العد الكلي لبكتريا القولون Total coliform bacteria (TC)

يتم إجراء هذا الفحص لغرض الكشف عن بكتريا المجموعة القولونية في الماء . ومن أهم الأجناس التابعة لبكتريا القولون هي بكتريا *E.coli* و *Klebsiella* و *Citrobacter* و *Entrobacter*.

من المعلوم إن العوامل المرضية التي تدخل للمياه تصل عن طريق فضلات الإنسان والحيوان إضافة إلى بعض الأنواع البكتيرية وخاصة *E.coli* و البكتريا الأخرى من مجموعة coliform والمسبحيات البرازية *Sterptococcus faecalis* و*Clostiridium perfingens* ، وهذه جميعها تكون Normal flora في الأمعاء الغليظة للإنسان والحيوان ومن المؤكد إنها موجودة في البراز لذلك فان وجود أي نوع من أنواع البكتريا التعايشية في الماء هو دليل على التلوث البرازي سواء مصدرها بشري أو حيواني .

إن وجود هذه الأنواع في الماء يدل على إن الطريق مفتوح للعوامل المرضية المعوية لتدخل إلى الماء ولكونها موجودة هي الأخرى في البراز أيضا.

يتم حساب أعداد بكتريا القولون حسب الطرق التالية:

١- طريقة الترشيح Membrane filter method طريقة تستعمل في حساب بكتريا القولون وأساس عمل هذه الطريقة هو ترشيح كمية من الماء من خلال أغشية خاصة ثم يوضع المرشح وما بقيت عليه من البكتريا على أوساط خاصة لنمو البكتريا القولون فقط ، حيث تحضن هذه الأوساط مع المرشح filter لمدة يوم أو يومين على حرارة ٣٧°م وبعدها تعد المستعمرات النامية .

تتميز هذه الطريقة عن الطرق الأخرى بسرعتها والحصول على نتائج خلال ١٨-٢٤ ساعة . كما يمكن فحص كميات كبيرة من المياه بوقت قصير كذلك يمكن تركيز أعداد كبيرة من البكتريا وخاصة البكتريا الممرضة إذا وجدت بأعداد قليلة من خلال ترشيح كميات كبيرة من الماء ولا تحتاج هذه الطريقة إلى أجهزة أو أوساط زرعيه كثيرة.

ومن مساوئها إنها لا تصلح في حالة فحص المياه العكرة والأطيان العالقة تترسب على الغشاء وتعيق عملية الترشيح.

٢- طريقة العدُ الأكثر احتمالا Most probable number وتعتبر هذه الطريقة هي الأكثر اعتمادا في الدراسات وتتم كالآتي :

*** تحضير الوسط الغذائي : يستعمل وسط مرق الماكونكي MacConkey broth medium لهذا الفحص ، ويحضر بتركيزين مختلفين وكالاتي :

A- مفرد التركيز: يحضر بإذابة ٣٥ غم في لتر ماء مقطر ثم يضبط الأس الهيدروجيني إلى ٧,٢ ويسخن قليلا مع الرج لمجانسته ثم يوزع في أنابيب اختبار تحوي كل منها على أنبوبة درهم Durham tube إذ يوزع الوسط في تلك الأنابيب بواقع ١٠ مل لكل أنبوبة ثم تعقم هذه الأنابيب بجهاز Autoclave بحرارة ١٢١م بضغط ١جو لمدة ١٥ دقيقة .

B- مضاعف التركيز: يحضر بإذابة ٧٠ غم في لتر ماء مقطر ثم تجري نفس الخطوات في الوسط أحادي التركيز.

بعد تحضير الوسط يتم إتباع الآتي :

١- يتم تلقيح ثلاث مجاميع من الأنابيب بعينات المياه إذ أن المجموعة الأولى تكونت من خمس أنابيب .

أنابيب المجموعة الأولى : تحوي ١٠ مل من وسط مرق الماكونكي ذات التركيز المضاعف

أنابيب المجموعة الثانية والثالثة : كل واحده منها تحوي ١٠ مل من وسط مرق الماكونكي المفرد التركيز (في كل أنبوبة توضع أنبوبة درهم بشكل مقلوب).

بعد تعقيم الوسط كما أعلاه يجب التأكد من عدم وجود فقاعات في أنابيب درهم .

٢- يتم تلقيح أنابيب المجموعة الأولى ب ١٠ مل من عينة الماء المراد فحصها لكل أنبوبة بعد رج عينة الماء قبل ذلك.

٣- ينقل ١ مل من عينة الماء إلى أنابيب المجموعة الثانية.

