إضافة ٢٠ ملل ماء إلى ١٠٠ ملل من مرق غير انتقائي Non-selective broth.

كبديل، مرر ١٠٠ ملل أو أكثر من ماء التخفيف تحت ظروف خلال مرشح غشائي. ضع المرشح على بيئة نمو مناسبة للبكتريا الهتيروترفية. حضن عند ٣٥ +/- ٠.٥ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة ولاحظ النمو. إذا ظهر أى تلوث، اهمل نتائج التحليل للعينات المختبرة بهذه المواد واطلب إعادة العينات فورا.

٣) لكل لوط من البيئة تحقق من طرق التحليل بالاختبار بمزارع كونترول موجبة وسالبة من الكائن أو الكائنات تحت الاختبار. انظر الجدول لأمثلة من مزارع الاختبار.

٤) اجر تحليل مزدوج على ١٠ % من العينات وعلى الأقل عينة/ اختبار يجرى. إذا كان المعمل يجرى أقل من ١٠ اختبارات/ الأسبوع، اجر التحليل المزدوج على عينة واحدة على الأقل أسبوعيا.

٥) فى المعامل التى بها أكثر من شخص يقوم بالتحليل اجعل كل فرد يجرى فى نفس الوقت تحليل لعينة واحدة موجبة شهريا.

CONTROL CULTURES FOR MICROBIOLOGICAL TESTS

Group	Control Culture	
	Positive	Negative
Total coliforms	*Escherichia coli* *Enterobacter aerogenes*	*Staphylococcus aureus* *Pseudomonas* sp.
Fecal coliforms	*E. coli*	*E. aerogenes* *Streptococcus faecalis*
Fecal streptococci	*Streptococcus faecalis*	*Staphylococcus aureus* *E. coli*

٦) قارن ما بين الطرق القياسية والطرق المستحدثة لتقدير إمكانية تطبيقها وكفاءتها. اجر على الأقل ١٠٠ اختبار خلال العام قبل التغيير إلى الطريقة الجديدة واستخدامها فى التحاليل الروتينية.

٧) مقارنة العد البكتيري- للتقييم الكفاءة روتينيا ، كرر العد باستعمال واحدة أو أكثر من العينات الإيجابية على الأقل شهريا وقارن العدد بالعدد الناتج بواسطة محللين آخرين قاموا بتحليل نفس العينات.

فى حالة عمل مكررات للتحليل بواسطة نفس الشخص فالفرق المسموح به ٥% وعند مقارنة النتيجة بالنتيجة من محللين آخرين لنفس العينات فالفرق المسموح به هو ١٠%.

ب. قياس دقة الطرق Measurement of method precision:

احسب دقة لتحليلين لكل نوعية مختلفة من العينة المختبرة، مثلا، مياه الشرب، المخلفات السائلة، وغيرها طبقا للطريقة التالية:

١) اجر تحليل مزدوج على أول ١٥ عينة موجبة من نوع معين. خذ كل مجموعة من المزدوجات التى تم تحليلها بنفس الشخص، لكن تشمل كل الأشخاص القائمين بالتحاليل فى المعمل. سجل التحاليل المزدوجة D1 , D2.

٢) احسب لوغاريتم كل نتيجة. إذا أعطت أى مجموعة من المزدوجات نتيجة صفر، أضف ١ إلى كل القيم قبل حساب اللوغاريتم.

٣) احسب المجال(R Range) لكل زوجين من المزدوجات المحولة وكذلك المتوسط -R)) لهذه المجالات (انظر للحساب جدول)

gtz Partner for the Future. Worldwide.

CALCULATION OF PRECISION CRITERION

Sample No.	Duplicate Analyses		Logarithms of Counts		Range of Logarithms (R_{log}) ($L_1 - L_2$)
	D_1	D_2	L_1	L_2	
1	89	71	1.9494	1.8513	0.0981
2	38	34	1.5798	1.5315	0.0483
3	58	67	1.7634	1.8261	0.0627
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.
14	7	6	0.8451	0.7782	0.0669
15	110	121	2.0414	2.0828	0.0414

Calculations:

1) Σ of $R_{log} = 0.0981 + 0.0483 + 0.0627 + \ldots + 0.0669 + 0.0414$
$= 0.718\,89$

2) $\overline{R} = \frac{\Sigma R_{log}}{n} = \frac{0.718\,89}{15} = 0.0479$

3) Precision criterion $= 3.27\,\overline{R} = 3.27\,(0.0479) = 0.1566$

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٤) بعد ذلك، حلل ١٠ % من العينات الروتينية فى مزدوجات Duplicate. حول لمزدوجات كما فى رقم ٢ واحسب المتوسط. إذا كان المتوسط أكبر من -٣.٢٧R، فيكون هناك احتمال أكثر من ٩٩% أن الاختلاف المعملي كبير .

