صلاحية المياه المعبأة (المحلية والمستوردة) للاستهلاك البشري من الناحية المايكروبية والكيمياوية باستخدام الطرق المتبعة لفحص المياه في بغداد ومقارنتها باستخدام طرق اخرى حديثة

دراسة قدمها:

معهد بحوث التغذية

باشراف

الدكتور

علاء شعلان حسين

M.B.Ch.B./M.Sc.-CM

الدكتور

سعد الدين حسين علي

M.B.Ch.B./F.I.B.M.S-CM

٢٠١٢

اسم الباحث :

الدكتور مصطفى اكرم
M.B.Ch.B/M.Sc. (Microbiology)

ب.الهام عبد فتحي
B.Sc. (Microbiology)

فريق العمل المختبري:

وزارة الصحة معهد بحوث التغذية/قسم الرقابة الصحية	وزارة التخطيط الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية	وزارة البيئة المختبر البيئي المركزي
الدكتور مصطفى اكرم	انوار ساطع	ر.بكتريولوجي.اقدم سهام بارهيم
ر.بكتريولوجي. نهلة حسين عبود	هبة ياسين	
ر.بكتريولوجي الهام عبد فتحي	علي خضير	
كيمياوي اقدم خولة عبد الكريم		
ر. مهندس زراعي نادية علي جودي		
م.بايولوجي. رسل حاتم خلف		
ر.م. مختبر اقدم نبيل ابراهيم مصطفى		
بايولوجي اقدم شيماء رشيد سعيد		
الدكتور عدنان عبد رجب		

فريق جمع النماذج:

ر.م.وقائي أقدم رعد هادي مهدي
ر.م. طبي صحة مجتمع طه رحيم دليفي
ر.م. مختبر اقدم نبيل ابراهيم مصطفى

ادخال وتحليل البيانات:

وحدة البحث والتطوير والدراسات ووحدة الاحصاء
د. سعد الدين حسين
ب. الهام عبد فتحي
م. بايولوجي رسل حاتم خلف
م.مبرمج مروة باسم عبد الواحد

تنسيق وطباعة البحث:

ب. الهام عبد فتحي

الفهرس

الفهرس ٣

قائمة المختصرات ٦

المستخلص ٧

المقدمة ٨

الهدف العام ٩

الهدف المحدد ٩

المواد وطرائق العمل ٩

١. تصميم الدراسة وجمع النماذج:-..... ٩

2. التحري عن تلوث النماذج بالبكتريا وحسب المواصفات العراقية والعالمية:- ١٠

٢-١ الفحوصات البكتريولوجية:- ١٠

٢-١-١ حساب العدد الكلي للبكتريا (Total viable count):-..... ١٠

2-1-2 الكشف والعد لبكتريا القولون والقولون البرازية (*Escherichia coli* and *coliform* bacteria):-..... ١١

٢-١-٣ الكشف والعد لبكتريا الانتيروكوكاي المعوية (Intestinal *Enterococci*):-..... ١١

٢-١-٤ الكشف والعد لبكتريا سيدوموناس ايروجينوسا (*Pseudomonas aeruginosa*):-..... ١٢

٢-١-٥ الكشف والعد لسبورات بكتريا الكلوستريديوم اللاهوائية المختزلة للسلفايت (*clostridia*) Spore of sulfite-reducing anaerobic :-..... ١٤

٢-١-٦ الكشف والعد لبكتريا القولون وبكتريا القولون المحتملة الحرارة واحتمال تواجد بكتريا القولون البرازية:-..... ١٥

(*coliform* organisms, thermotolerant *coliform* organism and presumptive *Escherichia coli* - ١٥

٢-١-٧تشخيص بكتريا سيدوموناس ايروجينوسا *Pseudomonas aeruginosa* بطريقة تقنية الانابيب المتعددة:-..... ١٧

٢-١-٨ تشخيص بكتريا المكورات المسبحية البرازية ومجموعة المكورات المعوية بطريقة تقنية الانابيب المتعددة Fecal *Streptococcus* and *Enterococcus* Groups:-..... ١٨

2-1-9 تشخيص عائلة الانتريوبكتريسي باستخدام عدة (Microbact-Oxoid).....١٩
٢-٢ الفحوصات الكيمياوية:-.....٢٠
٢-٢-١ تقدير النترات (Nitrate):-.....٢٠
٢-٢-٢ تقدير الكلورايد (Chloride بطريقة موهر :- ٢٠
٢-٢-٣ تقدير التوصلية الكهربائية (Electric Conductivity):.....٢١
٢-٢-٤ قياس الدالة الحامضية (PH Meter):-.....٢١
٢-٢-٥ تعيين الفوسفات بالطريقة اللونية:- ٢١
٢-٢-٦ تعيين الكبريتات بطريقة الترسيب:- ٢١
٢-٢-٧ تعيين الكالسيوم بطريقة التسحيح:- ٢٢
٢-٢-٨ الكشف عن المواد الصلبة الذائبة الكلية (Total Dissolve Solid) بطريقة التبخير:- [١٨] ٢٢
٢-٢-٩ تقدير نسب العناصر المعدنية (Atomic Absorption Spectrometry).....٢٣
2-3 الفحوصات الفيزياوية وماهية مادة أوعية القناني [٢٣][٢٤]:- ٢٣
٢-٣-١ المظهر.....٢٣
2-3-2 قياس السعة.....٢٣
٢-٣-٧ فحص مقاومة التسرب.....٢٤
2-3-4 فحص مقاومة الحمل الرأسي.....٢٤
٢-٣-٥ فحص مقاومة الصدم.....٢٤
٢-٣-٦ ماهية المادة.....٢٤
٢-٣-٧ التأشير.....٢٥
1. نتائج الفحص البكتريولوجي للمياه المعبأة:- ٢٦
١-١ نتائج الفحص البكتريولوجي وحسب المواصفة العراقية:- ٢٦
1-1-1 الفحص بطريقة (MPN).....٢٦
١-١-٢ الفحص بطريقة (MF ٢٦
١-٢ نتائج التلوث المايكروبي وحسب المواصفات العالمية:- ٢٧
1-2-1 التلوث ببكتريا القولون ٢٨

1-2-2 التلوث ببكتريا المكورات المسبحية البرازية ٢٨
1-2-3 التلوث بالفطريات ٢٩
١-٢-٤ التلوث ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا.....٣١
١-٢-٥ النماذج الملوثة ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا وبكتريا المكورات المسبحية البرازية وغير الفاشلة حسب المواصفة العراقية ٣٢
١-٢-٦ تلوث قناني مياه الشرب المعبأة غير مؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج ومقارنتها مع المؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج.٣٣
٢. نتائج الفحوصات الفيزياوية والتأشيرات:.....٣٣
3. نتائج الفحص الكيمياوي:ـ ٣٤
التوصيات: ٣٦
الملاحق: ٤٠

CI: Confidence Interval

ISO: International Standard Organization

MPN: Most Probable Number

MF: Membrane Filter

PET: Polyethylene terephthalate

UV: Ultraviolet Light

المستخلص

أجريت هذه الدراسة المقطعية لغرض التحري عن تلوث مياه الشرب المعبأة لـ (١٥٣) نموذجا لعينات مختلفة أخذت من الاسواق المحلية من مناطق مختلفة لمدينة بغداد، وتم اجراء الفحوصات البكتريولوجية والكيمياوية في معهد بحوث التغذية فيما اجريت الفحوصات الفيزياوية في وزارة التخطيط/ الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية، وأعدت إستمارة إستبيان خاصة تضمنت معلومات عن نوع وإسم المنتج وطريقة التعقيم وتاريخ الانتاج والنفاد وبلد المنشأ (خلال الفترة من ٢٠١٢/٢/٩ الى ٢٠١٢/٧/٢٥) .

إعتمدت الدراسة على طرق منظمة المقاييس العالمية (ISO) في تشخيص التلوث البكتريولوجي بطريقتي الترشيح (Filtration) والعد الاكثر احتمالية (MPN) لبكتريا القولون والسيدوموناس ايروجينوسا والمكورات المسبحية البرازية وبكتريا الكلوستريديا، وقد أجريت كذلك الفحوصات الكيمياوية اللازمة للتحري عن نسبة الدالة الحامضية والتوصيلة الكهربائية والاملاح الكلية الذائبة ونسبة أملاح النترات والكلورايد والسلفايد وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم ونسب المعادن مثل الكالسيوم والمغنسيوم والرصاص والنحاس والحديد بينما قامت دائرة السيطرة النوعية/ قسم الصناعات الكيمياوية في الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية بفحص مادة القناني بالاضافة الى الفحوصات الفيزياوية الاخرى.

كانت نتائج فشل صلاحية مياه الشرب المعبأة للاستهلاك البشري للتلوث الميكروبي بطريقة الترشيح ٣٣،٩% فيما بلغت ٢٥،٥% بطريقة العد الاكثر احتمالية وحسب المواصفة القياسية العراقية "الحدود المايكروبية لمياه الشرب والثلج المعد للاستهلاك" رقم ٢٢٧٠/الجزء الرابع عشر.

أظهرت نتائج التلوث المايكروبي لمياه الشرب المعبأة نسبة تلوث عالية بلغت ٥٦،٢% وذلك بطريقة الترشيح فيما بلغت ٤٤،٤% بطريقة العد الاكثر احتمالية حسب المواصفات المعتمدةعربياً وعالمياً لمياه الشرب المعبأة وهي نسبة مرتفعة تدل على تلوث قسم كبير من المياه المعبأة المعروضة في الاسواق وتدل على عدم كفاءة التعقيم والنظافة العامة لكثير من معامل التعبئة، حيث كانت نسبة التلوث عالية ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا (٢٦،٨%) بطريقة الترشيح فيما بلغت ٢٠،٣% بطريقة العد الاكثر احتمالية في حين كانت نسبة التلوث ببكتريا القولون ١٤،٤% و٦،٥% بالطريقتين الاولى والثانية وعلى التوالي وكانت نسب تلوث المياه بالفطريات ١٦،٣%والتي ظهرت عرضياً بطريقة الترشيح عند التحري عن الملوثات البكتريولوجية وهذا التلوث ببكتريا القولون والفطريات يدل على عدم التزام كثير من المعامل بالشروط واللوائح الصحية الصحيحة.

أظهرت نتائج الفحوصات الكيمياوية عدم وجود اي تلوث كيمياوي حيث كانت نتائج جميع الفحوصات المجراة ضمن الحدود المسموح بها وحسب المواصفة القياسية العراقية "مياه الشرب المعبأة" رقم ١٩٣٧/

١٩٩٥والمواصفة القياسية العراقية "مياه الشرب" رقم ٤١٧/ ٢٠٠٩ التحديث الثاني والذي يدل على ان مصادر المياه وعملية الترشيح جيدة.

أظهرت نتائج الفحص الفيزياوي أن ماهية مادة قناني شرب المياه المعبأة هي مادة البولي اثيلين ترفثاليت (PET)، وقد فشل٨،٢% من النماذج بفحص مقاومة الصدم وهو فحص يظهر كفاءة وتحمل العبوة عند النقل والخزن، ولم يؤشر تاريخ الانتاج والنفاد على ٤٨،٤% من القناني، في حين ان٣٠،٧% من القناني لم يؤشر عليها طرق التعقيم المستخدمة ونستخلص بأن الكثير من معامل التعبئة لا تلتزم بذكر تاريخ الانتاج والنفاد وطريقة التعقيم والتي هي من المستلزمات المهمة.

المقدمة

المياه المعبأة هي مياه شرب معالجة ومعدة للاستهلاك البشري ومعبأة في عبوات مناسبة محكمة القفل. وتعامل هذه المياه بطرق متعددة لجعلها صالحة للشرب منها عملية الترشيح وتعريض الماء للاشعة فوق البنفسجية او الاوزون، وذلك لغرض حماية المستهلك من كل ما يضر بصحته، ومصدر هذه المياه هو نظام توزيع مياه عمومي أو خاص أو اي مصدر اخر يحتوي مياه صالحة للاستهلاك البشري [١].

انتشر إستخدام مياه الشرب المعبأة في العراق في السنوات الاخيرة بشكل كبير وذلك لتزايد الطلب على هذا المنتج بسبب تخوف الفرد من مياه الشرب الواردة من شبكات إسالة الماء وسهولة تداول المياه المعبأة في الاماكن العامة وازدادت معامل تعبئة المياه في العراق وازداد إستيراد المياه المعبأة من دول الجوار بشكل واسع.

وقد يصاحب هذا الانتشار الواسع للمياه المعبأة تلوث قسم منها بالميكروبات او بالمواد الكيمياوية مما قد يؤدي الى انتشار بعض الامراض الانتقالية والحادة وان اكبر مصدر لخطورة تلوث مياه الشرب ا

١والفيزياوية مما قد يؤدي الى تلوث المياه. وتتأثر الخصائص الفيزيائية للعبوة بتداولها وخزنها في ظروف غير صحية مثل خزنها في مخازن مرتفعة الحرارة، او مع مواد كيمياوية او ضارة[٣ و٤].

ولهذا ارتأينا اجراء بحث بطريقة العدد الاكثر احتمالية (المستخدم في مختبرات الصحة العامة) وطريقة الترشيح، ومقارنة النتائج بالطريقتين لمعرفة مدى تلوث المياه المعبأة بأنواع معينة من البكتريا التي من الممكن ان تتواجد في المياه مثل بكتريا القولون والمكورات المسبحية البرازية وسيدوموناس ايروجينوسا وسبورات الكلوستريدم وكذلك اجراء فحوصات الملوثات الكيميائية (نسبة الدالة الحامضية والتوصيلة الكهربائية والاملاح الكلية الذائبة ونسبة املاح النترات والكلورايد والسلفايد وأيونات الصوديوم والبوتاسيوم ونسب المعادن مثل الكالسيوم والمنغنيز والرصاص والخارصين والنحاس والحديد) والتي من الممكن أن تؤدي الى تأثيرات على الجهاز العصبي والجهاز الهضمي واحتمال حدوث اورام سرطانية نتيجة لزيادة نسب بعض العناصر الملوثة في مياه الشرب[٥]

الهدف العام

التحري عن صلاحية المياه المعبأة المعروضة في الاسواق المحلية في مدينة بغداد للاستهلاك البشري ومدى تلوثها بالميكروبات والمواد الكيمياوية ودراسة مواصفات القناني طبقاً للمواصفات القياسية والتي قد تؤثر على صحة المواطن .

