# أستخدام عاثيات الكولي فاج كدلائل للفيروسات المعوية والتلوث البرازي للمياه

*أمير خضير عباس** *عصام شاكر حمزة** *سندس علي جاسم **

استلام البحث 10، كانون الثاني، 2010
قبول النشر 17، تشرين الاول، 2010

**الخلاصة:**
نظراً لازدياد الحالات المرضية المتسببة عن الفيروسات المعوية المنقولة بالمياه وعدم وجود اي أشارة للفيروسات المنقولة بالمياه في المواصفات القياسية العراقية للمياه تم اعتماد التحري عن عاثيات الكولي فاج كدلائل للفيروسات المعوية والتلوث البرازي للمياه بأتباع طريقتين:-

- طريقة الاغناء بخطوتين Two-Step Enrichment Method
- طريقة طبقة الاكار الاحادية Single Agar Layer Method

وتبين من الدراسة فعالية كلا الطريقتين في تعيين عاثيات الكولي فاج من خلال فحص خمسين نموذج من (مياه الاسالة، المياه السطحية والمياه المعبأة) فقد تم تعيين وجود عاثيات الكولي فاج في (14) نموذج وبكلا الطريقتين.

**الكلمات المفتاحية:.Coliphages , Entero viruses , Viral indicators , Faecal pollution**

## المقدمة :

ثبت وجود اكثر من (120) نوع مختلف من الفيروسات المعوية التي تنتقل عن طريق المياه بأنواعها (مياه الشرب ،المسابح والمياه المستخدمة في سقي المزروعات) ويتم طرح هذه الفيروسات مع الغائط او ادرار الشخص المصاب وتحدث الاصابة اما بتناول مياه الشرب الملوثة او استهلاك لحوم الحيوانات المائية او تناول الخضار والفواكهه المنتجة من مزارع تسقى بمياه ملوثة [1 ] .

لا تعد الفيروسات تنبيت طبيعي لامعاء الانسان لكنها تتواجد فقط في الاشخاص المصابين وتتسبب في احداث حالات مرضية مختلفة متمثلة بالتهاب الدماغ,الشلل,التهاب المعدة والامعاء,التهاب الكبد,التهاب الكليتين,التهاب ملتحمة العين,التهاب المجاري التنفسية وحكة في الجلد [3,2] ومن بين أهم الفيروسات المعوية الوبائية الممرضة للانسان هي :-

[ 3 ] Hepatitis A virus , Rotaviruses Adenoviruses, Caliciviruses,

تبقى الفيروسات في المياه فترة اطول من بقاء بكتريا دلائل التلوث البرازي وان البكتريا القولونية والمسبحية البرازية والتي تعتمد في مختبرات فحوصات المياه كدلائل للتلوث البرازي ليس دائماً مصدرها براز الانسان او الحيوان وانما يمكن ان يكون مصدرها التربة او النباتات او فضلات المصانع اضافة ان هذه البكتريا لا تعتبر دلائل جيدة للفيروسات المعوية .

تقاوم الفيروسات المعاملة بالكلور بالتراكيز المستخدمة في اسالات المياه للقضاء على البكتريا الدالة على التلوث وفي هذه الحالة قد يكون الماء مقبولاً حسب المواصفات البكتريولوجيه في حين تتواجد فيه فيروسات خطرة على صحة الانسان [ 3, 4, 5, 6,7] .

يتعذر الكشف عن جميع الفيروسات المعوية المرضية في المياه بسبب تواجدها بصورة منفردة وبتراكيز قليلة في البيئة وان الطرق المختبرية المتبعة لتعينها تتصف بصعوبتها وكلفتها وتستغرق فترة زمنية طويلة لتشخيصها وتحتاج الى مختبرات متخصصة لذا تم اعتماد عاثيات الكولي فاج كدلائل على تواجد الفيروسات المعوية والتلوث البرازي للمياه [3, 8, 9,10, 11]

عاثيات الكولي فاج هي الفيروسات التي تصيب بكتريا *E.coli* وتتشابه هذه العاثيات والفيروسات المعوية من حيث الحجم ,الشكل,التركيب الجيني ,مقاومتها للظروف البيئية وتراكيز الكلور المستخدمة في تعقيم المياه [7] .

تمتاز عاثيات الكولي فاج بخصوصيتها في اصابة بكتريا *E.coli* والتي مصدرها براز الانسان والحيوان وتستغرق الفترة الزمنية لتعينها من (12-4 ساعة [ 11] .

هناك نوعين من عاثيات الكولي فاج تستخدم كدلائل للفيروسات المعوية والتلوث البرازي هي Somatic coliphages و Male specific (F+) coliphages [ 10] .