حدد إذا كانت زيادة عدم الدقة imprecision مقبولة، إذا لم تكن، اهمل كل نتائج التحليل من آخر مراجعة دقيقة (انظر الجدول) اعرف وحل المشكلة التحليلية قبل عمل تحاليل إضافية.

٥) حدث الخاصية المستعملة فى رقم ٤ بتكرار على فترات الطرق 1)إلى ٣) باستعمال نتائج الخمسة عشر مزدوجات الأكثر حداثة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٩التأكيد Verification

أ. طريقة أنابيب التخمر المتعددة Multiple-tube fermentation (MTF) methods

١) طريقة بكتريا القولون الكلية Total coliform procedure

مياه الشرب:

اجر فقط المرحلة التأكيدية Confirmed phase. التأكيد غير مطلوب. لأغراض التحكم فى الجودة، إذا كان طبيعيا أن لا توجد نتائج إيجابية، حلل على الأقل مصدر مياه إيجابي مرة واحدة كل ٣ شهور لتأكيد أن البيئة تعطى استجابة مناسبة.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

بالنسبة للعينات التى لها تاريخ من النمو الكثيف دون إنتاج غاز فى أنابيب الاختبار المبدئي Presumptive phase ، اجر المرحلة التأكيدية Confirmed phase لكشف النتيجة السلبية الغير حقيقية False negative لبكتريا القولون. أكد أى إيجابيات لبكتريا القولون البرازية أو E.coli.

الأنواع الأخرى من المياه:

أكد بإجراء الاختبار النهائي Completed test على ١٠% من العينات الإيجابية للاختبار التأكيدى Confirmed phase.

الاختبارات الإنزيمية (بكتريا القولون الكلية/ ايشيرشيا كولاى)

<u>مياه الشرب:</u>

أكد على الأقل ٥% من نتائج بكتريا القولون الكلية الايجابية بالنسبة لبكتريا القولون بحقن نمو من عينة إيجابية معروفة والاختبار لتخمر اللاكتوز أو B-D-galactopyranosidase بواسطة o-nitrophenyl-B-D-galactopyranosde (ONPG) والاندوفينول بواسطة اختبار اليبتوكروم أكسيديز (CO). بكتريا القولون موجبة ONPG وسالبة CO. أكد ايشيريشيا كولاى باستخدام بيئة EC MUG.

ولاختبار ONPG حضر محلول ١ مولار من mono sodium phosphate بإذابة ٦.٩ جرام من NaH2 PO4 H2O فى ٤٥ ملل Reagent water أضف ٣ ملل صودا كاوية ٣٠ % وأضبط pH عند ٧ وخفف إلى ٥٠ ملل وخزن فى الثلاجة. حضر محلول ONPGبإذابة ٨٠ مجم ONPG فى ١٥ ملل ماء عند ٣٧ درجة مئوية وأضف ٥ ملل محلول ١ مولار ٤ NaH2 PO. خزن فى الثلاجة. قبل الاستعمال دفء عند ٣٧ مئوية جزء كاف لعدد

الاختبارات التى ستجرى. علق لوب Loop كبيرة من النمو من كل مزرعة مائلة Slant culture عمر ١٨ – ٢٤ ساعة فى أنبوبة تخمر ١٠ X 75 مم . أضف نقطة واحدة طولوين إلى كل أنبوبة ورج جيدا. أترك الأنبوبة لمدة ٥ دقائق فى حمام مائي عند ٣٥ درجة مئوية. أضف ٠.٢٥ ملل من محلول Buffered ONPGإلى كل أنبوبة وأعد التحضين فى حمام مائي عند ٣٥ مئوية. اقرأ الأنابيب عند ٠.٥ ، ١ ، ٢٤ ساعة، وجود لون أصفر هو النتيجة الإيجابية.