الهدف المحدد

١- دراسة تلوث المياه المعبأة بالميكروبات وتشخيص بعض انواع البكتريا المهمة وهي بكتريا القولون وسيدوموناس ايروجينوسا والمكورات المسبحية البرازية وسبورات الكلوستورديوم بطريقة العدد الاكثر احتمالية والمستخدمة في مختبرات الصحة العامة وبطريقة الترشيح المستخدمة في الكثير من المختبرات العالمية وبالاعتماد على الطريقة العالمية (منظمة المقاييس العالمية ISO).

٢- مقارنة كفاءة الطريقتين المذكورتين في الفقرة (١) آنفاً لتشخيص تلوث المياه المعبأة بالميكروبات لمعرفة دقة وسهولة كل طريقة وامكانية تطبيق الطريقة الافضل في مختبرات الصحة العامة.

٣- دراسة تراكيز بعض العناصر الكيمياوية الملوثة للمياه المعبأة وهي (النترات، الكلورايد، التوصيلة الكهربائية، الدالة الحامضية، الفوسفات، الكبريتات، الكالسيوم، المواد الصلبة الذائبة الكلية، النحاس، الخارصين، الصوديوم، الحديد، الرصاص، المنغنيز) بهدف تثبيت الفحوصات الواجب اجراءها ضمن الفحوصات الروتينية لفحص مياه الشرب المعبأة.

٤- دراسة تعديل المواصفة القياسية العراقية لمياه الشرب المعبأة بالاستدلال على نتائج هذا البحث وبقية البحوث في العراق.

المواد وطرائق العمل

١. تصميم الدراسة وجمع النماذج:-

دراسة مقطعية في مدينة بغداد شملت ١٥٣ عينة من مياه الشرب المعبأة جمعت من مناطق مختلفة من بغداد بجانبيها الكرخ والرصافة (الاعظمية، الحسينية، الشعب، بغداد الجديدة ، علاوي جميلة، باب المعظم، العطيفية، حي العامل، المنصور، كرادة (خارج وداخل)، الصليخ، شارع فلسطين، شارع المغرب، الوزيرية، راغبة خاتون، ساحة الاندلس، مدينة الصدر، معسكر الرشيد، شارع ٥٢، سبع ابكار، العامرية، القاهرة) للمدة من ٢٠١٢/٢/٩ الى ٢٠١٢/٧/٢٥، أخذت النماذج من محلات نظامية (أسواق ومحلات بيع المواد الغذائية) ومن محلات غير نظامية واكشاك تعرض هذه المنتجات على الارض أو على عربات أو باعة متجولين وراجلين في شوارع بغداد وأعدت استمارات استبيانية خاصة تتضمن

معلومات عن اسم المنتج والعلامة التجارية وحجم العبوة وبلد المنشأ والشركة المصنعة وتاريخ النفاد والانتاج ومكان سحب النماذج ومعلومات اخرى (ملحق رقم ANN11) تملأ من قبل فريق جمع النماذج (قسم الرقابة الصحية / دائرة الصحة العامة) ويبدأ العمل المختبري حال إستلام العينات في مختبرات معهد بحوث التغذية حيث تجرى الفحوصات البكتريولوجية والكيمياوية فيما يرسل نوع العينات ذاته الى وزارة التخطيط/ الجهاز المركزي للتقيس والسيطرة النوعية/ دائرة السيطرة النوعية لإجراء الفحوصات الفيزياوية.

تم جمع نتائج كافة بيانات وفحوصات الدراسةفي سجلات خاصة والكترونياً في معهد بحوث التغذية (وحدة البحث والتطوير والدراسات ووحدة الاحصاء) وإستخدمت الحزم الاحصائية (Excel worksheet, SPSS) لتحليل النتائج وتحويل البيانات الى نسب ومخططات بيانية لاغراض توضيح نتائج الدراسة.

٢. التحري عن تلوث النماذج بالبكتريا وحسب المواصفات العراقية والعالمية:-

٢-١ الفحوصات البكتريولوجية:-

٢-١-١ حساب العدد الكلي للبكتريا (Total viable count):-

طريقة عد مستعمرات الاحياء المجهرية بالزرع على الوسط الزرعي Nutrient Agar بإستخدام ISO 6222[٦]

نستخدم طريقة الصب (ISO 8199) [٧] بوضع حجم من العينة على أن لايزيد عن ٢ملليتر في طبق زرعي فارغ ومعقم ويضاف له ١٥-٢٠ملليتر من الوسط الزرعي (Yeast extract agar)

(مذوب بدرجة حرارة ٤٥°م بإستخدام حمام مائي) ويمزج بعناية وبرفق ويترك الوسط الزرعي ليتصلب على أن لايتجاوز وقت إضافة الوسط الزرعي الى العينة ١٥دقيقة، وتزرع العينة على طبقين ويحضن الطبق الاول بدرجة ٣٧°م لمدة ٤٠-٤٨ساعة والثاني بدرجة ٢٢°م لمدة ٦٤-٧٢ساعة.

تفحص الاطباق حال اخراجها من الحاضنة وفي حال عدم امكان فحصها مباشرة تحفظ بدرجة ٢-٨°م وتفحص خلال ٤٨ساعة،يرفض اي طبق اذا كان النمو غزيراً ومتراكما.

تعد المستعمرات لكل درجة حرارة حضن ويحسب عدد المستعمرات في ١ملليتر من العينة وعند عدم وجود نمو في الحجم المفحوص (غير المخفف) تعد النتيجة خالية من النمو في ١ملليتر من الماء وعند تجاوز العدد ٣٠٠ مستعمرة في التخفيف الاعلى تعد النتيجة اكثر من ٣٠٠ مستعمرة او حوالي ٣٠٠ مستعمرة.

٢-١-٢ الكشف والعد لبكتريا القولون والقولون البرازية (*Escherichia coli* and *coliform* bacteria):-

باستخدام ISO 9308-1[٨] الجزء الاول: طريقة الترشيح الغشائي

تستخدم منظومة كاملة (Manifolds pump Filter Holder) نوع (Sartorius) لتشخيص البكتريا الملوثة للمياه وهذا الجهاز مؤلف من ثلاثة اوعية معدنية محكمة الغلق سعة ٥٠٠ملليتر (بالامكان اضافة الحجم المطلوب فحصه وحسب العلامات المؤشرة داخل كل وعاء) وتركب على قاعدة مهيأة لوضع المرشح ((Filter) ويوجد تحت هذه القاعدة فتحة تؤدي الى انبوب لسحب المياه بواسطة مضخة وكما موضح في ملحق رقم ANN1

يرشح ٢٥٠ ملليتر من المياه المعبأة على ورقة ترشيح بنفاذية 0.45 µ مايكروميتر ويوضع الغشاء الترشيحي على الوسط الزرعي (Lactose TTC Agar) وتحضن بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ساعة (من الممكن تشخيص المستعمرات بعد ٤٨ساعة وخصوصاً في حالة عدم نمو مستعمرات مثالية في ٢٤ساعة وبالامكان استخدام غشاء ترشيح ثان للزرع لمدة ٤٨ساعة).

تشخص وتعد المستعمرات الموجبة (المحمرة للاكتوز) بدون اخذ حجم المستعمرة بنظر الاعتبار ويظهر اللون الاصفر في الوسط الزرعي وكما موضح في الصورة على اليمين ملحق رقم ANN2.

يعاد زرع المستعمرات كافة او في الاقل ١٠مستعمرات على الوسط الزرعي Tryptone Soy Agar (TSA) وعلى الوسط الزرعي Tryptophan Broth لاجراء فحص الاوكسيديز والاندول.

يجرى فحص الاوكسيديز من المستعمرات النامية على الوسط الزرعي TSA المحضن بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ساعة.

اما الوسط الزرعي Tryptophan Broth فيحضن في درجة ٤٤°م لمدة ٢٤ساعة ثم يجرى فحص الاندول باضافة ٠،٢ ملليتر من كاشف الكوفاك Kovoc's reagent وظهور اللون الاحمر الكرزي على السطح يؤكد انتاج الاندول.

تحسب المستعمرات سالبة الاوكسيديز على أنها بكتريا القولون.

تحسب المستعمرات سالبة الاوكسيديز وموجبة الاندول على انها بكتريا القولون البرازية *Escherichia coli*

٢-١-٣ الكشف والعد لبكتريا الانتيروكوكاي المعوية (Intestinal *Enterococci*):-

بإستخدام ISO 7899-2 الجزء الثاني: طريقة الترشيح الغشائي[٩]

يفضل اجراء الفحص مباشرة بعد أخذ العينة وبالامكان اجراء الفحص خلال ٢٤ساعة في حالة حفظ النموذج بدرجة ٥°م.

يرشح ٢٥٠ملليتر على ورقة الترشيح بحجم 0.45 µ مايكروميتر ويوضع الغشاء المرشح على الوسط الزرعي Slanetz and Bartley Agar ويحضن بدرجة ٣٧°م لمدة ٤٨ساعة.

تعد كافة المستعمرات المرتفعة والتي تكون بلون احمر او وردي في المركز أو كل المستعمرة على أنها مستعمرة مثالية وكما تظهر في الصورة على اليسار في الملحق رقم ANN3.

ينقل الغشاء المرشح الحاوي على المستعمرات المثالية بملقط معقم بدون ان يقلب ويوضع على الوسط الزرعي Bile-Aesculin-Azide Agar والذي يعاد تسخينه الى درجة ٤٤°م قبل وضع الغشاء ويحضن بدرجة ٤٤°م لمدة ساعتين وتقرأ النتائج بعدها مباشرة.

كل المستعمرات المحاطة بلون الدباغة الى الاسود في الوسط الزرعي تعد موجبة وتعد على أنها الانتيروكوكاي المعوية Intestinal *Enterococci* وكما موضحة في الصورة على اليمين في الملحق رقم ANN3.

٤-١-٢ الكشف والعد لبكتريا سيدوموناس ايروجينوسا (*Pseudomonas aeruginosa*)

باستخدام ISO 16266: طريقة الترشيح الغشائي [١٠]

ترشح احجام من نماذج الماء من خلال استخدام الغشاء المرشح السليلوزي الاستر بحجم 0.45 µ مايكروميتر (٢٥٠ملليتر بالنسبة للمياه المعبأة) ويوضع على الوسط الزرعي Pseudomonas agar base/CN-agar والتأكد من عدم حدوث دخول هواء تحت الغشاء وتحضن في درجة ٣٧°م لمدة ٤٠-٤٨ساعة وتفحص الاطباق بعد ٢٤و٤٨ ساعة يحسب عدد المستعمرات الزرقاء المخضرة (Pyocyanin Pigment) على أنها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مؤكدة ويكون شكل البكتريا المذكورة كما في الملحق رقم ANN6

ويفحص الغشاء تحت الاشعة فوق البنفسجية وتحسب كل المستعمرات غير المنتجة لصبغة Pyocyanin والمشعة على أنهامن المحتمل ان تكون *Pseudomonas aeruginosa* وتظهر المستعمرات كما في الصوة العليا في الملحق رقم ANN7 وتؤكد باستخدام الوسط الزرعي Acetamide Broth كما سيوضح لاحقاً وكما تظهر في الصورة السفلى في الملحق رقمANN7.

تحسب كل المستعمرات ذات الصبغة البنية المحمرة والتي لا تكون مشعة على أنها محتمل ان تكون *Pseudomonas aeruginosa* وتؤكد باستخدام فحص Oxidase test , Acetamide Broth, King's B media وكما موضح في الجدول أدناه.

Table 1 — Steps required for the confirmation of colonies growing on CN agar

Description of colony on CN agar	Ammonia from acetamide	Production of oxidase	Fluorescence on King's B	Confirmed as *Pseudomonas aeruginosa*
Blue/green	NT[a]	NT	NT	Yes
Fluorescent (not blue/green)	+	NT	NT	Yes
Reddish brown	+	+	+	Yes
Other types	NT	NT	NT	No

[a] NT: not tested.

توكيد التشخيص:

١- استخدام الوسط الزرعي Nutrient Agar

يعاد زرع كافة المستعمرات او اكثر المستعمرات التي تحتاج الى توكيد وتؤخذ من المرشح الغشائي على هذا الوسط الزرعي وتحضن لمدة ٢٤ساعة بدرجة ٣٧°م، تفحص نقائية المستعمرات ويجرى للمستعمرات البنية المحمرة فحص الاوكسيديز Oxidase .

٢- فحص الاوكسيديز

توضع ٢-٣ قطرة من كاشف الاوكسيديز على ورقة ترشيح موضوعة في طبق زرعي وبإستخدام حلقة معدن البلاتينيوم (ليس معدن الكروم)او بلاستك او عصا زجاجية ونأخذ جزءا من المستعمرة ويوضع على ورقة الترشيح الحاوية على الكاشف (Tetramethyl-p-Phenylenediamine dihydrochloride) وعند ظهور اللون الازرق البنفسجي الغامق خلال ١٠ثوان يعد الفحص موجبا.

٣- King's B medium

تزرع المستعمرات البنية المحمرة والموجبة لفحص الاوكسيديز على هذا الوسط الزرعي ويحضن بدرجة ٣٧°م حتى ٥أيام ويفحص النمو تحت الاشعة فوق البنفسجية يومياً لملاحظة اشعاع Fluorescence ويسجل اي إشعاع ناتج على انه نتيجة موجبة.

٤- Acetamide Broth

يطعم الوسط الزرعي بمستعمرة من الوسط الزرعي Nutrient Agar ذات اللون البني المحمر وتحضن بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ساعة ثم تضاف ١-٢قطرة من كاشف النسلر Nessler reagent ويفحص بإنتاج الامونيا والتي تتميز بتغير اللون من الاصفر الى القرميد الاحمر وحسب التركيز.