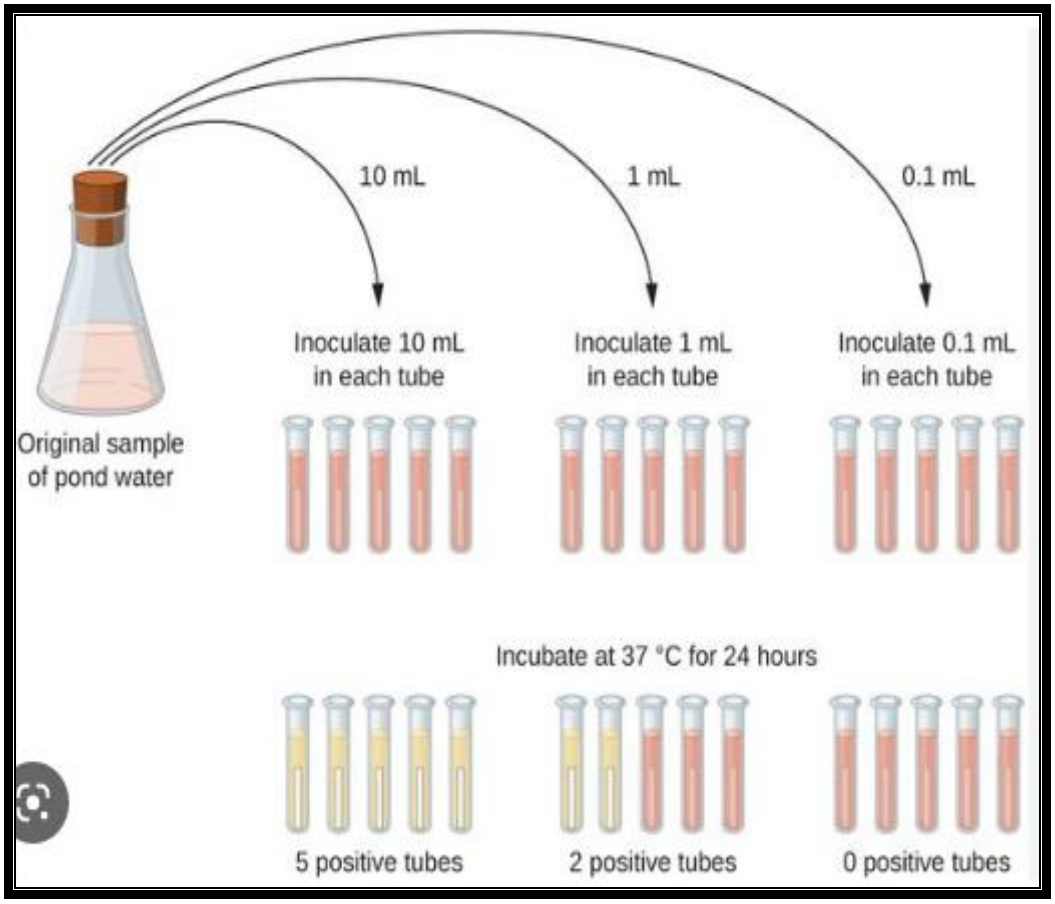
٤- ينقل ٠,١ مل من عينة الماء إلى أنابيب المجموعة الثالثة.

٥- تحضن جميع الأنابيب للمجاميع الثلاث في الحاضنة لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ °م

٦- يتم حساب الأنابيب الموجبة لكل مجموعة . إذ أن تكون الغاز داخل أنابيب درهم وتكون الحامض يعتبر نتيجة موجبة. أما الأنابيب السالبة لكل مجموعة فترجع للحاضنة وتترك مدة ٢٤ ساعة أخرى.

بعد ذلك تقرأ النتيجة النهائية للأنابيب الموجبة لكلا المدتين المستعملة ٢٤ ساعة و ٤٨ساعة.

٧- وبموجب جدول خاص يتم تقدير العدد الأكثر احتمالا لبكتريا القولون (TC) في ١٠٠ مل من نموذج الماء الأصلي .



Positive Tubes					Positive Tubes				
0.1	0.01	0.001	MPN	95% Confidence Range	0.1	0.01	0.001	MPN	95% Confidence Range
0	0	0	<3.0	0-9.5	2	2	0	21	4.5-42
0	0	1	3	0.15-9.6	2	2	1	28	8.7-94
0	1	0	3	0.15-11	2	2	2	35	8.7-94
0	1	1	6.1	1.2-18	2	3	0	29	8.7-94
0	2	0	6.2	1.2-18	2	3	1	36	8.7-94
0	3	0	9.4	3.6-38	3	0	0	23	4.6-94
1	0	0	3.6	0.17-18	3	0	1	38	8.7-110
1	0	1	7.2	1.3-18	3	0	2	64	17-180
1	0	2	11	3.6-38	3	1	0	43	9-180
1	1	0	7.4	1.3-20	3	1	1	75	17-200
1	1	1	11	3.6-38	3	1	2	120	37-420
1	2	0	11	3.6-42	3	1	3	160	40-420
1	2	1	15	4.5-42	3	2	0	93	18-420
1	3	0	16	4.5-42	3	2	1	150	37-420
2	0	0	9.2	1.4-38	3	2	2	210	40-430
2	0	1	14	3.6-42	3	2	3	290	90-1000
2	0	2	20	4.5-42	3	3	0	240	42-1000
2	1	0	15	3.7-42	3	3	1	460	90-2000
2	1	1	20	4.5-42	3	3	2	1100	180-4100
2	1	2	27	8.7-94	3	3	3	>1100	420-4000