أنواع المياه الأخرى

أكد على الأقل ١٠% من العينات الإيجابية لبكتريا لقولون الكلية كما ذكر فى a

٣) للبكتريا السبحية البرازية

Analyses for fecal streptococci– أكد التقاط ١٠ مستعمرات على الأقل منعزلة وموجبة للأسكيولين Esculin positive من M-E agar أو مستعمرات حمراء من m-enterococcus agar. انقل الى Brain heart infusion (BHI) agar و Broth. اجر اختبار كتاليز Catalase test على مزارع عمر ٢٤ ساعة. انقل من المزارع السالبة لاختبار الكتاليز والتى من الممكن أن تكون Fecal streptoccociإلى BHI broth + 40 % bile وحضن عند ٣٥ مئوية. انقل أيضا إلى وحضن عند ٤٥ مئوية BHI broth. النمو فى وجود Bile وعلى ٤٥ مئوية يؤكد البكتريا السبحية البرازية Fecal streptococci .

٤) استعمل مزارع معروف أنها موجبة وأخرى سالبة للاختبار للتحكم فى الجودة .

ب. طريقة المرشحات الغشائية Membrane filter procedure

١) طرق بكتريا القولون الكلية Total coliform methods

مياه الشرب

التقط كل، إلى ٥ مستعمرات نموذجية Typical وخمسة أخرى غير نموذجية Atypical (nonsheen) من العينات الإيجابية على بيئة M-Endo وأكدها كما سيأتي بعد. وأيضا أكد أى عينة إيجابية لبكتريا القولون البرازية أو ايشيريشيا كولاى. إذا لم تتواجد نتيجة إيجابية من اختبار عينات مياه الشرب ، حلل على الأقل مصدر واحد معروف من الماء كل ٣ شهور.

نوعيات المياه الأخرى

أكد شهريا بالتقاط على الأقل ١٠ مستعمرات لامعة Sheen من العينات الإيجابية.
أضبط العدد على ضوء النتيجة المؤكدة.

لتقدير السالبة الغير حقيقية False negatives

التقط ممثلات من مستعمرات غير نموذجية Atypical مختلفة وأكدها.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٢) طرق بكتريا القولون البرازية Fecal coliform procedure

أ) أكد الموجبة شهريا بالتقاط على الأقل ١٠ مستعمرات زرقاء من عينة واحدة موجبة. أكد فى مرق لوريل تربتوز Lauryl tryptose broth و EC broth. أضبط العدد على أساس النسبة المؤكدة.

ب) لتقدير السالبة الغير حقيقية ، التقط ممثلات من المستعمرات غير النموذجية ذات الأشكال المختلفة وأكدها.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

٣) طريقة ابشيريشيا كولاى E. coli procedure

<u>مياه الشرب</u>

أكد على الأقل ٥% من نتائج موجبة MUG وأخرى للسالبة. القط من مستعمرات واضحة اللمعان والتى تعطى وهج Fluoresce على الآجار المغذى المضاف إليه MUG وخذ حذرك من التقاط بيئة لأنها يمكن أن تعطى نتيجة إيجابية غير صحيحة. أكد أيضا مستعمرات غير لامعة nonsheen والتى تعطى وهج. أكد بإجراء اختبار السترات، الأندول، مع التحضين للاختبارلتكون الاندول عند ٤٤.٥ مئوية. ايشيرشيا كولاى موجبة للاندول وسالبة للسترات.

ب) أنواع المياه الأخرى

أكد عينة واحدة موجبة شهريا. أضبط العدد بناء على النسبة التى تم تأكيدها.