وتحسب المستعمرات الزرقاء المخضرة (Pyocyanin) أو الموجبة الاوكسيديز والمشعة Fluorescence والقادرة على انتاج الامونيا من Acetamide على أنها *Pseudomonas aeruginosa* مؤكدة

وحسب المعادلة التالية: $P+F(cF/nF)+R(cR/nR)$ ولذلك الحجم المفحوص

P: عدد مستعمرات الزرقاء المخضرة والتي تعد جميعها مؤكدة التشخيص

F: عدد مستعمرات المشعة Fluorescent

R: عدد مستعمرات البنية المحمرة

*n*F: عدد مستعمرات المشعة Fluorescent والتي فحصت للكشف عن انتاجها الامونيا

*c*F: عدد مستعمرات المشعة Fluorescent وكانت موجبة لفحص الامونيا

*n*R: عدد مستعمرات البنية المحمرة والتي فحصت للكشف عن انتاج الامونيا والاوكسيديز وفحص الاشعاع على الوسط الزرعي King's B

*c*R: *عدد مستعمرات البنية المحمرة والتي كانت موجبة لفحص الامونيا والاوكسيديز والمشعة على الوسط الزرعي* King's B

٢-١-٥ الكشف والعد لسبورات بكتريا الكلوستريديوم اللاهوائية المختزلة للسلفايت .: Spore of sulfite-reducing anaerobic (*clostridia*)

بإستخدام ISO 6461-2 الجزء الثاني: طريقة الترشيح الغشائي [١١]

تؤخذ عينة الماء وتوضع في حمام مائي بدرجة ٧٠-٨٠°م لمدة ١٥ دقيقة من وصول درجة الحرارة الى الدرجة المطلوبة مع استخدام قنينة مشابهة حاوية على الحجم ذاته من الماء كعينة مقارنة بصورة دورية للتحقق من وقت التسخين اللازم.

يستخدم في هذه الطريقة ١٠٠ملليتر ماء للانموذج (وذلك لان الانموذج المفحوص هو ماء شرب بينما يستخدم حجم ١٠ملليتر من عينة المياه الملوثة) ويستخدم مرشح بحجم 0.2 µ مايكروميتر ويرشح ١٠٠ملليتر على مرشح غشائي بحجم 0.2 µ وبعد الترشيح نرفع الغشاء المرشح باستخدام ملقط معقم ويوضع وجهه على قعر طبق زرعي ويجب التأكد من عدم حدوث فقاعات هوائية تحت الغشاء ثم يصب بعناية ١٨ملليتر من الوسط الزرعي Tryptose-Sulfite Agar المميع والمبرد بدرجة ٥٠°م فوق الغشاء مع ابقاء الغشاء ممسوكا بالملقط المعقم وبعد ثبات وضع الوسط الزرعي يحضن بدرجة ٣٧°م لاهوائياً لمدة ١٦-٢٤ساعة و٤٠-٤٨ساعة وفي حال استخدام الجرة اللاهوائية او الحاضنة اللاهوائية بالامكان وضع المرشح الغشائي على سطح الوسط الزرعي، تحسب كل المستعمرات السوداء اللون بعد فترتي الحضن المذكورة اعلاه.

٢-١-٦ الكشف والعد لبكتريا القولون وبكتريا القولون المحتملة الحرارة واحتمال تواجد بكتريا القولون البرازية:-

(*coliform* organisms, thermotolerant *coliform* organism and presumptive *Escherichia coli* -

بإستخدام ISO 9308-2 الجزء الثاني: طريقة العد الاكثر احتمالية[١٢]

تحضر تخافيف مختلفة وتزرع بالكميات المحددة حسب ISO 8199 [٧] في الوسط العازل، وفي حال فحص عينة بحجم ١مل أو أقل تضاف الى الوسط الزرعي مفرد التركيز وفي حالة استخدام عينات بحجم ١-٥٠مل تضاف الى الحجم ذاته في الوسط مضاعف التركيز وفي حالة استخدام عينات بحجم أكثر من ٥٠مللتر ممكن ان نستخدم تراكيز أعلى في الوسط الزرعي.

وفي حال وجود تراكيز عالية من المواد غير العضوية لا يمكن استخدام هذه الطريقة ويجب اللجوء الى طريقة الترشيح بالغشاء).

تستخدم الجداول الاتية وحسب كمية التلوث وبما ان المياه المستخدمة هي مياه معبأة فان افضل جدول يمكن تطبقية هو جدول رقم ٢ حسب ISO 8199 [٧]

الجدول رقم (2)

Number of tubes giving reaction a positive reaction		MPN Index/100mL	95% confidence limits	
1 of 50ml	5 of 10ml		Lower	Upper
0	0	<1		
0	1	1	<1	4
0	2	2	<1	6
0	3	4	<1	11
0	4	5	1	13
0	5	7	2	17
1	0	2	<1	6
1	1	3	<1	9
1	2	6	1	15
1	3	9	2	21
1	4	16	4	40
1	5	>18		

تحضن الانابيب المزروعة لمدة ٤٨ساعة بدرجة حرارة ٣٥ أو٣٧°م .

تفحص الانابيب المزروعة بعد ١٨- ٢٤ساعة وتعد النتيجة موجبة اذا ظهرت عكورة نتيجة لنمو البكتريا وظهور غاز في انبوب درهم مع انتاج حامض في حال وجود كاشف للحامضية، ويعاد حضن الانابيب التي لا تكون موجبة لاي او كل التغيرات المذكورة وتفحص بعد ٤٨ساعة.

تعد النتائج الموجبة في الوسط العازل على إفتراض انها *Coliform* لذا يجب اجراء الفحوصات التوكيدية ومن المفضل اخذ زرعة نقية لاجراء الفحص التوكيدي.

تجرى زرعة جديدة من كل انبوب أعطى نتيجة موجبة ونزرع في انبوب أو اكثر من الوسط التوكيدي للكشف عن وجود غاز وانتاج الاندول.

ملاحظة: عند استخدام الوسط الزرعي المانع (Lactose Broth) نعيد الزرع على احد الاوساط الزرعية التوكيدية الانتخابية EC broth or Brilliant Green Lactose (Bile) Broth لتوكيد التشخيص.

بكتريا القولون

لتوكيد وجود بكتريا القولون نحضن انبوبا واحدا من الوسط Brilliant Green Lactose (Bile) Broth بدرجة ٣٥°م او ٣٧°م ونفحص بعدها اذا كانت البكتريا منتجة للغاز خلال ٤٨ ساعة وكما موضح في الصورة العليا ملحق رقم ANN4.

بكتريا القولون المحتملة الحرارة وبكتريا القولون البرازية الافتراضية:

لتوكيد تشخيص بكتريا القولون المحتملة للحرارة نزرع انبوبا اخر من وسط EC medium بدرجة حرارة ٤٤°م لمدة ٢٤ساعة ونفحص انتاج البكتريا للغاز واصدارها الوميض بعدتسليط الاشعة فوق البنفسجية وكما موضح في الصورتين السفليين ملحق رقم ANN4 [١٣]

لتوكيد تشخيص بكتريا القولون البرازية الافتراضية نحضن انبوب الوسط الزرعي Tryptone water وتفحص فيما اذا كانت البكتريا منتجة للاندول بدرجة ٤٤°م لمدة ٢٤ساعة ثم نضيف ٠،٢مللتر الى ٠،٣مللتر من كاشف الكوفاكس الى انبوب Tryptone water وظهور لون احمر بعد تحريك الانبوب بلطف ويعني وجود الاندول.

ملاحظة: استخدام الوسط Lauryl Tryptose Mannitol Broth مع Tryptophan يؤدي الى انتاج غاز والاندول من بكتريا القولون البرازية الافتراضية وتلاحظ في انبوب واحد.

ملاحظة: وجود بكتريا القولون البرازية الافتراضية يعد دليلا مقنعا للتلوث بالبراز وبالامكان اجراء فحوصات اخرى لتوكيد تشخيص بكتريا القولون البرازية اذا تطلبت الضرورة.

ملاحظة: عند اعادة زرع المستعمرات من الغشاء المرشح على انابيب الاختبار الحاوية على الوسط التوكيدي فمن المفضل اعادة الزرع على الوسط الزرعي الصلب Nutrient Agar لاجراء فحص الاوكسيديز.

فحص الاوكسيديز: بعض البكتريا الموجودة بالماء قد تطابق تعاريف بكتريا القولون بجوانب عديدة ولكن بمقدورها انتاج غاز من اللاكتوز فقط بدرجة حرارة اقل من ٣٧°م ولهذا فانها تعطي نتائج سالبة باستخدام الفحوصات التوكيدية المثالية لبكتريا القولون وان وجودها في الماء لا يعد ذا مغزى.

نوع *Aeromonas* species الموجودة بشكل طبيعي في الماء تتداخل في التشخيص وفقط في درجة حرارة ٣٧°م ودونها لهذا فان فحص الاوكسيديز التوكيدي نحتاجه فقط لتشخيص بكتريا القولون.

٢-١-٧ تشخيص بكتريا سيدوموناس ايروجينوسا *Pseudomonas aeruginosa* بطريقة تقنية الانابيب المتعددة:- (١٤)

الفحص الافتراضي: تحضر ثلاثة انابيب للفحص نستعمل ١٠مللتر من الوسط الزرعي Single Strength Asparagine Broth لزرع ١ مللتر او اقل. وتستخدم ١٠مللتر من Double Strength Asparagine Broth لزرع ١٠ مللتر من العينة ويطبق الجدول رقم 2 حسب ISO 8199 (٧) لقراءة النتائج.

الجدول رقم (١)

Number of tubes giving reaction			MPN Index/100Ml	95% confidence limits	
3 of 10ml	3 of 1ml	3 of 0.1ml		Lower	Upper
0	0	1	3	<1	9
0	1	0	3	<1	13
1	0	0	4	<1	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130
3	0	2	64	15	379
3	1	0	48	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1 300
3	3	1	460	71	2 400
3	3	2	1 100	150	4 800

تحضن الانابيب بدرجة ٣٥-٣٧°م وبعد ٢٤ ساعة و٤٨ ساعة وتفحص تحت الاشعة فوق البنفسجية من نوع long-wave ultraviolet light (الضوء الاسود) وفي غرفة مظلمة، انتاج ضوء اخضر وامض تكون نتيجة افتراضية موجبة ويكون شكل الوميض كما في الملحق رقم ANN8.

الفحص التوكيدي: تزرع ١،٠مللتر من الانابيب Asparagine Broth التي اظهرت نتائج موجبة بفحص الاشعة فوق البنفسجية في الوسط الزرعي Acetamide Broth او على سطح الوسط الزرعي acetamide agar slants ، ظهور لون بنفسجي (وسط قاعدي) خلال ٢٤-٣٦ ساعة بدرجة حرارة ٣٥-٣٧°م تؤكد التشخيص على ان البكتريا هي *Pseudomonas aeruginosa*

٢-١-٨ تشخيص بكتريا المكورات المسبحية البرازية ومجموعة المكورات المعوية بطريقة تقنية الانابيب المتعددة Fecal *Streptococcus* and *Enterococcus* Groups:-[١٤و١٥]

الفحص الافتراضي: تزرع سلسلة من الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي Azide Dextrose Broth بكمية مناسبة ومتدرجة الحجم من عينة الماء، ونستخدم عينات بحجم ١٠مل أو اقل.

تستخدم وسط مضاعف التركيز لزرع عينة ١٠مل من الماء وتكون المواد المستخدمة مختلفة الحجم والعدد وحسب صفة النموذج وتستخدم رقما ذا كسر عشري أو مئوي مضاعف ١مل (وتكون بأخذ اكبر حجم يؤدي الى ظهور غاز في بعض او كل الانابيب الحاوية على السكريات المستخدمة واصغر حجم من العينة والتي يؤدي الى عدم انتاج غاز في كل هذه الانابيب او اكثرها).

تحضر ثلاثة انابيب بتركيز محدد من الوسط الزرعي Single Strength Azide Dextrose Broth لزرع ١مللتر أو اقل ونستخدم ١٠مللتر من من الوسط الزرعي Double Strength Azide Dextrose Broth لزرع ١٠مللتر من العينة.

وتطبيق الجدول رقم ٢ حسب ISO 8199[٧] لقراءة النتائج.

الجدول رقم (٢)

Number of tubes giving reaction			MPN Index/100mL	95% confidence limits	
3 of 10ml	3 of 1ml	3 of 0.1ml		Lower	Upper
0	0	1	3	<1	9
0	1	0	3	<1	13
1	0	0	4	<1	20
1	0	1	7	1	21
1	1	0	7	1	23
1	1	1	11	3	36
1	2	0	11	3	36
2	0	0	9	1	36
2	0	1	14	3	37
2	1	0	15	3	44
2	1	1	20	7	89
2	2	0	21	4	47
2	2	1	28	10	149
3	0	0	23	4	120
3	0	1	39	7	130

3	0	2	64	15	379
3	1	0	48	7	210
3	1	1	75	14	230
3	1	2	120	30	380
3	2	0	93	15	380
3	2	1	150	30	440
3	2	2	210	35	470
3	3	0	240	36	1 300
3	3	1	460	71	2 400
3	3	2	1 100	150	4 800

تحضن الانابيب بدرجة ٣٥درجة مئوية ويفحص بعد ٢٤ساعة لوجود العكرة وفي حالة عدم وجود العكرة من الوسط الزرعي يعاد الزرع ويقرأ بعد ٤٨ساعة.

الفحص التوكيدي: تؤخذ جميع الانابيب الموجبة من الخطوة السابقة (الفحص الافتراضي) الى الفحص التوكيدي وتزرع النماذج الموجبة على الوسط الزرعيPfizer Selective Enterococcus Agar (PSE agar) ويحضن بشكل مقلوب بدرجة ٣٥درجة مئوية لمدة ٢٤ساعة.

المستعمرات السوداء البنية والمحاطة بهالة بنية تؤكد وجود بكتريا (Fecal *Streptococcus*) المكورات المسبحية البرازية.

ويمكن أن تؤخذ هذه المستعمرات وتزرع على الوسط الزرعي Brain Heart Infusion Broth الحاوي على ٦،٥% من كلوريد الصوديوم وفي حالة حدوث نمو بدرجة حرارة ٤٥درجة مئوية تشير إلى أن المستعمرات تنتمي الى *Enterococcus* Group.

٢-١-٩ تشخيص عائلة الانتريوبكتريسي باستخدام عدة (Microbact-Oxoid)

استخدم هذا الفحص لتوكيد تشخيص بكتريا القولون وبكتريا السيدوموناس ايروجينوسا المعزولة بالطرق المذكورة اعلاه ويتم الفحص بأخذ ٢-٣مستعمرة نقية وتمزج مع ٥ مل ماء ملحي (٠،٨٥% كلوريد الصوديوم)، ويؤخذ ١٠٠مايكروليتر وتوضح في كل ٢٤حفرة (لكل حفرة تمثل فحص كيموحيوي) ويضاف الى بعض الحفر زيت خاص لتشجيع النمو اللاهوائي وتحضن بدرجة ٣٧درجة مئوية لمدة ١٨-٢٤ساعة وتقرأ بعد اضافة الكواشف لبعض الحفر وحسب الدليل الاسترشادي للعدة وتقرأ بموجب قرص خاص على جهاز الحاسوب ويكون شكل الحفر في الطبق كما موضح في الملحق رقم ANN9.