تتواجد عاثيات Male specific (F+) coliphages في المياه الملوثة ببراز الانسان والحيوان ولاتتواجد في المياه غير الملوثة بالبراز بمعنى ان هذه الانواع من العاثيات تتكاثر فقط عندما تكون في أمعاء الانسان او الحيوان [ 9] .

* مركز بحوث تلوث الغذاء دائرة بحوث تكنولوجيا البيئة والمياه وزارة العلوم والتكنولوجيا

جينياً ومصلياً تم تصنيف عاثيات Male specific coliphages (F+) الى اربعة مجاميع والتي من خلالها يمكن معرفة مصدر التلوث هل هو انساني او حيواني فالمجموعتين الثانية والثالثة مصدرها براز الانسان والمجموعتين الاولى والرابعة مصدرها براز الحيوان [ 15,14,13,12] .

## المواد وطرائق العمل :

تم جمع خمسين نموذج من المياه ثلاثون منها مياه الإسالة وعشرة نماذج من المياه السطحية تم سحبها من مناطق مختلفة من مدينة بغداد للفترة من كانون الثاني ولغاية نيسان/2010. جمعت النماذج في قناني نظيفة ومعقمة سعة 1 لتر ونقلت تحت ظروف مبردة وتم فحصها مباشرةً بعد وصولها الى المختبر. كما تم التحري عن عاثيات الكولي فاج في عشرة نماذج من المياه المعبأة سعة عشرون لتر تم سحبها بصورة عشوائية من الأسواق المحلية لمدينة بغداد جدول (2,1).

في النماذج التي احتوت على تراكيز من الكلورين تم معادلته بأضافة 0.5 مليلتر من 10% صوديوم ثايوسلفيت لكل لتر من النموذج في وقت جمع النماذج.

**الفحوصات الفيزياوية :-**

تم تعيين الأس الهيدروجيني (pH) ،درجة العكورة مقدرة Nephelometric Turbidity Unit (NTU) ،تركيز المواد الصلبة الذائبة الكلية Total Dissolved Solids (TDS) وتركيز الكلورين لنماذج المياه .

**التحري عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي :-**

تم التحري عن بكتريا دلائل التلوث الميكروبي (البكتريا القولونية والبكتريا المسبحية) لجميع نماذج المياه بأستخدام طريقة العد الأكثر احتمالية Most Probable Number (MPN) .

**الخلايا المضيفة :-**

للتحري عن عاثيات الكولي فاج في نماذج المياه المفحوصة تم أستخدام عزلة محلية من بكتريا *E.coli* كخلايا مضيفة (Host cells) تم عزلها من المياه السطحية لمنطقة الجادرية/بغداد.

**التحري عن عاثيات الكولي فاج :-**

تم أتباع طريقتين معتمدتين من قبل وكالة حماية البيئة الامريكية [17,16 ] في التحري عن عاثيات الكولي فاج.

### 1- طريقة الاغناء بخطوتين ( Two-Step) Enrichment Method :-

- رشح النموذج من خلال مرشحات دقيقة بقطر 0.45 ملي مايكرون او نبذ في جهاز الطرد المركزي وحسب طبيعة النموذج.
- أخذ 100 مليلتر من نموذج المياه.
- أضيف 1.25 مليلتر من كلوريد المغنيسيوم المائي ($4M\ MgCl_2 . 6H_2O$) .
- أضيف 0.5 مليلتر من المزروع السائل لبكتريا *E.coli* في الطور اللوغارتمي .
- أضيف 5 مليلتر من الوسط ألزرعي السائل10X Trptic Soy Broth (TSB) ومزج جيداً .
- حضن بدرجة 37 م مدة 16-24 ساعة و مقارنة نمو البكتريا مع ضابط السيطرة .
- نبذ النموذج في جهاز الطرد المركزي بسرعة 6000 دورة/دقيقة مدة 10 دقائق .
- رشح الرائق من خلال مرشحات دقيقة قطر 0.22 ملي مايكرون .
- قطر الراشح (10 مايكروليتر) على نقاط محددة في خط زرع بكتريا *E.coli* والتي تم نشرها على الوسط الزرعي المغذي الصلب Trptic Soy Agar (TSA) قبل ساعة من التقطير .
- حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م مدة 24 ساعة .
- فحصت الأطباق بملاحظة مناطق التحلل (Lysis Zones) في نقاط التقطير دلالة على وجود عاثي الكولي فاج في النموذج .
- تم التأكد من عزل عاثي الكولي فاج بقطع الاكار من منطقة التحلل (Lysis Zone) بواسطة ماصة باستور ونقله إلى أنبوب يحتوي على 1 مليلتر من وسط (TSB) السائل وترك الانبوب مع الرج في درجة حرارة الغرفة مدة نصف ساعة .
- نبذ المزيج في جهاز الطرد المركزي بسرعة 6000 دورة/دقيقة مدة 5 دقائق .
- قطر الرائق في نقاط محددة على خط زرع بكتريا *E.coli* والتي تم نشرها على وسط (TSA) الصلب قبل ساعة من التقطير وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م مدة 24 ساعة .
- فحصت الأطباق بملاحظة مناطق التحلل (Lysis Zones) دلالة على تأكيد وجود عاثي الكولي فاج .