٤) طريقة البكتريا السبحية البرازية Fecal streptococci procedure - القط ١٠ مستعمرات على الأقل شهريا موجبة للأسكيولين (مستعمرات حمراء) من-m Enterococcus agarإلى بيئة Brain Heart Infusion وأكدها واضبط الأعداد

٤) تحليل انتيروكوكى Enterococcus analyses:

تأكد من التقاط ١٠ مستعمرات على الأقل منعزلة جيدا وذات لون قرنفلي Pinkإلى أحمر مع راسب أسود أو بنى محمر من EIA agar فى Brain (BHI) broth heart infusion وعلى BHI agar slant. حضن أنابيب المرق لمدة ٢٤ ساعة والآجار المائل لمدة ٤٨ ساعة على ٣٥ مئوية. بعد ٢٤ ساعة تحضين، انقل لوب من BHI broth إلى Bile esculin agar (BEA) إلى BHI + 6.5 % Na Cl وحضن لمدة ٤٨ ساعة عند ٣٥ مئوية.

انقل لوب أخرى من BHI broth عمر ٢٤ ساعة إلى أنبوبة أخرى BHI broth وحضن لمدة ٤٨ ساعة عند ٤٥ درجة مئوية. لاحظ النمو. أصبغ بصبغة جرام لنمو من BHI agar Slant والمحضن لمدة ٤٨ ساعة. الحصول على خلايا كروية موجبة لصبغة جرام تنمو فى EIA وتحلل الاسكيولين Hydrolyze esculin، تنمو فى BHI broth عند ١٠ ، ٤٥ مئوية ، BHI broth المضاف إليه ٦.٥ % ملح طعام تعتبر Enterococci.

للتحكم فى الجودة اختبر مزارع موجبة وسالبة معروفة.

تسجيل وتقارير النتائج Records and Data Reporting:

أ. خطة تأمين النوعية

برنامج تأمين النوعية يجب أن يضع خطة Quality assurance plan للمشروع والتى تخصص احتياجات التحكم فى النوعية لكل مشروع. الخطة تحدد أنشطة التحكم فى النوعية اللازمة لتحقيق التمثيل، الإنجاز، المقارنة، التناغم فى النتائج. وأيضا، خطة تأمين النوعية يلزم أن تشتمل على خطة تطبيق البرنامج والتى تؤكد أقصى تنظيم وتكامل لأنشطة التحكم فى النوعية خلال كل البرنامج(اخذ العينات، التحاليل، وتناول النتائج).

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ب. سجلات العينات Sampling records

طرق التشغيل القياسية لتناول سجلات أخذ وتجميع العينات، نقلها، تخزينها، تحليلها، والتخلص منها. السجل من السهل تداوله على صورة سلسلة من المطبوعات بحيث يمكن الإمداد بالمعلومات الضرورية. ومن الضروري أن تكون السجلات مضبوطة وكاملة خاصة إذا كانت مطلوبة قضائيا.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ج. حفظ السجلات : Recordkeeping

النظام المقبول لحفظ السجلات يتيح فرصة المعلومات عن جمع العينات وحفظها، الطرق التحليلية، النتائج الخام، الحساب للنتائج المسجلة، و تسجيل للأشخاص المسئولين عن أخذ العينات والتحليل. اختار صورة مقبولة لكلا من المعمل والمستهلك (مستخدم النتائج). أكد أن كل بيان النتائج موقع من القائم بالتحليل والمشرف. الصورة المفضلة للسجل هى سجل مجلد مرقم الصفحات.

احتفظ بسجلات التحاليل الميكروبيولوجية لمدة ٥ سنوات على الأقل. تقارير نتائج المعمل الأصلية ربما تحفظ أو تنقل النتائج إلى جداول ملحفة، مع اعتبار أنها تشتمل غلى التاريخ ، المكان، وقت أخذ العينة، نوع العينة، تاريخ استلامها، اسم القائم بالتحليل، طريقة التحليل، النتائج الخام، الحساب للنتائج. أكد أن كل نتيجة قد أدخلت بطريقة صحيحة من أوراق المعمل ووقعت من القائم بالتحليل .

تناول أو معالجة النتائج Data handling

أ. توزيع المجتمعات البكتيرية Distribution of bacterial populations :

فى معظم التحاليل الكيميائية توزيع نتائج التحاليل تتبع The Ganssian curve منحنى جانسيان. التوزيع الميكروبي ليس من الضروري أن يكون متناسق. العد البكتيري غالبا يتصف بأنه له توزيع منحرف (غير متماثل Skewed (لأن العديد قيمه منخفضة والقليل هى العالية. هذه الصفات تؤدى إلى أن المتوسط الحسابي اكبر من العدد الوسطى median . منحنى التكرار لهذا التوزيع له ذيل يميني طويل Long right tail كما يظهر فى الشكل

ويقال عنه أنه موجب الانحراف أو عدم التماثل.