٢-٢ الفحوصات الكيمياوية:-

٢-٢-١ تقدير النترات (Nitrate):- [١٦،١٧]

يؤخذ ٥٠ملليتر من عينة الماء وتضاف له حامض الهايدروكلوريك (IN Hcl) (يمنع تداخل أيون الهيدوكسيد والكاربونات مع الايونات الاخرى) ويقرأ تركيز النايتروجين على طول موجي ٢٢٠نانوميتر وعلى طول موجي ٢٧٥نانوميتر (لمنع تداخل المواد العضوية مع قراءة النترات)

بعد أن يعمل منحنى قياسي للنايتروجين (يحضر ١٠٠جزء من المليون من النايتروجين وذلك بإذابة ٠،٧٢١٨غم من Anhydrous Potassium Nitrate (KNo_3) في لتر من الماء المقطر ومنه يحضر ١٠جزء من المليون ومنه يحضر ١،٢،٣،٥جزء من المليون بعد اضافة 1N Hcl الى كل واحد منها وتقرأ على طول موجي ٢٢٠نانوميتر فقط)

وذلك لقراءة تركيز النايتروجين وحسب قراءات الامتصاص بجهاز الطيف الضوئي (المحنى القياسي)

ويتم حساب النترات المعادلة الاتية:

$$\text{النترات جزء من المليون} = \frac{\text{تركيز النايتروجين من المنحنى القياسي X الوزن الذري للنترات(٦٤)}}{\text{الوزن الذري للنايتروجين (١٤)}}$$

٢-٢-٢ تقدير الكلورايد (Chloride بطريقة موهر :- [١٦،١٧]

نأخذ ٥٠ملليتر من عينة الماء وتوضع في دورق زجاجي ويضاف لها بضع قطرات من دليل كرومات البوتاسيوم ويسحح مع 0.0141M نترات الفضة القياسي (المعاير مع 0.0141M كلوريد الصوديوم القياسي) الى ان يتغير اللون من الاصفر الى الاصفر المحمر.

(يتفاعل الكلورايد مع نترات الفضة ويكون كلوريد الفضة الذي يكون بشكل راسب ابيض والزيادة من مادة نترات الفضة تتفاعل مع دليل كرومات البوتاسيوم وتتكون كرومات الفضة ذات اللون الاحمر.

مع المقارنة باستخدام عينة من الماء المقطر Blank بالطريقة السابقة ذاتها.

ويتم حساب الكلورايد بالمعادلة الاتية:

$$\text{الكلورايد مغم/ لتر} = \frac{\text{حجم المادة المسحة للعينة- حجم المادة المسحة BLANK X العيارية X الوزن الذري للكلورايد (٣٥،٤٦) X ١٠٠٠}}{\text{حجم العينة}}$$

٢-٢-٣ تقدير التوصلية الكهربائية (Electric Conductivity): [١٦،١٧]

٢ نأخذ كمية من الماء وتقرأ التوصيلية الكهربائية مباشرة بعد معايرة الجهاز (EC- 214) بمحاليل قياسية للتوصيلة الكهربائية مثل ٨٤ و ١٤١٢ميكروسيمنس/ سم

٢-٢-٤ قياس الدالة الحامضية (PH Meter):- [١٦،١٧]

نأخذ كمية من الماء ونقيس الدالة الحامضية باستخدام جهاز PH Meter بعد معايرته باستخدام المحاليل القياسية للدالة الحامضية (٤و٧و٩).

٢-٢-٥ تعيين الفوسفات بالطريقة اللونية:- [١٦،١٧]

نأخذ ١٠٠ملليتر من عينة الماء ونضيف لها ١٠ملليتر من ٣٠% حامض الكبريتيك (H_2So_4) ويسخن الى درجة الغليان لمدة نصف ساعة (تحسب من درجة الغليان) وتبرد العينة ويضاف لها ١٠ملليتر من محلول مولبيدات الامونيوم ثم يضاف لها ٤ملليتر من محلول حامض امينونافثول سلفونيك ويكمل الحجم الى ١٠٠ملليتر بالماء المقطر (نتيجة الغليان) وتقرأ بعد مرور ١٠دقائق لاكمال التفاعل وثبات المكونات على طول موجي ٦٥٠نانوميتر.

يحضر المحلول القياسي باذابة ٠،٧١٦غم من بوتاسيوم داي هيدروجين فوسفيت(KH_2Po_4) في لتر من الماء المقطر (تركيز محلول الفوسفات ٥٠مغم/لتر) ، ويحضر محلول وسطي قياسي تركيز ١٠مغم/ لتر ومنه يحضر المنحنى القياسي بالتراكيز ٠،٥، ١، ١،٥، ٢مغم/لتر ومن ثم تعامل معاملة عينة الفحص وذلك باضافة الحجوم ذاتها من كل من محلول مولبيدات الامونيوم وحامض الامينونافثول سلفونيك ويكمل الحجم الى ١٠٠ملليتر من الماء المقطر وتقرأ جميع العينات معاً على نفس درجات الحرارة والطول الموجي ٦٥٠نانوميتر في جهاز Spectrophotometer

وتحسب النتائج وكما يلي:

الفوسفات مغم /لتر = تركيز العينة من المنحنى القياسي X ١٠٠٠ / حجم العينة بالملليتر

٢-٢-٦ تعيين الكبريتات بطريقة الترسيب:- [١٦،١٧]

يؤخذ ١٠٠ملليتر من عينة الماء ونضيف لها ٢ملليتر من حامض الهايدروكلوريك(IWater:IHcl) ويسخن المحلول الى درجة الغليان ويضاف له وهو يغلي وببطء محلول كلوريد الباريوم (تركيز١٠%) مع التحريك لمدة ساعتين ثم يرشح ويغسل الراسب بالماء المقطر الساخن (يختبر الراشح بخلوه من الكلوريد

باستخدام نترات الفضة) وينقل الراسب الموجود على ورقة الترشيح في بودقة معلومة الوزن وتحرق وتوضع في فرن على درجة ٦٠٠م درجة مئوية ويوزن الراسب وتحسب الكبريتات كما يلي:

الكبريتات مغم / لتر = وزن الراسب على شكل كبريتات الباريوم X العامل ٤١،١٥ / حجم العينة

٢-٢-٧ تعيين الكالسيوم بطريقة التسحيح:-[١٦،١٧]

يؤخذ ٥٠مل من عينة الماء ويضاف لها ٢ملليتر من IN NaoH مع بضع قطرات من دليل الميروكسيد (بريرات الامونيوم) ويسحح مع 0.01M EDTA (المعايرة مع $0.01M\ CaCo_3$) الى ان يتغير اللون من الاحمر الى البنفسجي الفاتح.

عند اضافة مادة EDTA الى الماء المحتوي على الكالسيوم والمغنسيوم اذا كان الرقم الهيدروجيني عاليا تتحد مادة EDTAمع الكالسيوم اولاً ومن ثم يترسب المغنسيوم على شكل هايدروكسيد المغنسيوم بعد تفاعله مع هايدروكسيد الصوديوم.

المقارنة باستخدام عينة من الماء المقطر Blank بالطريقة السابقة ذاتها.

ويتم حساب الكالسيوم بالمعادلة الاتية:

الكالسيوم مغم/ لتر = حجم المادة المسحة من EDTA X المولارية X الوزن المكافئ للكالسيوم (٢٠) X١٠٠٠ / حجم العينة

٢-٢-٨ الكشف عن المواد الصلبة الذائبة الكلية (Total Dissolve Solid) بطريقة التبخير:- [١٨]

يؤخذ ١٠٠ملليتر من الماء في بيكر (معلوم الوزن) ويبخر على درجة١٨٠°م درجة مئوية لمدة ساعة الى ان يجف ومن ثم يبرد بواسطة وضعه في دسيكيتر مجفف ثم يحسب الوزن المتبقي في البيكر بميزان حساس وتحسب المواد الصلبة الكلية وكما يلي:

المواد الصلبة الكلية مغم/ لتر = وزن البيكر مع المتبقي من الاملاح- وزن البيكر وهو فارغ X $١٠^{٦}$ / حجم أو وزن العينة

وتم استخدام الطريقة التأكيدية [١١] حيث تقرأ عينة الماء باستخدام جهاز Electric Conductivity ومن ثم تضرب في العامل ٠،٦٤ (نتيجة المواد الصلبة / التوصيلية الكهربائية)

٢-٢-٩ تقدير نسب العناصر المعدنية (Atomic Absorption Spectrometry)[١٩،٢٠،٢٢]

تؤخذ عينة من الماء وتحمض بحامض مخفف (٠،١مولارتي من هيدوكلوريك اسد أو حامض النتريك) ويرشح بواسطة ورقة ترشيح ثم يقاس مباشرة بجهاز طيف الامتصاص الذري وفي الوقت ذاته تحضر محاليل قياسية وحسب العنصر المطلوب قياسه وبعد الحصول على المنحنى القياسي يتم قياس العينة على ضوء المنحنى القياسي وتؤخذ النتيجة مباشرة من الجهاز وحسب مواصفات الجدول الاتي:

Metal	Waveland (nm)	Slit (nm)	Sensitive check (mg/L)	AAS type
Copper	324.8	0.7	2	**Flame, AA Lean /Blue**
Iron	248.3	0.2	2.5	**Flame, AA lean / Blue**
Magnesium	285.2	0.7	0.015	**Flame, AA Lean/ Blue**
Sodium	589	0.2	0.25	**Flame, AA Lean /Blue**
Zinc	213.9	0.7	0.5	**Flame, AA Lean/ Blue**
Lead	283.3	0.7	10	**Furnace AAS**

ملاحظة: إذا كان تركيز العنصر في العينة عاليا فيتم تخفيفه ومن ثم حساب النتيجة النهائية بضربه في معامل التخفيف.

٢-٣ الفحوصات الفيزياوية وماهية مادة أوعية القناني [٢٣][٢٤]:-

٢-٣-١ المظهر

تكون الاوعية منتظمة الشكل وخالية من العيوب الظاهرية التي تؤثر على اداء ومظهر الوعاء كالتكتلات ،الفقاعات والتشققات.

٢-٣-٢ قياس السعة

١. تعين كتلة الوعاء الفارغ في ميزان بدقة ٠،١غرام (وتكون دقة الوزن الى اقرب ٠،١غم للاوعية التي تقل كتلها عن ٥٠غم والى اقرب ٠،٥غم للاوعية التي تزيد كتلها عن ٥٠غم لحد ٢٠٠غم والى اقرب ١غم للاوعية التي تزيد كتلها عن ٢٠٠غم لحد ٥٠٠غم والى اقرب ٥غم للاوعية التي تزيد كتلتها عن ٥٠٠غم لحد ١٠٠٠غم).
٢. يملا الوعاء بماء درجة حرارته ١٥ ± ٣ درجة مئوية الى حد نقطة الطفحان.
٣. تعيين كتلة الوعاء المملوء بالماء ويسجل الفرق في الكتلة بالغرامات ويعبر عن النتيجة كما يلي:

أ الى اقرب ٠،١ غم للاوعية ذات سعة الطفحان الى حد ١٠٠ملليتر

ب الى اقرب ٠،٥غم للاوعية ذات سعة الطفحان تزيد على ١٠٠ملليتر لحد ٥٠٠ ملليتر

ج الى اقرب ١غم للاوعية ذات سعة الطفحان تزيد على ٥٠٠ملليترلحد ١٠٠٠ملليتر

د الى اقرب ٥غم للاوعية ذات سعة الطفحان تزيد على ١لتر لحد ٥ لتر

هـ الى اقرب ١٠غم للاوعية ذات سعة الطفحان تزيد على ٥لتر لحد ١٠لتر

٤. كتلة الماء بالغرامات تساوي عدديا ً سعة الطفحان للوعاء بالمليتر وهي النتيجة النهائية لسعة الوعاء

٧-٣-١ فحص مقاومة التسرب

لا يجوز حدوث أي تسرب لمحتويات الوعاء من خلال السدادة عند فحص النموذج ويفحص بالطريقة الاتية:

يملا الوعاء بالماء الملون بالحبر الى حد سعته الاسمية ويغلق جيدا ً بالغطاء ويقلب الوعاء على ورقة بيضاء لمدة ساعة كاملة ويلاحظ اي تلون للورقة ويعد الوعاء فاشلا ً عند تلون الورقة بماء الحبر.

تؤخذ عينتان من النماذج المأخوذة.

يستعمل الماء الملون بالحبر عند درجة ٢٠-٢٥درجة مئوية.

٤-٣-٢ فحص مقاومة الحمل الرأسي

باستخدام جهاز الفحص Compression tester (IDM-D0003) وذلك عند تسليط حمل مستقر على الوعاء الذي يوضع بصورة عمودية ومركزية في الماكنة ولمدة ساعة واحدة ويلاحظ مدى تشوه الوعاء الذي يؤدي الى تقليل مقاومته او عدم استقراره اثناء التكديس.

٥-٣-٢ فحص مقاومة الصدم

يملأ الوعاء بالماء عند درجة حرارة الغرفة الى حد سعتها الصافية ويغلق جيدا ً وترفع الى ارتفاع ١،٥متر وتترك لتسقط عند ثلاث مناطق تبعد عن بعضها ١٢٠درجة عند خط اتصال الفوهة بالهيكل وثلاث مناطق تبعد عن بعضها ١٢٠ درجة عند خط اتصال القاعدة بالهيكل.

يفحص الوعاء من حيث التسرب والكسر.

٦-٣-٢ ماهية المادة

١. استخدام طريقة التحلل الحراري باستخدام المصباح الغازي [٢٥].

١- نستخدم انبوب زجاجي صغير ونضع فيه ٠,١-٠,٢غم من مادة العبوة المفحوصة ونضع الانبوب بصورة افقية ويسلط لهب المصباح الحراري بسرعة على نهاية الانبوب الحاوية على المادة المفحوصة بحيث تحصل عملية التحلل الحراري.