### 2- طريقة طبقة الاكار الأحادية ( Single) Agar Layer Method :-

- أخذ 100 مليلتر من نموذج المياه.
- أضيف 0.5 مليلتر من كلوريد المغنيسيوم المائي( $4M\ MgCl_2 . 6H_2O$) .
- وضع النموذج في حمام مائي بدرجة 37 م مدة 5 دقائق .
- أضيف 10 مليلتر من بكتريا *E.coli* في الطور اللوغارتمي ونقل النموذج مباشرةً الى حمام

مائي بدرجة 48 م مع مراقبة درجة حرارة النموذج حتى تصل الى 43 م .

- أضيف النموذج إلى وسط 2X Trptic Soy Agar بدرجة حرارة 48 م ومزج جيداً .
- صب المزيج في أطباق بلاستيكية معقمة وترك ليتصلب ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م مدة 24 ساعة .
- فحصت الأطباق بملاحظة البقع (plaques) وتم حسابها في جميع الأطباق وقدر معيار عاثي الكولي فاج Plaque Forming Unit (PFU/100ml) .
- تم تأكيد عزل عاثي الكولي فاج بنقل بقعة (plaque) بواسطة ماصة باستور معقمة إلى أنبوب يحتوي على 1 مليلتر من وسط TSB السائل ترك الأنبوب مع الرج في درجة حرارة الغرفة مدة نصف ساعة
- نبذ المزيج في جهاز الطرد المركزي بسرعة 6000 دورة/دقيقة مدة 5 دقائق .
- قطر الرائق في نقاط محددة على خط زرع بكتريا *E.coli* والتي تم نشرها على وسط TSA الصلب قبل ساعة من التقطير وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37م مدة 24 ساعة .
- فحصت الأطباق بملاحظة مناطق التحلل (Lysis Zones) دلالة على تأكيد وجود عاثي الكولي فاج .

**تحضير عاثي الكولي فاج الخزين :-**

تم استخدام طريقة الوسط الزرعي المغذي السائل [ 5] حيث تم أصابة بكتريا *E.coli* في الطور اللوغارتمي ($5x10^8$ CFU/mL) بعاثي الكولي فاج (50-100 Phage/0.1mL) حضن المزيج بالحاضنة الهزازة بدرجة حرارة 37م وبسرعة 100 دورة/دقيقة وتم مراقبة نمو البكتريا حتى حصل تحلل كامل للبكتريا. نبذ السائل المغذي في جهاز الطرد المركزي بسرعة 6000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة ورشح الرائق من خلال مرشح دقيق بقطر 0.22 ملي مايكرون و حفظ العاثي بدرجة حرارة 4 م .

**معايرة عاثي الكولي فاج :-**

تم معايرة عاثي الكولي فاج بأستخدام طريقة Top-Agar Method[5] اذ تم أضافة 0.1 مليلتر من بكتريا *E.coli* في الطور اللوغارتمي و 0.1 مليلتر من عاثي الكولي فاج من كل تخفيف من التخافيف العشرية الى 3 مليلتر من وسط Top agar (0.7% agar) بدرجة حرارة 47م ومزج جيداً وصب على سطح Bottom agar (1.5% agar) وتركت الأطباق حتى تتصلب وتقلب وحضنت بدرجة 37 م مدة 24 ساعة. و تم اختيار الأطباق التي تراوح عدد البقع فيها بين (200-100 بقعة وحساب معيار عاثي الكولي فاج (PFU) بضرب عدد البقع في مقلوب التخفيف

## النتائج والمناقشة :

**1- التحري عن عاثيات الكولي فاج بأستخدام طريقة الاغناء بخطوتين :-**
**(Two-Step Enrichment Method)**

بينت الدراسة فعالية هذه الطريقة في التحري عن عاثيات الكولي فاج في نماذج المياه المختلفة وتشير نتائج هذه الطريقة الى وجود او عدم وجود عاثي الكولي فاج (Presence / Absence) في نماذج المياه [ 16] اذ تم في الخطوة الاولى مرحلة الاغناء (Enrichment step) زيادة معيار عاثي الكولي فاج نتيجة أصابته بكتريا *E.coli* وتكاثره ومن ثم تحلل الخلايا البكتيرية وتحرر العاثيات وبأستمرار هذه العملية تقل أعداد الخلايا البكتيرية ويزداد معيار العاثي فيصبح الوسط الزرعي السائل رائقاً يمكن ملاحظته بسهولة بالعين المجردة ومقارنته بضابط السيطرة صورة (1) وفي الخطوة الثانية تم تعيين وجود عاثي الكولي فاج بسهولة في خط زرع بكتريا *E.coli* نتيجة لزيادة معيار العاثي اذ يمكن ملاحظة مناطق التحلل (Lysis Zones) بالعين المجردة صورة (2) . تستخدم هذه الطريقة عادةً في نماذج المياه التي تحتوي على معيار قليل من عاثيات الكولي فاج كمياه الشرب والمياه المعبأة.