تطبيق الطرق الحسابية القاسية يحتاج إلى افتراض التوزيع المتناسق مثل المنحنى العادي. وتقريبا التوزيع العادي ممكن الحصول عليه من البيانات المنحرفة بتحويل الأعداد إلى لوغاريتمها، كما يظهر فى الجدول

وهذه اللوغاريتمات (جدول) تظهر أن اللوغاريتمات تقرب التوزيع المنتظم.

COLIFORM COUNTS AND THEIR LOGARITHMS

MPN Coliform Count No./100 mL	log MPN
11	1.041
27	1.431
36	1.556
48	1.681
80	1.903
85	1.929
120	2.079
130	2.114
136	2.134
161	2.207
317	2.501
601	2.779
760	2.881
1020	3.009
3100	3.491

$\bar{x} = 442$ $\bar{x}_g$ = antilog 2.1825 = 152

gtz Partner for the Future. Worldwide.

برنامج جمع عينات المياه وعناصر التحليل
بدءا من المأخذ ومرورا بخطواط المعالجة
الى النتج النهائى وشبكات التوزيع

البرنامج التالى مستخلص من واقع البيانات والتفاصيل الواردة فى الكود المصرى للشروط الفنية لأعمال التشغيل والصيانة لمحطات تنقية مياه الشرب وروافعها وشبكاتها ومحطات الرفع والمعالجة لمياه الصرف الصحى (١٠٣)- (الجزء الأول – الفصل الخامس : التحاليل والمعامل)

والصادر عن المركز القومى لبحوث الاسكان والبناء عام ٢٠٠٦

gtz Partner for the Future. Worldwide.

ملاحظات على البرنامج السابق

البيانات التى استخلص منها الجدول السابق لم يذكر صراحة نوعية المصدر الذى ستجمع منه العينات ولكن من الواضح أنها تختص بالمياه العذبة السطحية.

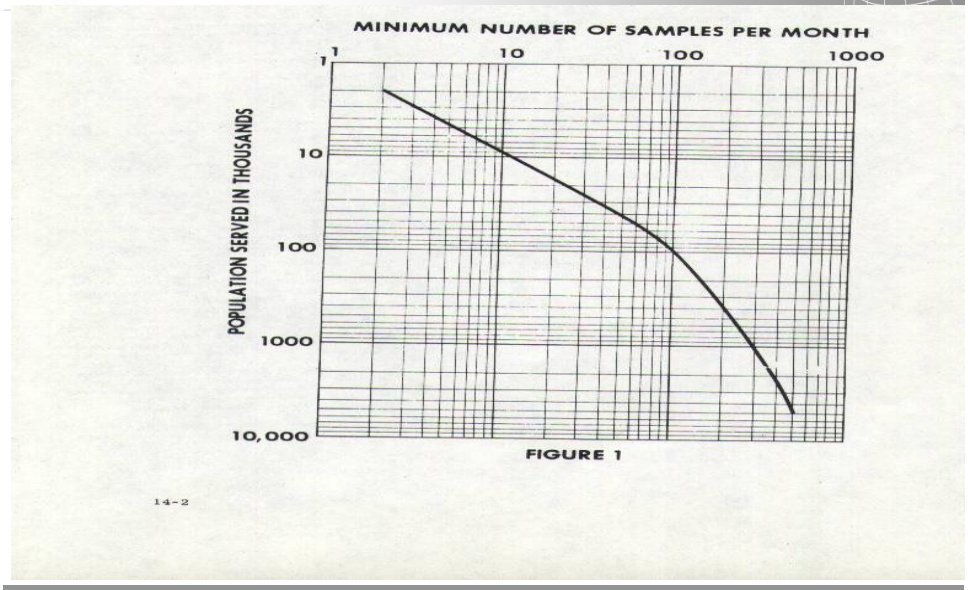
فالجدول الزمنى لجمع العينات يحدده كما ذكرنا سابقا البيانات المتوفرة من تحليلات سابقة عن هذا المصدركذلك نوعية المصدر.