٢- نستمر بالتسخين عندما يتكثف المادة المتحللة في النهاية الباردة من الانبوب ولحين تتم عملية التقطير.

٣- ننقل قطرات من المادة المستخلصة الى خلية الفحص الملحية باستخدام ماصة شعرية.

٤- نضع فاصل بسمك مناسب (تقريباً ٢٥مايكروميتر) ثم نغلق الصفيحة بصفيحة اخرى من نفس المادة وتفحص بجهاز الطيف الضوئي (بطول موجي للاشعة تحت الحمراء)، تقرأ بطول موجي ٢,٥ الى ١٥ مايكروميتر (FTIR 8400S)

٥- يجب قراءة النتيجة مباشرة بعد عملية التحلل الحراري لتقليل التغير الذي يحصل في النتائج.

٦-يسجل الرسم البياني للنموذج حسب الاعداد الموجبة بين ٤٠٠٠-٦٥٠ شكل المخطط الذي يظهر على جهاز FTIR كما موضح في الملحق رقم ANN10

٢-٣-٧ التأشير

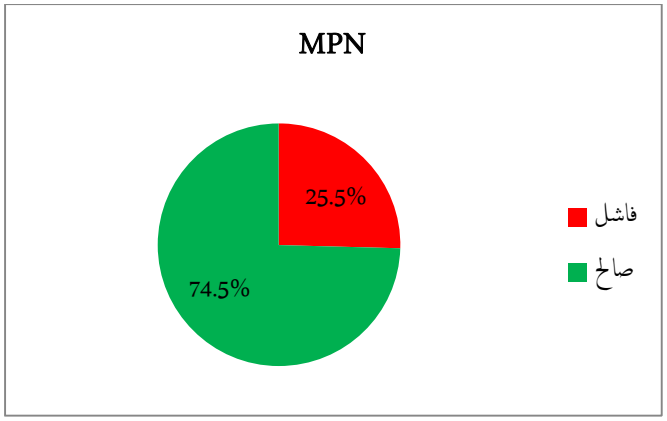
وتتضمن اسم المنتج والعلامة التجارية ، السعة الصافية بالوحدات الدولية، تاريخ الانتاج وتاريخ النفاد، تحذيرات الصحية.

١. نتائج الفحص البكتريولوجي للمياه المعبأة:-

١-١ نتائج الفحص البكتريولوجي وحسب المواصفة العراقية:-

١-١-١ الفحص بطريقة (MPN)

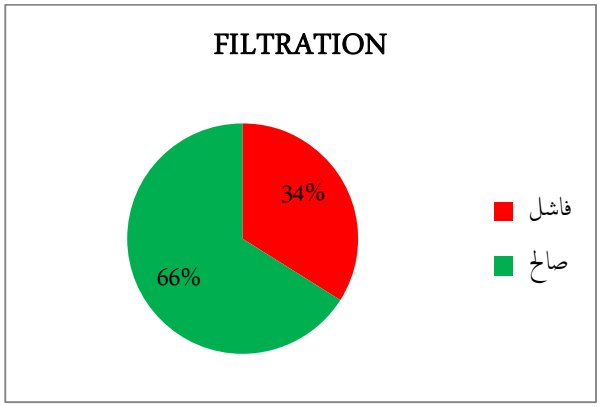
أظهرت نتائج الفحص البكتريولوجي بهذه الطريقة فشل ٤١ عينة من اصل ١٥٣ نموذج مياه معبأة أي بنسبة ٢٥،٥% من النماذج الكلية و حسب المواصفة العراقية وكما موضح في الشكل رقم (١)



الشكل رقم (١) يبين نسبة الفشل البكتريولوجي للمياه المعبأة بطريقة MPN

١-١-٢ الفحص بطريقة (MF)

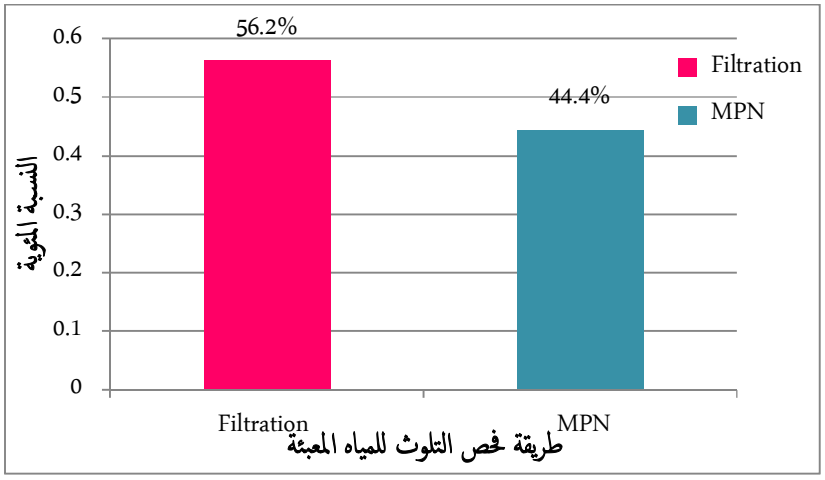
أظهرت نتائج الفحص البكتريولوجي بهذه الطريقة فشل ٥٢ عينة من اصل ١٥٣نموذج مياه معبأة أي أن ٣٤% من النماذج الكلية و حسب المواصفة العراقية وكما في الشكل رقم (٢)



الشكل رقم (٢) يبين نسبة الفشل البكتريولوجي للمياه المعبأة بطريقة MF

٢-١ نتائج التلوث المايكروبي وحسب المواصفات العالمية:-

أظهرت الدراسة نسبة تلوث مايكروبي عال للمياه المعبأة حيث كانت ٥٦،٢% من النماذج ملوثة بطريقة الترشيح ونسبة ٤٤،٤% ملوثة بطريقة MPN مما يبين أن طريقة الترشيح كانت افضل لكشف تلوث المياه عن طريقة MPN بفارق واضح ويدل هذا على حساسية وخصوصية هذا الفحص وكما موضح في الشكل رقم (٣)



الشكل رقم (٣) مخطط بياني يوضح النسبة المئوية لتلوث المياه المعبئة بطريقة الترشيح ومقارنتها بطريقة MPN

عند مقارنة طريقة الترشيح مع طريقة العد الاكثر احتمالية في الكشف عن تلوث المياه المعبأة لوحظ أن هناك نسبة (٩٨،٧%) احتمالية تشخيص التلوث عن طريق (MF) للنماذج الملوثة المشخصة بطريقة (MPN) و بفترة ثقة (٨١،٥-٩٥،١)% وهي نسبة حساسية عالية لهذا الفحص، و هناك نسبة (٧٠،٦%) احتمالية تشخيص النماذج غير الملوثة عن طريق (MF) للنماذج غير الملوثة المشخصة بطريقة (MPN) و بفترة ثقة (٦٤-٧٤،٩)% و هي نسبة خصوصية عالية للفحص بطريقة (MF) وكما هو موضح في الجدول أدناه

جدول يوضح أعداد النماذج الملوثة بطريقتي MF, MPN (الموجبة) والنماذج الغير ملوثة بالطريقتين (السالبة) ومقارنة حساسية وخصوصية كل فحص

MF	MPN			
		+	-	N
	+	٦١	٢٥	٨٦
	-	٧	٦٠	٦٧
	N	٦٨	٨٥	١٥٣
	%٧٠،٦	الخصوصية=	%٩٨،٧	الحساسية=

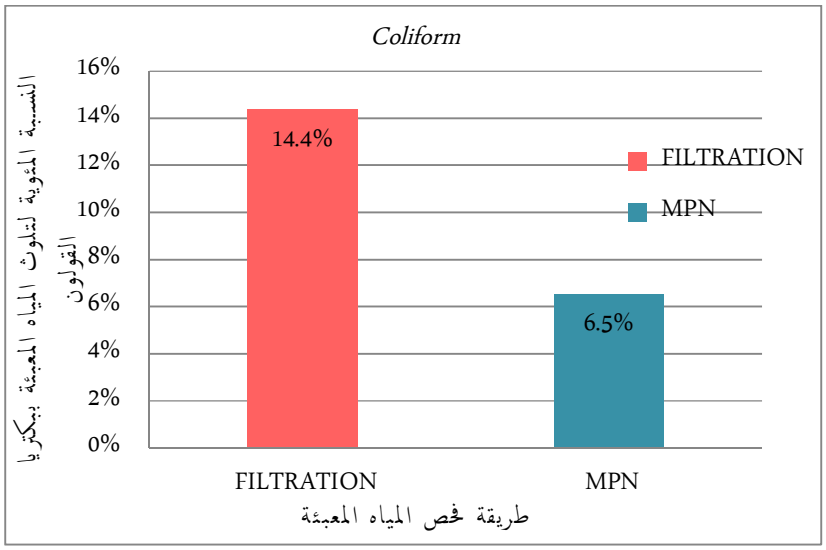
١-٢-١ التلوث ببكتريا القولون

بينت الدراسة ان ١٤،٤% من نماذج المياه المعبأة ملوثة ببكتريا القولون عند فحصها بطريقة الترشيح بينما كانت نسبة ٦،٥% من النماذج ملوثة بهذه البكتريا بعد الكشف عنها بطريقة العد الاكثر احتمالية وكما موضح في الشكل رقم (٤) وبناءً على هذه النتيجة فان طريقة الترشيح اكثر حساسية لتشخيص هذه البكتريا.

ويعزى التلوث بهذه النسبة العالية ببكتريا القولون الى تلوث مستلزمات التعبئة والعاملين في هذه المعامل وعدم تعقيم وتنظيف الادوات والايادي وعدم اتباع الطرق الصحية المتبعة في المعامل، حيث أن هذه البكتريا يكون مصدرها تلوث الادوات والايادي الناتج من عدم نظافة الاشخاص العاملين.

ويعزى ايضاً الفرق الواضح في تشخيص تلوث المياه المعبأة ببكتريا القولون بطريقة الترشيح عن الطريقة الثانية لحجم النموذج المأخوذ بطريقة الترشيح (٢٥٠مل) مقارنة بالحجم المأخوذ بطريقة الانابيب المتعددة (١٠٠مل).

كذلك يعزى الى استخدام الوسط الزرعي Lactose TTC (Tergitol 7) في تشخيص البكتريا بطريقة الترشيح و هو وسط تشخيصي انتقائي وتفريقي لهذه البكتريا ويستخدمعالمياً في تشخيص تلوث المياه[٢٦].



الشكل رقم (٤) مخطط بياني يوضح نسبة التلوث ببكتريا القولون للمياه المعبأة بطريقة الترشيح ومقارنتها بطريقةMPN

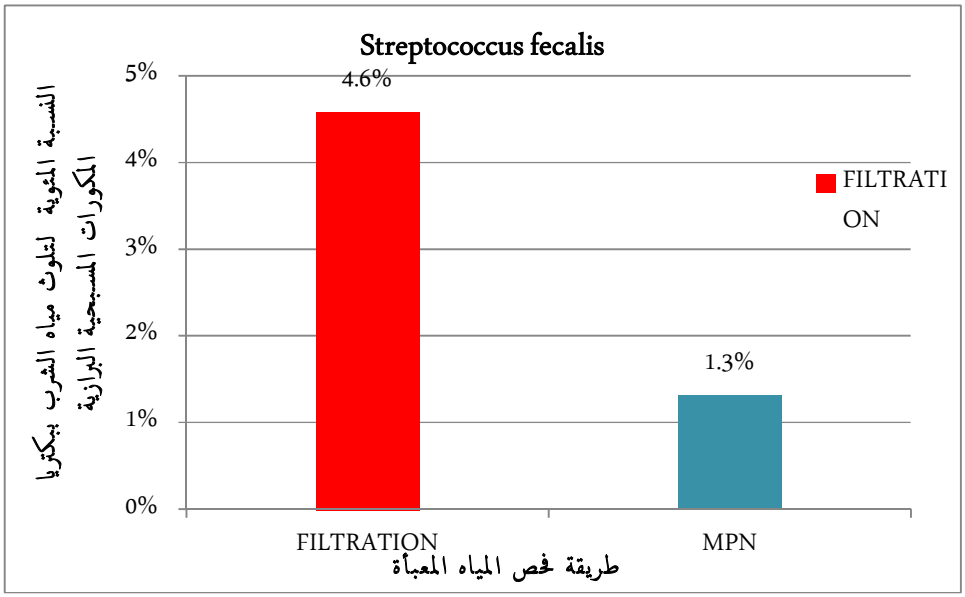
١-٢-٢ التلوث ببكتريا المكورات المسبحية البرازية

أظهرت الدراسة أن ٤٠،٦% من نماذج المياه المعبأه ملوثة ببكتريا المكورات المسبحية البرازية عند فحص هذه المياه بطريقة الترشيح فيما كانت ١،٣ % فقط من هذه النماذج ملوثة بهذه البكتريا عند فحصها بطريقة MPN وهذا يؤكد كذلك بأن طريقة الترشيح هي الافضل في تشخيص هذه البكتريا عن طريقة MPN.

ويعزى هذا التلوث بهذه البكتريا الى الاسباب ذاتها التي ذكرت في تلوث المياه المعبأة ببكتريا القولون.

ويعزى هذا الفرق الواضح في تشخيص تلوث المياه المعبأة بطريقة الترشيح عن طريقة العد الاكثر احتمالية الى السبب ذاته الذي ذكر في الفقرة ١-٢-١ وهو حجم العينة المستخدمة في الطريقتين.