**2- التحري عن عاثيات الكولي فاج بأستخدام طريقة طبقة الاكار الاحادية :-**
**(Single Agar Layer Method)**

بينت الدراسة فعالية هذه الطريقة أيضاً في التحري عن عاثيات الكولي فاج وتعين معيار العاثي في المياه في نفس الوقت من خلال حساب مجموع البقع (plaques) المتكونة نتيجة فحص 100 مليلتر من النموذج Plaque Forming Unit (PFU/100ml) وتتصف هذه الطريقة أيضاً بأختصار الوقت حيث تستغرق فترة أقل من 24 ساعة .[ 17] وتختلف البقع (plaques) المتكونة من حيث الحجم والشكل بأختلاف عاثيات الكولي فاج صورة (3) ولغرض دراسة وتنقية العاثي يتوجب أختيار بقعة منفردة واحدة - (Single isolated plaque)- وإصابة الخلايا المضيفة وتكرر هذه العملية من 3-4 مرات .

**3- التحري عن عاثيات الكولي فاج في نماذج المياه :-**

ان الغرض من فحص نماذج المياه المختلفة هو ليس معرفة عدد النماذج الموجبة والسالبة وأنما هو أستخدام الطريقتين الانفة الذكر في تعيين عاثيات الكولي فاج .

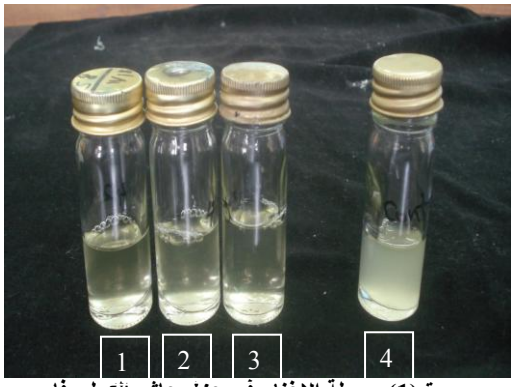
تم فحص (30) نموذج ماء أسالة أظهرت (6) نماذج منها نتائج موجبة جدول (3) ومن بين النماذج الموجبة أظهرت ثلاثة نماذج خلوها من بكتريا دلائل التلوث الميكروبي واحتوائها على تراكيز مقبولة من الكلورين مثل هذه النماذج ممكن ان تشكل خطورة على صحة الانسان لاحتمالية أحتوائها على الفيروسات المعوية حيث تتصف الفيروسات المعوية وعاثيات الكولي فاج بمقاومتها للمعقمات المستخدمة في تعقيم المياه . [ 7, 18] .

أما بخصوص المياه السطحية فقد أظهرت (6) نماذج من مجموع (10) نماذج نتائج موجبة جدول (3). وان تواجد عاثيات الكولي فاج في مثل هذه المياه هي حالة طبيعية ويمكن من خلال حساب معيار عاثي الكولي فاج معرفة درجة التلوث حيث ان هناك علاقة طردية بين معيار عاثي الكولي فاج ومستوى التلوث. أيضاً من خلال تعيين عاثيات الكولي فاج يمكن معرفة مدى كفاءة محطات معالجة مياه الصرف الصحي قبل تصريف هذه المياه الى الانهار او أستخدامها في سقي المزروعات. [19,7, 20] .

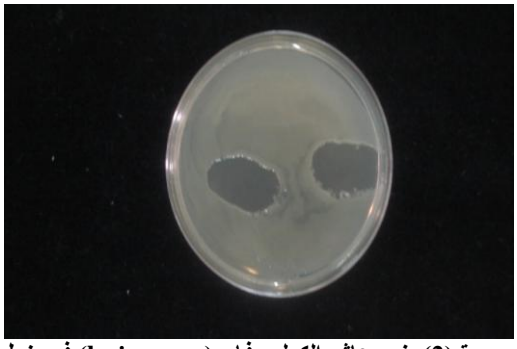
وفيما يخص المياه المعبأة فقد أظهر نموذجين(الكمال والمتحدة) من مجموع (10) نماذج تم فحصها احتوائها على عاثيات الكولي فاج جدول (4). بالرغم من أستخدام الاوزون والاشعة فوق البنفسجية في تعقيم المياه وخلو نموذج (الكمال) من بكتريا دلائل التلوث الميكروبي.