لم يؤخذ فى الاعتبار عدد العينات التى سيتم اختبارها من مياه الشرب والتى يحددها عدد السكان الذى تخدمه المحطة والذى حدده

Taft Center for Sanitary Engineering, FWQA, Cincinnati, OH, USA

واقرته وكالة حماية البيئة الأمريكية.

يجب وضع برنامج خاص حسب المصدر والبيانات المتوافرة عنه كذلك المتوافر من بيانات عن توقعات مدى ثبات نوعية المنتج طبقا لتكنولوجيا المعالجة.



الاختبارات البكتريولوجية لم تشير الى الاختبار لمجموعة البكتريا السبحية البرازية على الرغم من ان المواصفة المصريه لمياه الشرب (١٩٩٥) اشارت الى ضرورة خلو المياه من هذه المجموعة.

- لم يشر الى ضرورة الاختبار للطحالب الخضراء المزرقة والتى أشير اليها فى المواصفة المصرية لمياه الشرب.
- يجب الأخذ فى الاعتبار والاشارة الى اجراء العد الكلى للبكتريا عند درجتى ٢٢ مئوية ، ٦٣ مئوية ويراعى استخدام البيئات ومدة التحضين المشار اليها فى الطرق القياسية.

بالنسبة للبروتوزوا والفحص الميكروسكوبى الذى أشير الى اجراؤه فانه غير كافى فى ضوء ما أشارت اليه المواصفات التى وضعتها وأقرتها وكالة حماية البيئة عام ٢٠٠٥ عن ضرورة تقييم نظم المعالجة التى تخدم أقل من ١٠٠٠٠نسمه لازالة حويصلات الكربتوسبوريديم.

gtz Partner for the Future. Worldwide.

- بالنسبة للعناصر المشعة أشارت وكالة حملية البيئة الى الاختبار لجزيئات الفا وبيتا بالاضافة الى كلا من الراديوم واليورنيوم وهما لم يشار اليهم فى المواصفة المصرية لمياه الشرب الصادرة عام ١٩٩٥

المواصفة المصرية لم تشر الى اختبار مياه الشرب لتواجد الأسبستوس ونظرا لثبوت علاقه بينه وبين حالات اصابة بالسرطان وضعت وكالة حماية البيئة حدود لتواجد الياف الأسبستوس فى مياه الشرب ويجب أخذ ذلك فى الاعتبار مع دخول الأسبستوس فى صناعة مواسير مياه الشرب.

- ليس هناك سبب واضح لعدم اختبار المياه المروقه بواسطة المعمل المركزى كل شهر !!

gtz Partner for the Future. Worldwide.

المعـــــــــامـــل

مراقبة نوعية المياه تتأتى من خلال نتائج تحليل العينات التى تم جمعها طبقا للبرنامج الزمنى الموضوع وللعناصر المحدده والتى تم استخلاصها من الكود المصرى. وفى ضوء ما ذكر من العناصر التى سيتم تحليلها فى العينات وبالرجوع الى الطرق القياسية فى التحليل

American Public Health Association (APHA), Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition, Washigton D.C., USA.

تم وضع تخيل للأجهزة ، الأدوات، الزجاجيات، الكيماويات والبيئات الميكروبية واللازمه لمعملى التحاليل الكيماوية والميكروبيولوجية مع مراعاة أن ما ذكر خاص بتجهيزات المعمل المركزى والذى سيقوم بمراقبة المعامل الفرعية الى جانب القيام بالتحليلات