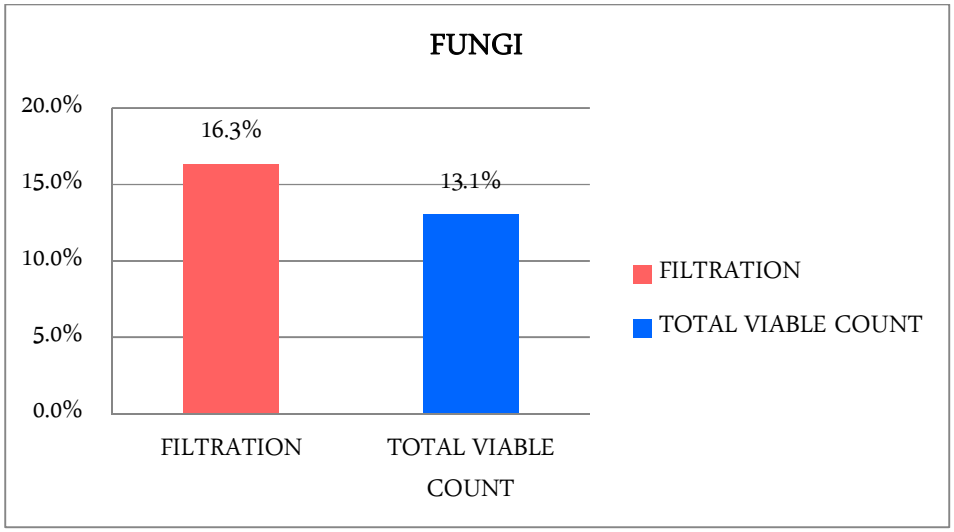
ويعزى كذلك الى استخدام الوسط الزرعي Slanetz and Bartley Agar وهو وسط تشخيصي عالي الانتقائية للمكورات المسبحية البرازية في المياه [٢٧].



الشكل رقم (٥) مخطط بياني يوضح نسبة تلوث المياه المعبأة ببكتريا المكورات المسبحية البرازية بطريقة الترشيح ومقارنتها مع MPN

١-٢-٣ التلوث بالفطريات

عند اجراء فحص العدد الكلي للبكتريا (TVC) الذي يجرى حسب المواصفة العراقية لبيان صلاحية المياه للاستهلاك البشري ظهرتعرضياً وكما في الصور ملحق رقم ANN5 (أن ١٣،١% من نماذج المياه ملوثة بالاعفان وكانت نسبة الاعفان في عند اجراء تشخيص تلوث المياه ببكتريا القولون وسيدوموناس ايروجينوسا بطريقة الترشيح ١٦،٣% وكما موضح في الشكل رقم (٦) وهي نسبة مرتفعة ويعزى السبب بهذا التلوث الى عدم تطبيق الشروط الصحية في معامل تعبئة المياه للمستلزمات والاشخاص [٢٨]

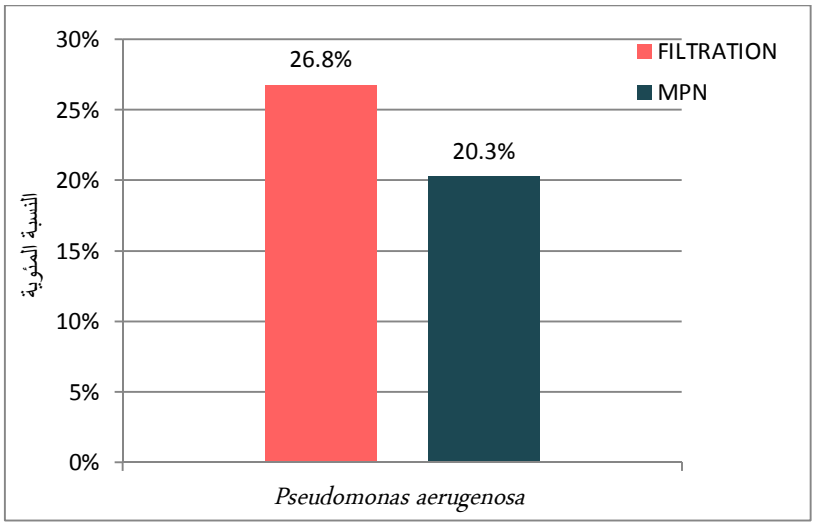


الشكل رقم (٦) مخطط بياني يوضح نسبة تلوث المياه المعبأه بالفطريات

٤-٢-١ التلوث ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا

عند اجراء فحص تلوث المياه المعبأة ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا بطريقتي الترشيح والعد الاكثر احتمالية ظهرت نسبة عالية من التلوث وكما موضح في الشكل رقم (٧) حيث أن ٢٧% من النماذج كانت ملوثه ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا (*Pseudomonas aeruginosa*) شخصت بطريقة الترشيح فيما كانت نسبة التلوث بهذه البكتريا وبطريقة MPN ٢٠% وهذا يؤكد ان حساسية الفحص بطريقة الترشيح لهذه البكتريا افضل من طريقة MPN ويعزى هذا الفرق الى استخدام الوسط الزرعي التفريقي PSEUDOMONAS AGAR BASE/-CN الذي يظهر الاصباغ المشعة والتي تفرزها هذه البكتريا وتشخص باستخدام جهاز UV Light وكذلك يعزى الى صفة هذا الوسط الزرعي في احباط نمو بقية انواع البكتريا[٢٩] .

ونعلل هذا التلوث الى استخدام مياه شرب من شبكة انابيب اسالة الماء واستخدام احواض جمع مياه غير نظيفة دون مراعاة الشروط الصحية في التعبئة حيث ان هذه البكتريا تتكاثر في المياه[٣٠].



الشكل رقم (٧) مخطط بياني يبين نسبة عزل بكتريا سيدوموناس ايروجينوسا بطريقة الترشيح ومقارنتها بطريقة MPN

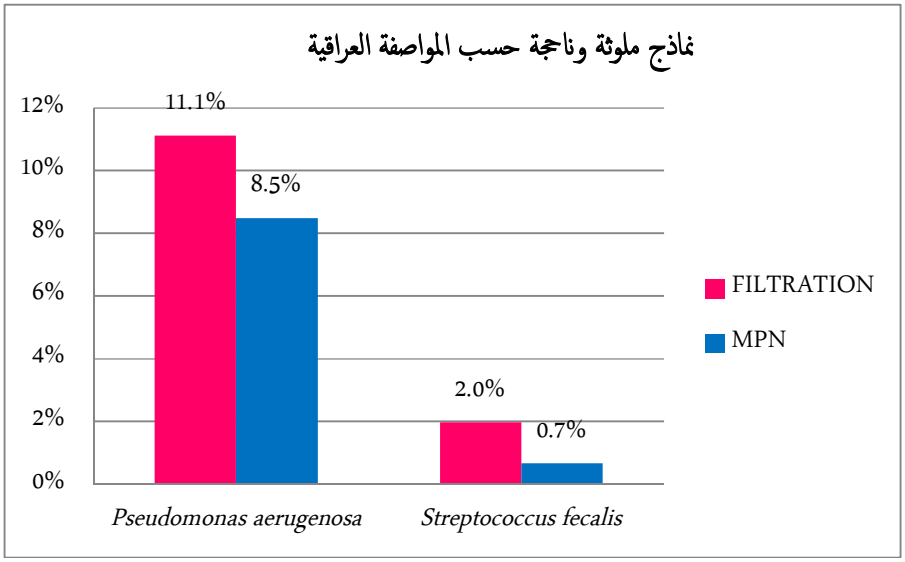
١-٢-٥ النماذج الملوثة ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا وبكتريا المكورات المسبحية البرازية وغير الفاشلة حسب المواصفة العراقية

تبين من الدراسة ان ١١،١% من قناني المياه الناجحة بكتريولوجياً وحسب المواصفة العراقية ملوثة ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا بعد فحصها بطريقة الترشيح فيما كانت ٨،٥% من النماذج ملوثة بهذه البكتريا بعد فحصها بطريقة العد الاكثر احتمالية كما في الشكل رقم (٨) وذلك لعدم وجود فحص لهذه البكتريا ضمن المواصفة القياسية العراقية (الحدود المايكروبية في الاغذية رقم ١٤/٢٢٧٠) [٣١]

وتؤكد هذه النتائج اهمية اجراء الكشف عن هذه البكتريا لنماذج المياه المعبأة لبيان صلاحيتها للاستهلاك البشري وبموجب مواصفة قياسية محدثة.

ويبين الشكل رقم (٨) كذلك ان ٢% من نماذج قناني المياه المعبأةالناجحة بكتريولوجياً وحسب المواصفة العراقية القياسية ملوثة ببكتريا المكورات المسبحية البرازية بعد فحصها بطريقة الترشيح فيما كانت النسبة ٠،٧% من نماذج ملوثة بهذه البكتريا شخصت بطريقة العد الاكثر احتمالية .

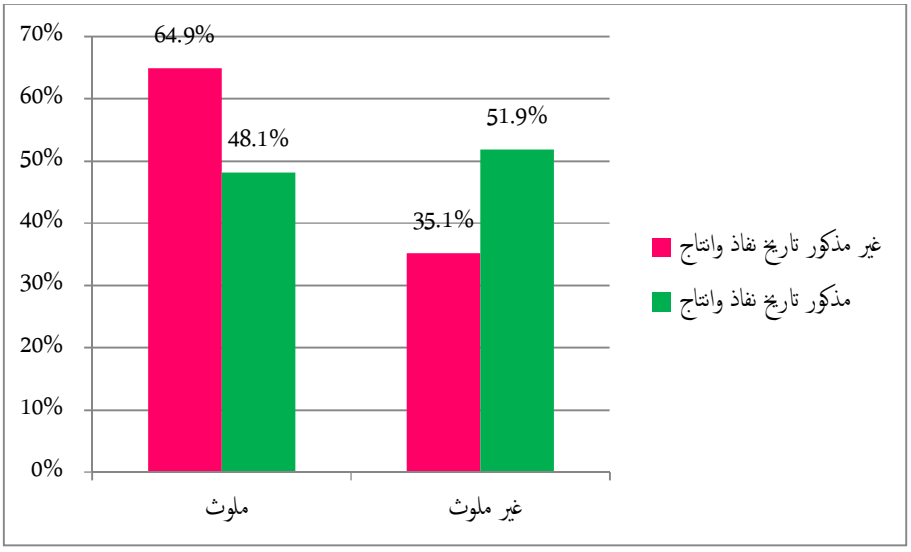
وكانت كافة نماذج مياه الشرب المعبأة خالية من الكلوستوريدوم وسبوراتها وهذا يعزى الى ان مصدر هذه المياه هو غير ملوث بهذه البكتريا.



الشكل رقم (٨) مخطط بياني يوضح نسب النماذج الملوثة لبكتريا سيدوموناس ايروجينوسا والمكورات المسبحية البرازية في نماذج قناني مياه الشرب المعبأةناجحة بكتريولوجياً وحسب المواصفة العراقية.

٦-٢-١ تلوث قناني مياه الشرب المعبأة غير مؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج ومقارنتها مع المؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج.

لاحظنا من خلال حساب عدد قناني المياه المعبأة والملوثةجرثومياً وغير المؤشر على القناني تاريخ الانتاج والنفاد كانت نسبتها ٦٤،٩% فيما كانت ٣٥،١%من القناني ملوثة جرثومياً وكانت القناني مؤشرا عليها تاريخ نفاد وانتاج، وهذا يبين ان هناك علاقة احصائية ($p<0.05$) وأن القناني التي لم يذكر عليها تاريخ انتاج ونفاد أقل التزاما بالشروط الصحية الواجب توفرها في معامل التعبئة وكما موضح في الشكل رقم (٩)



الشكل رقم (٩) مخطط بياني يبين النسبة المئوية لتلوث مياه الشرب المعبأة في قناني غير مؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج ومقارنتها مع تلوث مياه شرب معبئة في قناني مؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج.

٢. نتائج الفحوصات الفيزياوية والتأشيرات:

عند اجراء الفحوصات الفيزياوية وتدقيق تأشيرات العبوات لوحظ وجود نسبة عالية (٤٨،٤%) من العبوات لم يثبت عليها تاريخ الانتاج وتاريخ النفاد وهو من المستلزمات المهمة في صناعة ومراقبة مياه الشرب المعبأة وقد كانت نسبة عالية من العبوات غير المؤشر عليها تاريخ نفاد وانتاج وملوثة بالجراثيم عالية حيث بلغت ٦٤،٩% وكما اشرنا اليها في الفقرة ٦-٢-١.

وكذلك لم يتم تأشير طريقة التعقيم لـ ٣٠،٧% من النماذج على العبوة وهذا يعد من المتطلبات المهمة التي يجب درجها على العبوة وقد أفرزت الدراسة عدم وجود علاقة بين نسبة تلوث المياه وعدم ذكر طريقة التعقيم.

ولقد كانت نسبة (٥،٩%) من العبوات غير مؤشر عليها مادة صنع العبوة وهي البولي اثيلين ترفثاليت PET[٣][٤] وبعد اجراء الفحص الفيزياوي عليها تبين ان جميع النماذج مصنوعة من مادة PET وهذا مؤشر على بعض المعامل بعدم درج مادة الصنع على العبوة.

وبعد اجراء فحص مقاومة الصدم في الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية / وزارة التخطيط للقناني سعة ٢٠٠-١٥٠٠ملليتر فشلت في هذا الفحص ٢،٨% من مجموع ٨٥ نموذج في حين لم يتم فحص العبوات ذات ٢٠لتر لعدم توفر الامكانية.

وهذا يدل على ان اغلب المعامل مياه معامل الشرب كانت تصنع عبوات جيدة من ناحية الخزن والتحميل وتداول القناني.

٣. نتائج الفحص الكيمياوي:-

بعد اجراء الفحوصات الكيمياوية للتحري عن نسب المواد الصلبة،

تبين أن هذه النسب كانت ضمن الحدود الطبيعية لجميع النماذج وهذا يؤكد بأن جميع نماذج المياه المعبأة مسحوبة اما من مياه الاسالة والتي هي أساساً لا تحتوي على اي من هذه المركبات أو من مياه معدنية طبيعية (من مياه العيون ومن مصادر نقية او قد تخضع الى عمليات ترشيح جيدة تؤدي الى تقليل نسب هذه المركبات.

الاستنتاجات:

١- اظهرت الدراسة نسبة تلوث عالية بالميكروبات لنماذج القناني المعبأة حيث بلغت ٥٦،٢% ملوثة وهي نسبة عالية جداً وهذه ناجمة عن عدم استخدام الشروط الصحية المطلوبة في معامل التعبئة لمياه الشرب وللعاملين فيها.

٢- اظهرت الدراسة نسبة تلوث عالية ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا حيث بلغت ٢٧% وهي بكتريا مرضية قد تؤدي الى التهابات خطيرة وان مصدر هذه البكتريا على الارجح هو مياه مخزونة وعدم كفاءة اجهزة التعقيم.

