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).

- 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.

- 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,

•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:

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 :

•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،

- 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

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)

- البرنامج يجب أن يكون :

*عمليا + متكامل

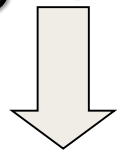
*لا يحتاج الى وقت طويل (الاهمال)

- نتائج تطبيق برنامج متوازن QA:
- بيانات من نوعية عالية الجودة
- 15 % من وقت المعمل لبرنامج QA
- التحليلات الميكروبيولوجية مختلفة عن التحليلات الكيميائية (Ref. + Standards)

صعوبات

- برامج QA تختلف بين المعامل؟

الجهات التنظيميه - المسؤوليات – الأهداف - حجم المعمل- القدرات- الامكانيات- مهارة الأعضاء- التدريب



كل معمل يختار مستوى QA طبقا لهدفه.

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.

- **مسئوليات الادارة:**

- ادراك الحاجة الى البرنامج،
- توفير الماليات،
- الأشخاص (الكوادر)،
- تحديد مسؤليات الادارة.

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.

المنسق:

- مراجعة مستمرة مع مشرف المعمل لتقدير
- الانجازات تحديد المشاكل وحلولها.

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.

أهداف برنامج QA:

- نتائج جيدة،
- أداء معملى جيد،
- تقييم العمليات المعمليه،
- تحديد نقاط الضعف فى العمليات المعمليه
- الاحتياج الى التدريب،
- تحسين التوثيق والاحتفاظ بالسجلات.

عناصر برنامج QA:

- خطه (وصف البرنامج + الأنشطه بالمعمل)
- تحديد الأهداف الخاصة بالمعمل
- طرق جمع العينات
- تنظيمات العاملين
- احتياجات المعمل من الأجهزة
- توصيف الاحتياجات

- طرق التحليل
- الطرق القياسية للتشغيل
- الاحتياجات التوثيقيه
- الاحتياج الى التقييم :
  - التدقيق الداخلى
  - التقييم فى الموقع
  - دراسات تقييم الأداء
- اجراءات التصحيح

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.

مـــراقـــــــــبة 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،

- 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.

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.

1.الأشخاص:

- ميكوبيولوجى أو فنى محترف
- تحديد الواجبات
- التدريب
- تقييم الأشخاص
- المشرف يراجع الطرق + تحضير البيئات + الأدوات + طرق التحكم فى الجودة للحد من المشاكل.

2. التسهيلات Facilities

- التهوية
- استغلال الفراغ
- مساحة Bench
- الحوائط والأراضى
- مراقبة منطقة العمل
- نظافة المعمل

3. 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.

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.

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.

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).

حـضـانـــــة الهـــــــواء 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).

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).

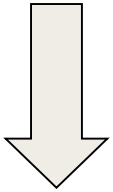
- Deviations in the records of the adjusted temperature +/- 0.5^{o} C (proper thermostat adjustment.

- 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^{o}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^{o} 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.

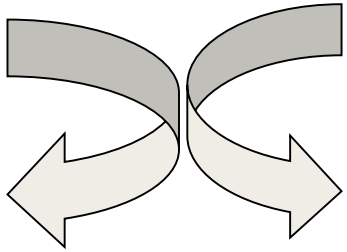
INCUBATOR ROOM

- More complex environmental controlling system:

(+/- 0.5^{o} C , 75 – 85 % relative humidity). That need:

- Primary heating control (30 -40^{o} C) + Secondary heating source (maintain the temp. +/- 0.5^{o} 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 44.5ºC within +/- 0.5º C (lowered to +/- 0.2º 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^{o} C +/- 10^{o}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.

- Time necessary when chamber temp. plateau is achieved.

- <u>The use of the recording thermometer to know:</u>

Rate of initial temp. acceleration, Max. temp. achieved,Constancy of sterilization temp., Rapidity of exhaust, Total exposure time (Carbohydrate media).

- 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 121^{o}C 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 60^{o} to 80^{o} 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.