قائمة اتبيان الأجهزة اللازمه لمعامل الميكروبيولوجى لتحليل مياه الشرب

اسم الجهاز واستخدامه	متطلبات خاصة	الجهاز موجود ويعمل بنسبة كفاءة			الجهاز غير موجود
أوتوكلاف لتعقيم البيئات	ذا سعه تتناسب مع حجم العمل	١٠٠%	٧٥%	٥٠%	
حضانه لتحضين الاطباق والانابيب	مزدوجة الجدار – مضبوطه عند ٣٧ +/- ٠.٥ م°- تعطى انذار عند ارتفاع أو انخفاض الحراره- درجة الحرارة متجانسة وموزعه بمروحة داخليه				
حضانه لتحضين الاطباق والانابيب	مزدوجة الجدار – مضبوطه عند ٢٢ +/- ٠.٥ م°- تعطى انذار عند ارتفاع أو انخفاض الحراره- درجة الحرارة متجانسة وموزعه بمروحة داخليه .				
حمام مائى	الحرارة تصل الى الغليان لتسييح البيئات الصلبه				
حمام مائى	الحرارة مضبوطه عند ٥٠ م لحفظ البيئات التى تم تسييحها لحين صبها				
حمام مائى ذو قلاب	الحرارة مضبوطه عند 44.4 +/- ٠.١ م° ومزود بحوامل أنابيب اختبارلاجراء اختبار تواجد بكتوبا القولون البرازيه بطريقة العد الاحتمالى				

جهاز لضبط تركيز أيون الأيدروجين للبيئات pH meter	يفضل أن يكون Digital ويعطى رقمين عشريين				
جهاز لتقليب البيئات أثناء تحضيرها لضمان تجانسها Magnetic stirrer with hot plate	يراعى أن يتناسب حجمه مع امكانية تقليب حجم يتراوح ما بين ٣ـ ٤ لتر				
جهاز لمزج العينات فى حالة تخفيفها Vortex	يمكن التحكم فى شدة الاهتزاز مع ملاحظة أنه سيستخدم مع انابيب اختبار				
Binocular يعطى قوة تكبير ٢٠،٤٠،١٠٠لعد مستعمرات البكتريا على الأجار وعلى سطح Membrane filter	ذا مصدر اضاءه عادى من اسفل ومن أعلى فلورسنت ٤ـ ٨ وات ويفضل امكانية التحكم فى شدة الاضاءه				
ميكروسكوب معملى بمصدر اضاءة	عدسات ١٠،٦٠،٤٠،٢٠و عدسة زيتيه 10x or 12.5x ocularsOcular micrometer ruling				
جهاز لعد المستعمرات البكتيريه Colony Counterيدوى أو ذا قلم أوتوماتيكى باللمس .	فى حالة توافر العداد الأوتوماتيكى يفضل أن يكون ذا مصدر اضاءه اسفل قاعده شفافه ومقسمه وأعلاه عدسه مكبره .				
جهاز Membrane Filter مع طلمبة تفريغ	يفضل المصنع من Stainless steel مع توفير أكثر من وحده أو الاستعاضه بوحده متعددة الأقماع				
ميزان حساس	كهربائى- ديجيتال- حساسيته 0.0001 جرام- قدرته ٥٠٠ جرام- تتوافر له وسيله للحمايه من الظروف الخارجيه				

تابع قائمة استبيان الأجهزة اللازمه لمعامل الميكروبيولوجى لتحليل

اسم الجهاز واستخدامه	متطلبات خاصة	الجهاز موجود ويعمل بنسبة كفاءة			الجهاز غير موجود
فرن تجفيف للأدوات الزجاجيه ١٢٠ درجه منويه	يفضل أن يكون Digital -يعطى انذار عند تذبذب الحراره- الحساسيه +/- ١٠ درجه منويه – تتناسب سعته مع حجم العمل.	١٠٠%	٧٥%	٥٠%	
فرن لتعقيم الزجاجيات ١٨٠ درجة منويه	يفضل أن يكون Digital -يعطى انذار عند تذبذب الحراره- الحساسيه +/- ١٠ درجه منويه – تتناسب سعته مع حجم العمل.				
Laminar flow					
جهاز لتقطير المياه					
Automatic pipet	٥٠ ملل، ٢٠ ملل، ١٠ ملل، ١ ملل.				
Water Sampler					

Nets for Plankton					
Centrifuge 20,000 rpm					
Spectrophotometer					
ثلاجه لحفظ العينات والبيئات	ذات حجم يتناسب مع معمل مركزي				
Jar test apparatus					
Inverted compound microscop					

قائمة استبيان الادوات اللازمه لمعامل الميكروبيولوجى لتحليل مياه الشرب

الصنف ب ـ الادوات	مواصفات خاصه	موجود	غير موجود
علب معدنيه لوضع أطباق البترى بها للتعقيم	معدن لا يصدأ (غير نحاسيه)		
علب معدنيه لوضع الماصات بها للتعقيم	معدن لا يصدأ (غير نحاسيه)		
لهب بنزن			
أكياس بلاستيك يمكن احكام غلقها غير منفذه للماء			
حوامل لأنابيب الاختبار ذات فتحات تتناسب مع أقطار الأنابيب المستخدمه فى تقدير MPN			
ملاقط ذات حافة ملساء ومفلطحة للتعامل مع Membrane filter	يفضل توفير أكثر من واحد		