أن خلو نماذج مياه الشرب من بكتريا دلائل التلوث الميكروبي والمعتمدة في كثير من مختبرات فحص المياه لا يعني صلاحيتها للأستهلاك لان بكتريا دلائل التلوث هي مؤشر لتواجد البكتريا المرضية ولكنها مؤشر غير جيد لتواجد الفيروسات المعوية في المياه لذا أعتمد التحري عن عاثيات الكولي فاج كدلائل للفيروسات المعوية والتلوث البرازي للمياه .[24,23, 22, 21, 9].

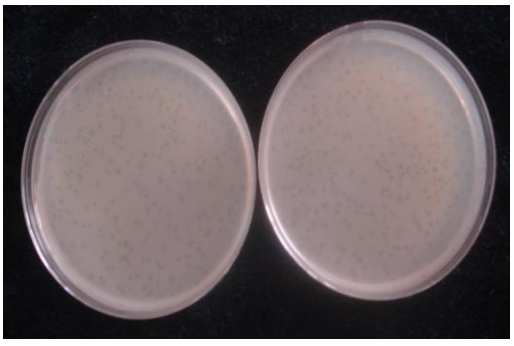
نظراً لافتقار وزارات الدولة الى المختبرات المتخصصة في التحري عن الفيروسات المعوية المنقولة بالمياه وأزدياد الحالات المرضية المتسببة بالفيروسات مثل التهاب الكبد الفيروسي نوع (A) وفيروس الروتا المسبب لحالات الاسهال والوفاه للاطفال دون عمر (5) سنوات وعدم وجود اي أشارة في المواصفات القياسية العراقية للمياه الصادرة عن الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية/وزارة التخطيط والتعاون الانمائي عن الفيروسات المعوية المنقولة بالمياه لذا ندعو الجهات ذات العلاقة الى أعتماد التحري عن عاثيات الكولي فاج كدلائل للفيروسات المعوية والتلوث البرازي للمياه وخاصة محطات تصفية وتعقيم المياه ومحطات معالجة مياه الصرف الصحي بأعتبارها طريقة سهلة ودقيقة وغير مكلفة ولاتحتاج الى أجهزة ومختبرات ولاتستغرق فترة زمنية طويلة.

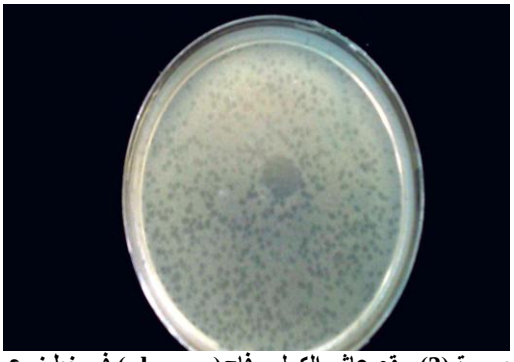



**صورة (1) مرحلة الاغناء في عزل عاثي الكولي فاج (3,2,1) مقارنة بضابط السيطرة (4)**



**صورة (2) نمو عاثي الكولي فاج (lysis zones) في خط زرع بكتريا *E.coli***





**صورة (3) بقع عاثي الكولي فاج(plaques) في خط زرع بكتريا *E.coli***

**جدول (1) نماذج مياه الإسالة والمياه السطحية المفحوصة**

| ت | موقع سحب النموذج | نوع المياه المسحوبة | الملاحظات |
|---|---|---|---|
| 1 | حي البرموك | إسالة | |
| 2 | حي الخليج | إسالة | |
| 3 | البوعيثة | إسالة | المحطة الجنوبية (1) |
| 4 | الدورة | إسالة | |
| 5 | البوعيثة | إسالة | المحطة الجنوبية (2) |
| 6 | السيدية | إسالة | |
| 7 | البوعيثة | إسالة | المحطة الشمالية (2) |
| 8 | الرحمانية | إسالة | |
| 9 | الصالحية | إسالة | |
| 10 | الشماسية | إسالة | |
| 11 | البياع | إسالة | |
| 12 | الحرية الثالثة | إسالة | |
| 13 | حي الجامعة | إسالة | |
| 14 | الطالبية | إسالة | |
| 15 | حي القاهرة | إسالة | |
| 16 | حي الحسين | إسالة | |
| 17 | حي الجهاد | إسالة | |
| 18 | حي التراث | إسالة | |
| 19 | الكرادة | إسالة | |
| 20 | الجادرية | إسالة | |
| 21 | الخالص | إسالة | |
| 22 | زيونة | إسالة | |
| 23 | الزعفرانية | إسالة | |
| 24 | سلمان باك | إسالة | |
| 25 | حي الضباط/ السيدية | إسالة | |
| 26 | حي الامانة | إسالة | |
| 27 | حي الغزالية | إسالة | |
| 28 | حي القادسية | إسالة | |
| 29 | حي العامل | إسالة | |
| 30 | الكاظمية | إسالة | |
| 31 | الجادرية | سطحية | |
| 32 | البوعيثة | سطحية | |
| 33 | ابونؤاس | سطحية | |
| 34 | الكرادة | سطحية | |
| 35 | الرحمانية | سطحية | |
| 36 | الرستمية | سطحية | |
| 37 | حي الوحدة | سطحية | |
| 38 | سلمان باك | سطحية | |
| 39 | جسر ديالى | سطحية | |
| 40 | الدورة | سطحية | |