٣- كانت نتائج الفحوصات الكيمياوية للتحري عن (النترات، الكلورايد، التوصيلة الكهربائية، الدالة الحامضية، الفوسفات، الكبريتات، الكالسيوم، المواد الصلبة الذائبة الكلية، النحاس، الخارصين، الصوديوم، الحديد، الرصاص، المنغنيز) ضمن الحدود المسموح بها ضمن المواصفة العراقية والمواصفات العالمية وهذا يدل على أن مصادر المياه المستخدمة في التعبئة جيدة.

٤- كانت نتيجة الفحوصات الفيزياوية للعبوات فشل ٨،٢% بفحص مقاومة الصدم للعبوات (٢٠٠-١٥٠٠مليتر) في حين كانت جميع العبوات مصنوعة من مادة PET بالرغم من ان نسبة ٥،٩% من النماذج غير مؤشر على العبوة مادة الصنع وهذا يعني ان العبوات المستخدمة في التعبئة جيدة بشكل عام.

التوصيات:

١- لاهمية سلامة مياه الشرب المعبأة واحتمال انتقال بعض الميكروبات المرضية الى المجتمع نقترح استخدام طريقة الترشيح في فحص المياه المعبأة في مختبرات الصحة العامة وذلك لحساسية ودقة تشخيص تلوث المياه بالميكروبات بهذه الطريقة حيث بلغت نسبة الحساسية ٩٨,٧% بالاضافة الى سرعة انجاز الفحص بالمقارنة بالطريقة الثانية وهي افضل من ناحية تهيئة الكوادر المدربة وتجنب الاخطاء العملية باختصار خطوات العمل .

٢- لاستخدام مياه الشرب الصالحة للاستهلاك البشري والواردة من شبكة اسالة الماء في تعبئة القناني بالاضافة الى المياه المعدنية نقترح تطبيق مواصفة الحدود المايكروبية للمياه المعدنية الطبيعية على مياه الشرب المعبأة في المواصفة رقم ٢٠١١/٢٢٧٠ الجزء الرابع عشر باضافة فحص بكتريا سيدوموناس ايروجينوسا والمكورات المسبحية البرازية والبكتريا اللاهوائية وذلك لظهور نسبة ٢٧% من النماذج ملوثة ببكتريا سيدوموناس ايروجينوسا ونسبة ٤،٦% لبكتريا المكورات المسبحية البرازية.

٣- اضافة فحص الفطريات والخمائر والاعفان الى الحدود المايكروبية للمواصفة العراقية رقم٢٠١١/٢٢٧٠ لاهميته حيث ظهرت نسبة ١٦،٣% من النماذج ملوثة بالاعفان حيث ان بعض المواصفات العربية تعتمد هذا الشرط مثل المواصفة الاردنية رقم ٢٠٠٩/٢٠٠ المعتمدة على هيئة دستور الاغذية رقم ١٩٨١/١٠٨ المعدلة في ٢٠٠١ ولائحة الشروط الصحية الواجب توفرها في معامل مياه الشرب المعبأة—المملكة العربية السعودية [٣٢،٣٣،٣٤].

٤- نقترح دراسة اضافة مواصفة مادة PET المستخدمة في التعبئة من قبل الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية لعدم توفر مواصفة خاصة بها حيث تم الاعتماد على مواصفة رقم ١٩٨٦/١٠٩٦ اللدائن وطرق فحص اوعية البولي اثيلين والمواصفة رقم ١٩٨٦/١٠٩٣ اللدائن اوعية البولي اثيلين المقولبة بالنفخ السعة (١٠٠،٠-٦٠لتر) في اجراء الفحوصات الفيزياوية في الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية عند اجراء هذا البحث.

٥- التأكيد على قسم الرقابة الصحية بمتابعة تطبيق تعليمات الشروط الصحية في معامل تعبئة مياه الشرب والتأكيد على تثبيت تاريخ الانتاج والنفاد والتأشيرات على القنينة حيث اظهرت الدراسة ان ٤٨،٤% من القناني لم يثبت عليها تاريخ انتاج ونفادونسبة ٣٠،٧% من القناني لم يثبت عليها طريقة التعقيم.

٦- إجراء دراسة موسعة تشمل محافظات القطر المختلفة لبيان تلوث المياه المعبأة حيث أن معامل التعبئة ومصادر استيراد المياه المعبأة مختلفة في المحافظات ولا يمكن تعميم الدراسة التي اجريت في مدينة بغداد كمقياس لتلوث هذه المياه في جميع المحافظات وليتسنى وضع قاعدة بيانات تستخدم مستقبلاً لاجراء مثل هذه الدراسات.

المصادر:

١. هيئة التقييس لدول مجلس التعاون لدول الخليج العربية. مياه الشرب المعبأة رقم ١٨٢٦. اللجنة الفنية الخليدية لقطاع المنتجات الغذائية والزراعية، ٢٠٠٦.

2. World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality, 4th ed. Switzerland: World Health Organization press, 2011: page (4, 91-92,103)
3. Ken Plas ,PET perform and bottle project ,2012.
4. Wiley Encyclopedia of packaging Technology,2 edition .Pubs . John Wiley and sons, New York, 1997, pp .742-745 .
5. World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality, first addendum to third edition, Volume 1 Recommendations, . Switzerland: World Health Organization press, 2006: page (34, 74-75)
6. ISO 6222. International Standard-Water quality – Enumeration of culturable micro-organisms-Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium. Switzerland, Technical Committee CENT/TC230, 1999.
7. ISO 8199. International Standard-Water quality-General guide to the enumeration of micro – organisms by culture. Switzerland, Technical committee ISO\TC147, 1988.
8. ISO 9308-1.International Standard-Water quality-Detection and enumeration of Eschrechia coli and coliform bacteria-Part1: Membrane filtration method. Switzerland, Technical Committee ISO/TC147, 2000.
9. ISO 7899-2. International standard- Water quality Detection and enumeration of intestinal enterococci-Part2: Membrane filtration method .Switzerland, Technical committee ISO/TC147, Water quality, subcommittee SC4, Microbiological methods, 2000.
10. ISO 16266. International standard- Water quality-Detection and enumeration of pseudomonas aeruginosa-Method by membrane filtration. Switzerland, Technical committee ISO/TCi47, Water quality, subcommittee SC4, Microbiological methods, 2006.

11. ISO 6461-2.International standard-Water quality Detection and enumeration of the spores of sulfite –reducing anaerobes (clostridia)-Part2: Method by membrane filtration .Switzerland, Technical committee ISO/TC47, Water quality, 1986.
12. ISO 9308-2 International Standard, Water quality – Detection and enumeration of coliform organisms, thermtolerant coliform organisms and presumptive Escherichia coli – part 2: Multiple tube (most probable number) method. Switzerland, Technical committee ISO/TC147, 1990.
13. Association of Official Analytical Chemists" F.D.A. *Bacteriological Analytical Manual* 8th Edition (1995) AOAC, Arlington Va.
14. Lenores. Clesceri, Arnold E. Greenberg, Andrew d. Eaton, Standard Method for the Examination of Water and Wastewater, 20th ed, Washington, American Public Health, 2005.

١٥. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية.مياه الشرب كشف وعد المكورات المسبحية البرازية طريقة الوسط السائل المغذي(المدعم)-الدليل الاسترشادي المرجعي رقم (٧٥٤).جمهورية العراق,مجلس الوزراء,١٩٩٨.

١٦. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية. مياه الشرب والطرق القياسية لفحصها وتحليلها رقم ٤١٧. جمهورية العراق، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي، ١٩٧٤.

١٧. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية.مياه الشرب المعبأة-المواصفة القياسية العراقية رقم (١٩٣٧).جمهورية العراق ,مجلس الوزراء,١٩٩٥.

18. Association of Official Analytical Chemists: part 11 page 7, Solid in water, 11.1.09 Total Solid, 17 ed AOAC, 2000
19. FAO with the support of the Swedish international development authority (SIDA).FAO FOOD AND NUTRITION PAPER14/7. In: Manual of Food Quality Control 7. Food analysis: general techniques, additives, contaminants, and composition. FOODANDAGRICULTUREORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS, ROME 1986.
20. Perkin-Elmer. Analytical methods for Atomic Absorption Spectrophotometry, Norwalk Connecticut. USA, 1976.
21. D.Pearson,Egan.H,Kirk.R.S and Sawyer.R. Chemical Analysis of Foods. 8th ed .Edinburg: Churchill Livingstone, 1981

٢٢. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية .مياه الشرب-المواصفة القياسية رقم (٤١٧)التحديث الثاني.جمهورية العراق,وزارة التخطيط والتعاون الانمائي,٢٠٠٩.

٢٣. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية. اللدائن طرق فحص اوعية البولي اثيلي رقم ١٠٩٦. جمهورية العراق، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي، ١٩٨٦.

٢٤. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية. اللدائن اوعية البولي اثيلي المقولبة بالنفخ السعة (٠,١٠٠-٦٠لتر) رقم ١٠٩٣. جمهورية العراق، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي، ١٩٨٦.

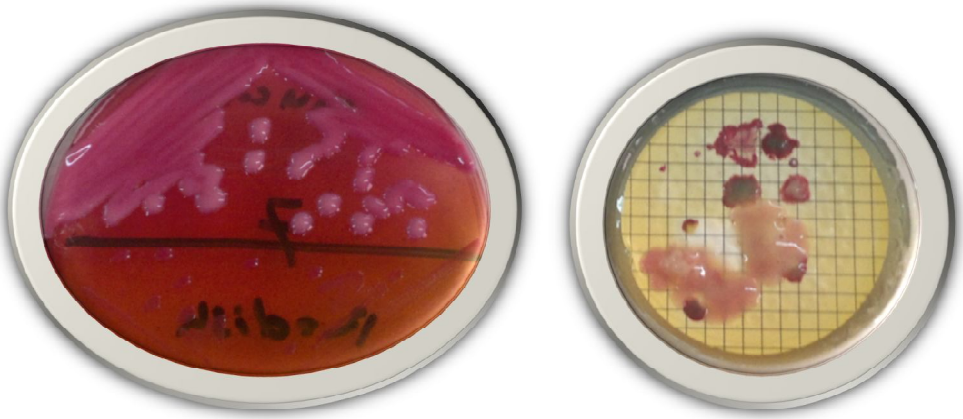
25. ISO 4650 British Standard, Identification of rubbers by infra-red spectrometry-part 1: Method for Identification of hydrocarbon, chloroprene, nitrite and chlorosulphonated polyethylene rubbers. London, British Standard Institution, 1985.
26. E.U. (1998) 98/83/EC of Council of 3rd of November 1998 on the quality of water intended for human consumption. Off. J. Eur. Commun., L3330, 32-54
27. Environment Agency 'Microbiology of Drinking Water 2002'. Methods for Examination of Waters and Associated Materials.
٢٨. الجهاز المركزي للتقيسس والسيطرة النوعيةالقواعد الصحية في معامل تصنيع وتحضير الاغذية رقم المواصفة رقم ٣٥٦ .جمهورية العراق، وزارة التخطيط والتعاون الانمائي.
29. Goto S. and Enomoto S. (1970) Jap. J. Microbiol. 14. 65-72
30. World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality, 4th ed. Switzerland: World Health Organization press, 2011: page (249)
٣١. الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية.الحدود الميكروبية في الاغذية الجزء الرابع عشر الحدود المايكروبية لمياه الشرب-المواصفة رقم (١٤).جمهورية العراق,وزارة التخطيط والتعاون الانمائي,٢٠٠٦.
٣٢. مؤسسة المواصفات والمقاييس، المياه –المياه المعدنية الطبيعية رقم ٢٠٠ – الاصدار الثالث، المملكة الاردنية الهاشمية، ٢٠٠٩
٣٣. هيئة دستور الأغذية العالمي ، المياه المعدنية الطبيعية رقم ١٠٨/ ١٩٨١ ، تعديل أول عام ٢٠٠١ ، دستور الأغذية
٣٤. -لائحة الاشتراطات الصحية الواجب توفرها في مصانع مياه الشرب المعبأة، المملكة العربية السعودية- www.amana-md.gov.sa/rules

الملاحق:

ملحق رقم ANN1

صورة توضح جهاز الترشيح مع ملحقاته المستخدم في الدراسة لعزل الميكروبات.

ملحق قم ANN2



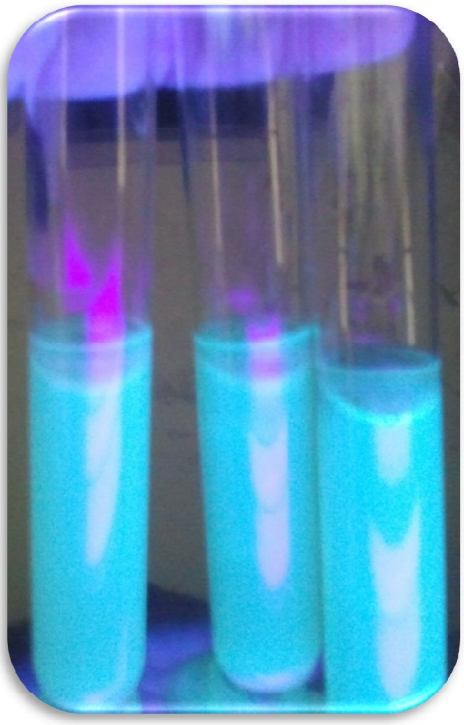
صورة لمستعمرات القولون والتي عزلت بطريقة الترشيح على الطبق الخاص مع المرشح الخاص على الوسط الزرعي Lactose TTC(على اليمين) وصورة لمستعمرات القولون بعد نقلها على وسط MacConkey Agar