			Sterile membrane filter (cellulose acetate) a. pore size 5 micron, cm b. pore size 1 micron, c- proe size 0.45 micrometer with filter pads, white, 4.7 cm dimeter
			بيئات ميكروبيه طبقا Standard Methods
			لمبات أشعه فوق بنفسجيه لتعقيم جو المعمل 256 nm
		ذات سلك مقاوم للحرارة والصدأ- رقم ٢٢،٢٤	ابر للحقن

قائمة استبيان الزجاجيات اللازمه لمعمل الميكروبيولوجى

الصنف	مواصفات	موجود	غير موجود
أنابيب اختبار ١٦X١٥٠ملل	بوروسيليكات أو بيركس		
أنابيب اختبار تسع ٥٠ ملل	بوروسيليكات أو بيركس		
أنابيب اختبار تسع ١٠٠ ملل	بوروسيليكات أو بيركس		
أنابيب اختبار بغطاء بلاستيك قلاووظ	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى ٥ لتر	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى ٣ لتر	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى ٢ لتر	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى ١ لتر	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى نصف لتر	بوروسيليكات أو بيركس		
دورق زجاجى مخروطى ربع لتر	بوروسيليكات أو بيركس		

ماصه مدرجه ١٠ ملل			
ماصه مدرجه ٥ ملل			
ماصه مدرجه ٢ ملل			
ماصه مدرجه ١ ملل			
أطباق بترى ١٠٠X ١٥ مم			
أطباق بترى ٥٠X ١٢ مم			
أنابيب درهام ٢٠ X ٤مم			
أنابيب درهام ٤٠ X ٤مم			
زجاجات للعينات سعة ١ لتر	ذات فوهة واسعه- بوروسيليكات- غطاء معدنى أو بلاستيك مقاوم لحرارة التعقيم او ذات غطاء مصنفر-لا تسمح بالتسريب-		

زجاجات لتخفيف العينات ٢٠٠ ملل	بوروسيليكات أو بيركس- ذات غطاء محكم مقاوم لحرارة التعقيم – مدرجه اقسام ١٠ ملل		
شرائح زجاجيه مع الغطاء ٥٠ علبه من كل منهما			
Algal Count Cell (Sedgwick-Rafter)			
مخبار مدرج ٢ لتر، ١ لتر، نصف لتر، ١٠٠ ملل، ٥٠ ملل			
اقماع زجاجية	قطر ١٠سم ،١٥سم، ٢٠ سم		

gtz Partner for the Future. Worldwide.

قائمة استبيان البيئات والكيماويات اللازمه لمعمل الميكروبيولوجى

غير موجود	موجود	الصنف
		١- تقدير العد البكتيرى الكلى:
		***In case of Poured Plates or Surface Plating method use:** **a-Plate Count Agar or (tryptone glucose yeast agar)** **Or** **b- R2A agar** **Or** **c- NWRI agar** ***In case of using membrane filter use: m-HPC agar** **Or** **R2A agar**
		٢- تقدير مجموعة القولون الكليه

Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit (GTZ) GmbH
Water & Wastewater Management Program
Holding Company for Water and Wastewater (HCWW),
Corniche El Nil, Water Treatment Plant-Road El Farag
Tel.: +2 02 245 98 405/411
Fax: +2 02 245 98 405/411
Website: www.gtz.de

الوكالة الألمانية للتعاون الفني
برنامج إدارة مياه الشرب و الصرف الصحي
الشركة القابضة لمياه الشرب و الصرف الصحي،
كورنيش النيل محطة مياه روض الفرج
تليفون : ٤١١/٤٠٥ ٩٨ ٢٤٥ ٠٢ ٠٠
فاكس: ٤١١/٤٠٥ ٩٨ ٢٤٥ ٠٢ ٠٠
موقع إلكتروني: www.gtz.de