**جدول (2) نماذج المياه المعبأة المفحوصة**

| ت | اسم المنتوج | الشركة المنتجة وبلد المنشأ | تأريخ الإنتاج وفترة نفاذ الصلاحية | سعة العبوة/لتر | الملاحظات |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | الأزل | شركة الأزل للمياه الصحية والمشروبات الغذائية / بغداد / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 2 | الكمال | إنتاج معمل الكمال / بغداد / العراق | إنتاج 2009/10/11 صالح لمدة سنة | 20 | معقم بالأوزون وغني بالأوكسجين |
| 3 | الدولية | إنتاج الشركة الدولية لتعبئة وتعقيم المياه الصحية / بغداد / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 4 | سولاف | لم تثبت على بطاقة الدلالة | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 5 | البركة | إنتاج شركة البركة للمياه الصحية والغازية / بغداد / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 6 | الصفا | شركة الصفا لإنتاج المياه الصحية والغازية / بغداد / العراق | إنتاج 2010/4/15 تأريخ الانتهاء 2010/10/15 | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 7 | النورس | معمل النورس / بغداد / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 8 | النقي | إنتاج معمل النقي لإنتاج وتعبئة المياه الصحية / بغداد / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون |
| 9 | المتحدة | شركة المتحدة لتعبئة وتعقيم المياه / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |
| 10 | العالمية | إنتاج شركة العالمية للمياه / العراق | غير مثبت على بطاقة الدلالة | 20 | معقم بالأوزون والأشعة فوق البنفسجية |

**جدول (3) نتائج فحوصات مياه الإسالة والمياه السطحية**

| ت | موقع سحب النموذج/مياه الاسالة | الاس الهيدروجيني | درجة العكورة | المواد الصلبة الذائبة الكلية مغم/لتر | الكلورين مغم/لتر | البكتريا القولونية | البكتريا المسبحية | التحري عن عاثي الكولي فاج | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | طريقة الاغناء بخطوتين | طريقة طبقة الاكار الاحادية |
| 1 | حي اليرموك | 8.7 | 3.03 | 330 | 0.5 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 2 | حي الخليج | 7.9 | 3.37 | 320 | o.7 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 3 | البوعيثة | 7.6 | 3.80 | 360 | Nil | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 4 | الدورة | 7.28 | 2.27 | 380 | 2.05 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 5 | البوعيثة | 7.36 | 4.26 | 370 | 0.24 | + ve | –ve | + ve | + ve |
| 6 | السيدية | 7.39 | o.66 | 300 | 0.64 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 7 | البوعيثة | 7.8 | 2.70 | 456 | 1.09 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 8 | الرحمانية | 7.2 | 5.27 | 390 | 2.30 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 9 | الصالحية | 7.3 | 2.33 | 355 | 1.48 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 10 | الشماسية | 7.7 | 0.99 | 327 | 2.19 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 11 | البياع | 7.8 | o.73 | 347 | 1.69 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 12 | الحرية الثالثة | 7.03 | 2.43 | 395 | 1.23 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 13 | حي الجامعة | 7.94 | 2.27 | 385 | 1.03 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 14 | الطالبية | 7.85 | 1.43 | 387 | 1.40 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 15 | حي القاهرة | 7.83 | 2.13 | 386 | 1.89 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 16 | حي الحسين | 7.1 | 1.1 | 350 | 1.5 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 17 | حي الجهاد | 7.2 | 1.02 | 316 | 1.36 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 18 | حي التراث | 7.8 | 0.55 | 288 | 1.39 | –ve | –ve | + ve | + ve |
| 19 | الكرادة | 7.7 | 3.37 | 377 | 1.88 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 20 | الجادرية | 7.8 | 4.36 | 445 | 2.69 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 21 | الخالص | 7.6 | 4.78 | 449 | 0.21 | + ve | –ve | –ve | –ve |
| 22 | زيونة | 7.62 | 2.44 | 399 | 2.08 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 23 | الزعفرانية | 7.6 | 11.5 | 385 | 0.73 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 24 | سلمان باك | 7.1 | 0.71 | 418 | 0.26 | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 25 | حي الضباط/ السيدية | 7.7 | 0.83 | 330 | 1.10 | –ve | –ve | + ve | + ve |
| 26 | حي الامانة | 7.7 | 5.39 | 346 | 0.32 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 27 | حي الغزالية | 7.2 | 1.61 | 328 | 0.53 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 28 | حي القادسية | 7.3 | 7.99 | 589 | 1.46 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 29 | حي العامل | 6.36 | 0.59 | 228 | 1.09 | –ve | –ve | + ve | + ve |
| 30 | الكاظمية | 6.74 | 1.17 | 371 | 1.99 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| ت | موقع سحب النموذج/مياه سطحية | الاس الهيدروجيني | درجة العكورة | المواد الصلبة الذائبة الكلية مغم/لتر | الكلورين مغم/لتر | البكتريا القولونية | البكتريا المسبحية | التحري عن عاثي الكولي فاج | |
| | | | | | | | | طريقة الاغناء بخطوتين | طريقة الاغناء بخطوتين |
| 31 | الجادرية | 7.64 | 20.5 | 337 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 32 | البوعيثة | 7.53 | 78 | 347 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 33 | ابونؤاس | 7.22 | 18.60 | 420 | — | + ve | –ve | –ve | –ve |
| 34 | الكرادة | 7.78 | 30.7 | 401 | — | + ve | + ve | –ve | –ve |
| 35 | الرحمانية | 7.9 | 32.8 | 417 | — | + ve | –ve | –ve | –ve |
| 36 | الرستمية | 7.1 | 52 | 480 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 37 | حي الوحدة | 7.7 | 33.1 | 400 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 38 | سلمان باك | 7.8 | 48.20 | 517 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 39 | جسر ديالى | 7.3 | 50.3 | 480 | — | + ve | + ve | + ve | + ve |
| 40 | الدورة | 7.6 | 25.1 | 450 | — | + ve | –ve | –ve | –ve |