ملحق رقم ANN3

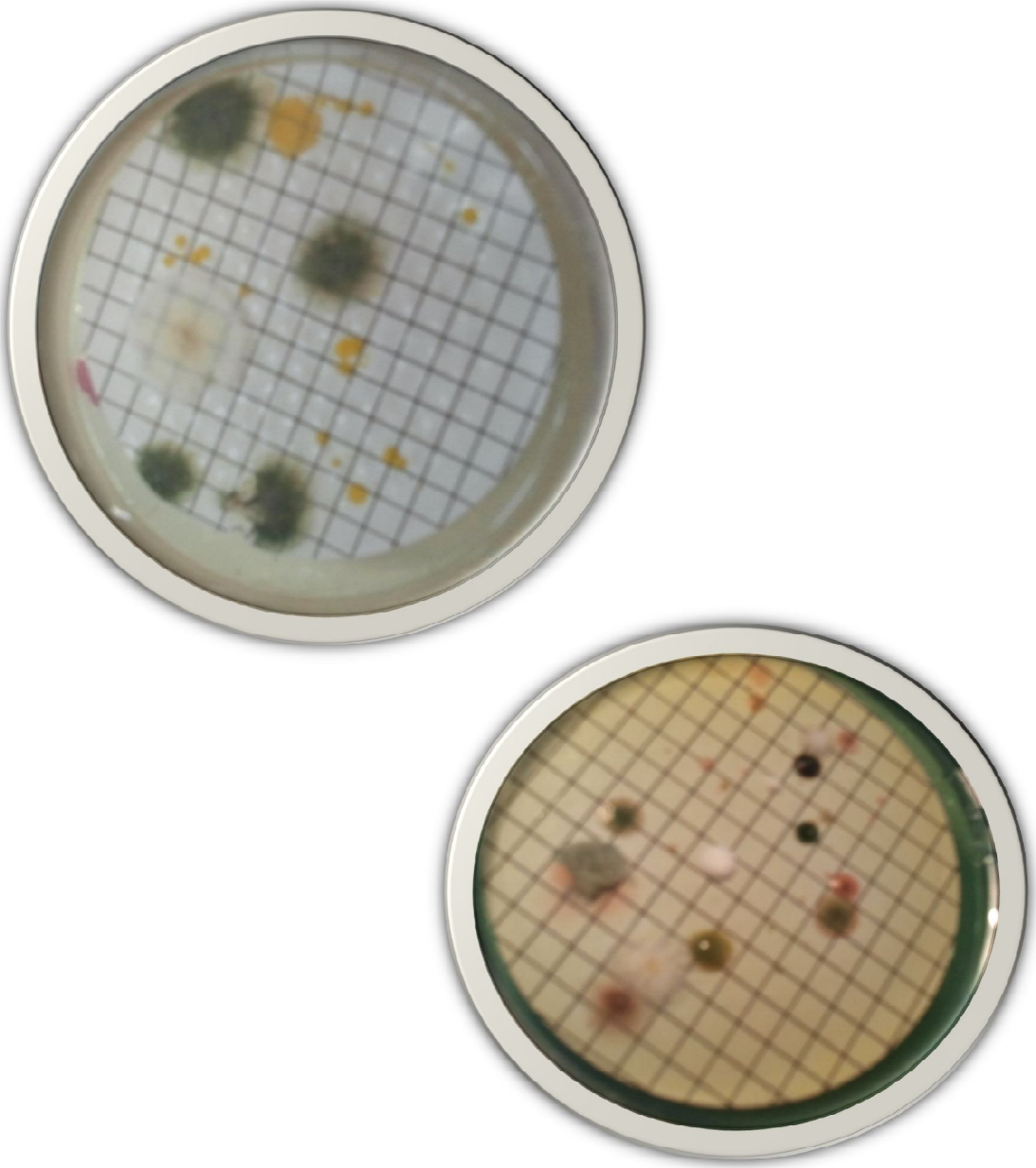
الصورة على اليسار لمستعمرات المكورات المسبحية البرازية بطريقة الترشيح على الوسط الزرعي Slanetz and Bartley Agar ، وفيما تبين الصورة على اليمين نمو مستعمرات هذه البكتريا على الوسط الزرعي التشخيصي Bile-Aesculin Azide Agar ونلاحظ الهالة السوداء حول المستعمرات.

ملحق رقم ANN4

صور توضح عزل بكتريا القولون بطريقة MPN حيث تبين الصورة العليا نموها على الوسط الزرعي التشخيصيBrilliant Green Lactose Broth ونلاحظ انتاجها للغاز فيما تبين الصورة السفلى على اليسار نمو بكتريا القولون المتحملة للحرارة بدرجة ٤٤درجة مئوية على الوسط الزرعي EC medium ويلاحظ انتاجها للغاز فيما توضح الصورة في الاسفل على اليمين وضوح الومض الاشعاعي لهذه البكتريا عند تسليط الاشعة فوق البنفسجية.



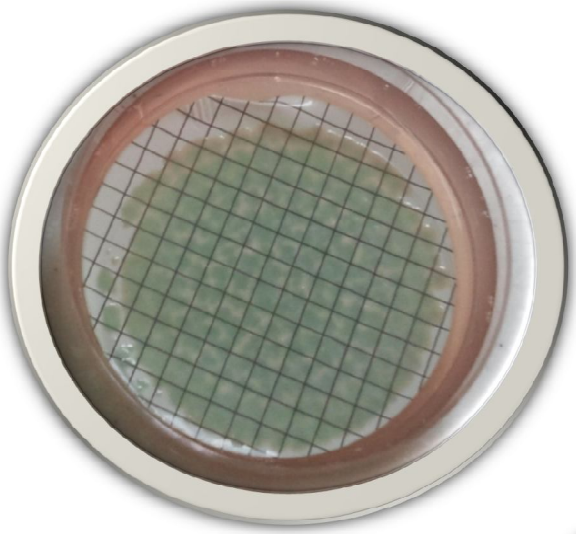
ملحق رقم ANN 5

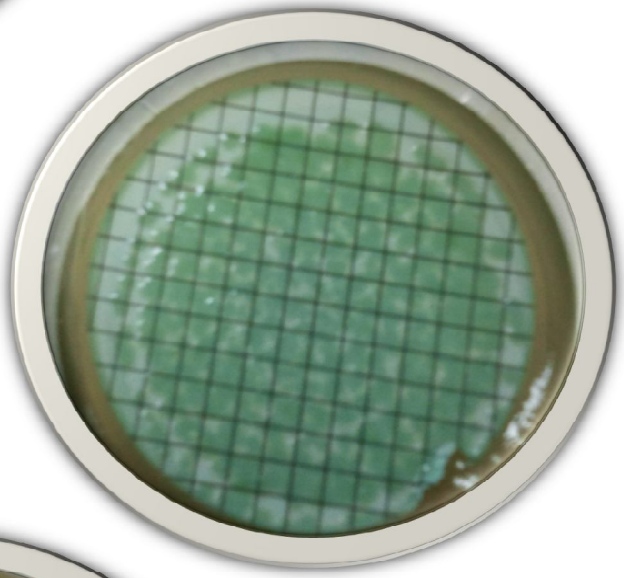


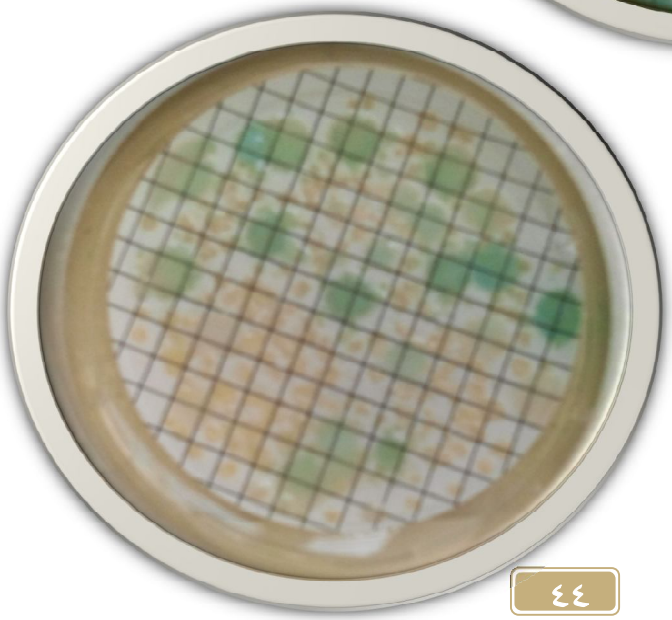
الصورة العليا توضح نمو الاعفان على الوسط الزرعي Pseudomonas/CN agar فيما توضح الصورة السفلى نمو الاعفان على الوسط الزرعي Lactose TTC

ملحق رقم ANN6

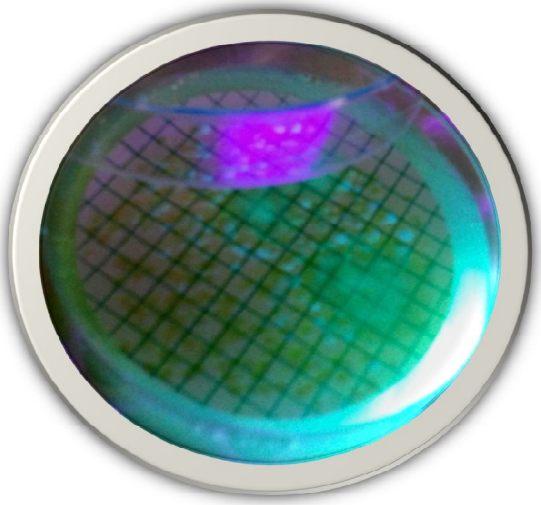
الصورة التي في الاعلى والوسط توضح نمو بكتريا السيدوموناس ايروجينوسا بطريقة الترشيح على الوسط الزرعي Pseudomonas/CN agar وتبدو المستعمرات بلون زرقاء مخضرة فيما توضح الصورة السفلى نمو بكتريا السيدومونوس ايروجينوسا باللون الازرق المخضر مع نمو لبكتريا باللون البني المحمر والتي هي *Pseudomonas* spp



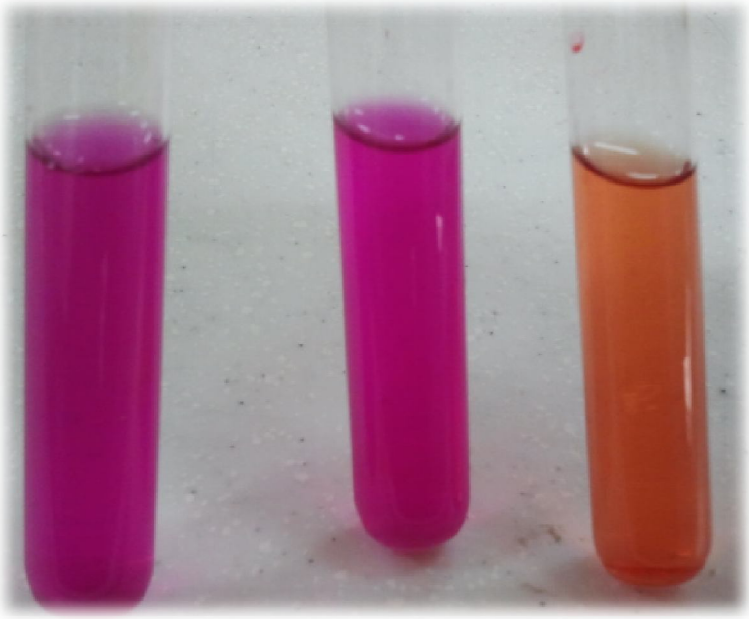




ملحق رقم ANN7



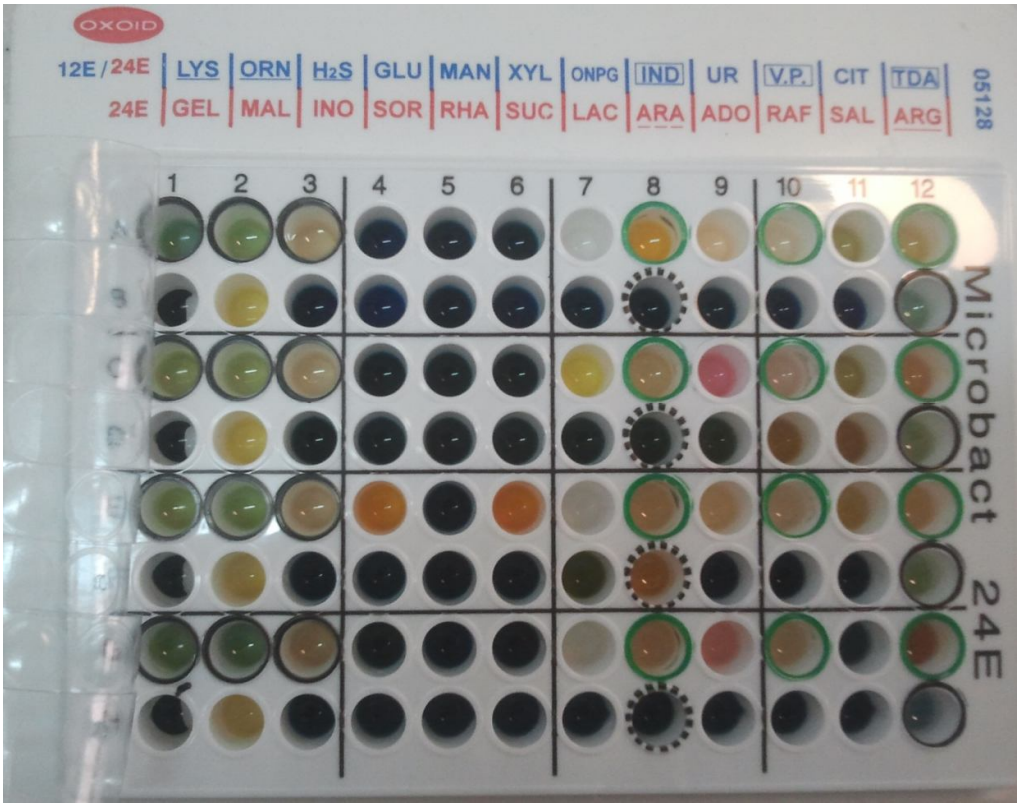
الصورة العليا لطبق زرعي لبكتريا السيدوموناس ايروجينوسا تحت الاشعة فوق البنفسجية بطريقة الترشيح ونلاحظ الومض الاشعاعي لهذه المستعمرات ، فيما توضح الصورة السفلى تغيير لون الوسط الزرعي Acetamide Broth من الاصفر الى اللون القرميدي بعد اضافة الكاشف.



ملحق رقم ANN8

الصورتان توضح تشخيص بكتريا السيدوموناس ايروجينوسا في الوسط الزرعي Asparagine Broth بطريقة MPN حيث نلاحظ الوميض الاشعاعي لبكتريا السيدوموناس ايروجينوسا في الصورة اليسرى فيما توضح الصورة اليمنى نفس البكتريا بدون تعريضها الى الاشعة فوق البنفسجية.

ملحق رقم ANN9



صورة تبين الطبق الخاص بفحص البايوكيمياوية والتي استخدمت لتوكيد تشخيص بكتريا القولون والسيدوموناس ايروجينوسا .