**جدول (4) نتائج فحوصات المياه المعبأة**

| ت | اسم المنتوج | الاس الهيدروجيني | درجة العكورة | المواد الصلبة الذائبة الكلية مغم/لتر | الكلورين مغم/لتر | البكتريا القولونية | البكتريا المسبحية | التحري عن عاثي الكولي فاج | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | | طريقة الاغناء بخطوتين | طريقة طبقة الاكار الاحادية |
| 1 | الأزل | 7.02 | 0.59 | 203 | 0.21 | – ve | –ve | – ve | – ve |
| 2 | الكمال | 7.39 | 0.61 | 170 | 0.16 | – ve | –ve | + ve | + ve |
| 3 | الدولية | 7.15 | 0.61 | 347 | 0.17 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 4 | سولاف | 7.35 | 0.18 | 216 | 0.15 | –ve | –ve | –ve | –ve |
| 5 | البركة | 7.29 | 0.33 | 155 | 0.14 | –ve | – ve | –ve | –ve |
| 6 | الصفا | 7.04 | 0.85 | 104 | 0.24 | + ve | + ve | –ve | –ve |
| 7 | النورس | 7.28 | 0.21 | 397 | 0.33 | + ve | + ve | –ve | –ve |
| 8 | النقي | 6.88 | 0.25 | 141 | 0.14 | – ve | –ve | –ve | –ve |
| 9 | المتحدة | 7.29 | 0.11 | 139 | 0.07 | + ve | –ve | + ve | + ve |
| 10 | العالمية | 7.08 | 0.34 | 405 | 0.16 | – ve | –ve | –ve | –ve |

## المصادر:


1- Melnick, J. L. 1984. Etiological agents and their potential for cuasing waterborne disease, p 1-16. In: J. L. Melnick (ed.), Enteric Viruses in Water. Karger, Basel, Switzerland.

2- Rao, V. C. and Melnick. J. L. 1986. Environmental virology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

3- Havelaar, A. H. 1993. Bacteriophages as models of human enteric viruses in the environment: Although imperfect,

phages can act as sentinels for a safer water supply. ASM News 12:614-619.

4- Kott, Y, Roze,N. Sperber,S. and Betzer.N. 1974. Bacteriophages as viral pollution indicators. Water Res. 8:165-171.

5- Sim, T.S., and Dutka. B.J. 1987. Coliphage Counts; are they necessary to maintain drinking water safety. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 3:223-226.

6- Brezina,S.S., Baldini. M. D. 2008 .Detection of Somatic Coliphages as indicators of faecal contamination in estuarine Waters.REVISTA Argentina de Microbiologia. 40: 72-74.

7- Maggy N.B. Momba, Sibewu.M. and Mandeya.A. 2009.Survival of somatic and F-RAN Coliphages in Treated Wastewater Effluent and their impact on Viral Quality of the Receiving Water Bodies in the Eastrern Cape Province –South Africa.J.Biol.Sci. 9(7):648-654.

8- Debartolomeis J, Cabelli VJ. 1991. Evaluation of an Escherichia coli host strain for enumeration of F male-specific bacteriophages. Appl. Environ. Microbiol. 57:1301-1306.

9- Havelaar AH, Olphen VM, Drost Y. 1993. F-specific RNA bacteriophages are adequate model organisms for enteric viruses in fresh water. Appl. Environ. Microbiol. 59:2956-2962.

10- Grabow, W. O. K. 2001. Bacterophages : Update on application as models for Viruses in Water .Wat. Sa. 27:251-267.

11- Lucena, F.,Mendez, X.,Moron, A.,Calderon, E.,Campos, C.,Guerrero, A., Cardenas, M.,Gantzer, C.,Schwartzbrod, L.,Skraber, S.&Jofre,J.2003. Occurrence and densities of bacteriophages proposed as indicators in river water from Europe and South America. J. Appl.Microbiol. 94(5):808-815.

12- Schper, M., Jofre,J. Uys,M, and Grabow W.O.K. 2002. Distribution of genotypes of F+specific RNA bacteriophages in human and non-human sources of feacal pollution in South Africa and Spain.J.Appl.Microbiol.92(4):657-667.

13- Vinje, J., Oudegans, S.J.G., Stewart, J.R., Sobsey, M.D., and Long, S.C. 2004. Molecular detection and genotyping of male-specific coliphages by RT-PCR and reverse line blot hybridization. Appl. Environ. Microbiol. 70:5996-6004.

14-Sharon C. Long, Samar S. EI-Khoury, Sjon J.G. Oudejans, Sobsey,M D. Jan Vinje. 2005. Assessment of Source and Diversity of Male-Specific Coliphages for source Tracking .Environmental Engineering Science, 22(3): 367-377.

15- Sundram,A , Jumanlal,N and Ehlers,MM.2006. Genotyping of F-RNA coliphages isolated from WasteWater and river Water samples. Water SA.32(1):65-72.

16- U.S. EPA. 200la . Method 1601: Male-specific (F+) and Somatic Coliphage in Water by Two-Step Enrichment Procedure. EPA-821-R-01-030. Washington, DC: Office of Water.

17- US EPA. 200lb. Method 1602: Male-Specific (F+) and Somatic Coliphage in Water by Single Agar Layer (SAL) Procedure. EPA-821-R-01-029. Washington, DC: Office of Water.

18- Sobsey, M. D., Battigelli,D. A. Handzel,T. R. and Schwab.K. J. 1995. Male-specific coliphages as indicators of viral contamination of drinking water. American Water Works Association Research Foundation, Denver, colo.

Sobrinho, J. 2006.Coliphage as a potential indicator of distribution system integrity. J AWWA, 98(7): 87-96.

23- Yee, S. Y. F., Fong,N. Y. Fong,G. T. Tak,O. J. Hui,G. T. and Ming.Y. S. 2006. Male specific RNA coliphages detected by plaque assay and RT-PCR in tropical river waters and animal fecal matter. Int. J. Environ. Health Res. 16:59-68.

24- Giovanna Angela Gentilomi ,Monica Cricca , Giovanna De Luca ,Rossella Sacchetti ,Franca Zanetti . 2008 .Rapid and sensitive detection of MS2 coliphages in wastewater samples by quantitative reverse transcriptase PCR.New Micribiologica.31:273-280.

19- Dana Cole, Sharon C. Long, and Sobsey,M D. 2003. Evaluation of F+ RNA and DNA Coliphages as Source-Specific Indicators of Fecal Contamination in Surface Water, Appl. Environ. Microbiol, 69 (11 ): 6507-6514.

20- Stewart ,JR, Daugomah,JW Graves DA, Sobsey MD and Scott GI .2006. F-RNA coliphage typing for microbial source tracking in surface water .J. Appl.Microbiol. 101(5):1015-1026.

21- Brion, G. M., Meschke,J. S. and Sobsey M. D. .2002. F- specific RNA coliphages:occurrence,types, and survival in natural waters. Water Res.36:2419-2425.

22- LeChevallier, M.W., Karim, M.R., Weihe, J., Rosen, J.S. and

# Use of Coliphages as an indicators of enteroviruses and faecal pollution in Water

***Amir khuhdeyer Abbas*** ***Isam Shaker Hamza*** ***Sundus Ali Jassim****

*Ministry of Science and Technology

## Abstract:

In spite of increasing clinical cases which caused by enteroviruses transferred by water and no documents about entericviruses in the Iraqi water standards.

The use of coliphages as an indicator of enteroviruses and fecal pollution were suggested two procedures were applied . The first is Two-Step Enrichment Method and the second is Single Agar Layer Method. Both methods gives good results in Identification of coliphages through testing fifty different water samples (Tap water, Surface water and Bottled water) the study shows the presence of coliphages in fourteen samples.