

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 23 رجب عام 1433 الموافق 13 يونيو سنة 2012، يجعل منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) إجباريا.

إن وزير التجارة،

- بمقتضى القانون رقم 05 - 12 المؤرخ في 28 جمادى الثانية عام 1426 الموافق 4 غشت سنة 2005 والمتعلق بالمياه، المعدل والمتمّم،

- وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 10 - 149 المؤرخ في 14 جمادى الثانية عام 1431 الموافق 28 مايو سنة 2010 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 - 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق برقابة الجودة وقمع الغش، المعدل والمتمّم،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02 - 453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05 - 465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

- وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 22 ذي الحجة عام 1426 الموافق 22 يناير سنة 2006 الذي يحدد نسب العناصر التي تحتويها المياه المعدنية ومياه المنبع وكذا شروط معالجتها أو الإضافات المسموح بها، المعدل والمتمّم،

- وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمّم،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90 - 39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

يجب أن يستعمل هذا المنهج من طرف المخبر عند الأمر بإجراء خبرة.

المادة 3 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

حرر بالجزائر في 23 رجب عام 1433 الموافق 13 يونيو سنة 2012.

مصطفى بن بلادة

الملحق

منهج البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا)

يحدد هذا المنهج، البحث وإحصاء أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) بواسطة الاغتناء في وسط سائل.

يطبق هذا المنهج، على جميع أنواع المياه بما فيها المياه العكرة.

1. تعريف

لمتطلبات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

كلوستريديا : هي أجسام دقيقة لا هوائية، تشكل أبواغا ومرجعة للسولفيت وتنتمي إلى عائلة البكتيريا عصوية الشكل (Bacillacées) ونوع كلوستريديوم (Clostridium).

2. المبدأ

يتم البحث عن أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية، المرجعة للسولفيت (كلوستريديا) في عينة من الماء ذات حجم معين، على المراحل الآتية :

1.2. انتقاء الأبواغ

يتم انتقاء الأبواغ في العينة عن طريق التسخين لمدة زمنية كافية لإتلاف البكتيريات الجذرية.

2.2. الزرع عن طريق الاغتناء

يتم البحث وحساب أبواغ الأجسام الدقيقة اللاهوائية المرجعة للسولفيت عن طريق زرع أحجام من العينة في أوساط سائلة للاغتناء يتبعها تحضين في شروط لاهوائية في $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ لمدة 44 ± 4 ساعات.

3. أوساط الزرع والكواشف

1.3. المواد الأساسية

لتحسين تكرارية النتائج، ينصح باستعمال مركبات أساسية مجففة أو أوساط كاملة مجففة لتحضير المخفقات وأوساط الزرع. وبنفس الطريقة يمكن استعمال كواشف جاهزة للاستعمال. يجب اتباع تعليمات الصانع بدقة.

كما يجب أن تكون المواد الكيميائية المستعملة لتحضير أوساط الزرع والكواشف ذات نوعية تحليلية معروفة.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا أو ماء خاليا من المعادن والمواد التي تمنع نمو الأجسام الدقيقة وذلك في ظروف التجربة.

يجب أن تجري قياسات العامل الهيدروجيني (pH) وجعله في درجة حرارة 25°C .

إذا لم تستعمل أوساط الزرع المحضرة فورا فيجب حفظها في الظلام في 4°C لمدة شهر واحد على الأكثر، إلا في الحالات المخالفة.

يحفظ بين 2 و 5°م

ينصح بتحضير محلول جديد كل 14 يوما.

4. 2. 3 سيترات الحديد (III) (C₆H₅O₇Fe)
محلول في 7% (ك/ك).

يذوب 7 غ من سيترات الحديد (III) في 100 ملل من الماء. يعقم عن طريق الترشيح.

يحفظ بين 2 و 5°م

ينصح بتحضير محلول جديد كل 14 يوما.

5. 2. 3 وسط كامل

1. 5. 2. 3 تخلط أحجام متساوية كمحالييل سولفيت الصوديوم (3. 2. 3) وسيترات الحديد (III) (4. 2. 3) في يوم القيام بالتحليل.

2. 5. 2. 3 يضاف 0,5 ملل من الخليط (1. 5. 2. 3) في كل قارورة من الوسط ذي تركيز بسيط (1. 2. 2. 3) المسخن والمبرد.

3. 5. 2. 3 يضاف 0,4 ملل من الخليط (1. 5. 2. 3) لكل حجم من 10 ملل و 2 ملل للخليط لكل حجم من 50 ملل من الوسط ذي تركيز مضاعف. تعالج هذه الأحجام بنفس الطريقة.

4. التجهيزات والأدوات الزجاجية للمخبر

المواد الزجاجية والأجهزة المستعملة عادة في مخبر البكتيريولوجيا هي :

1. 4 قارورات أو حوجلات مغلقة بإحكام من الزجاج أو من (Borosilicaté) سعتها 200، 100، 25 ملل.

2. 4 ماصات حجمية، سعتها 10 ملل و 1 ملل.

3. 4 حمامات مائية، مراقبة حراريا.

4. 4 أنابيب اختبار، قطرها 150 ملم x 13 ملم.

5. 4 خيط الحديد.

6. 4 أجهزة التحضين مضبوطة في 37°م ± 1°م.

5. اقتطاع العينات

يجري اقتطاع العينات في شروط تجريبية مناسبة.

6. طريقة العمل

1. 6 معالجة العينات

فيما يخص المنهج المتبع لحفظ ومعالجة العينة، يستند إلى منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

2. 6 انتقاء الأبواغ (التقنية)

قبل إجراء التجربة، يجب أن تسخن عينة الماء في حمام مائي 75°م ± 5°م لمدة 15 دقيقة انطلاقا من لحظة بلوغ درجة الحرارة هذه. في المقابل يجب استعمال كشاهد قارورة مماثلة تحتوي على حجم من الماء مماثل لحجم العينة للتجربة للتحقق من الزمن اللازم للتسخين. يمكن تسجيل درجة حرارة الماء الموجودة في القارورة الشاهد بطريقة مستمرة بواسطة جهاز قياس درجة الحرارة.

2. 3 أوساط الزرع المخفف

1. 2. 3 المخفف

يستعمل مخفف واحد من المخففات المذكورة في منهج الخطوط التوجيهية العامة لإحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

2. 2. 3 وسط مدمم خاص لـكلوستريديا (DRCM)

1. 2. 2. 3 الوسط الأساسي ذو تركيز بسيط

التركيب

لحم مهضوم في بيبتون تريبتيك..... 10 غ
مستخلص لحم..... 10 غ
مستخلص الخميرة..... 1,5 غ
النشاء..... 1 غ
أسيطان الصوديوم مميته..... 5 غ
غلوكوز..... 1 غ
كلورور L - سيستين..... 0,5 غ
ماء..... 1000 ملل

التحضير :

يخلط البيبتون، مستخلص اللحم وأسيطات الصوديوم ومستخلص الخميرة بـ 800 ملل من الماء.

يحضر محلول النشاء بـ 200 ملل من الماء المقطر الباقية على الطريقة الآتية :

يخلط النشاء مع كمية قليلة من الماء البارد ليصبح عجينة. يسخن الماء الباقي حتى يبدأ في الغليان ثم يدخل ببطء في العجينة مع الرج باستمرار. يضاف حينئذ محلول النشاء للخليط الأول ويسخن إلى غاية بلوغ نقطة الغليان وذوبان الخليط. في النهاية، يضاف الغلوكوز وكلوروهيدرات L - سيستين، يذوب.

يعدل العامل الهيدروجيني بجعله بين 7,1 إلى 7,2 بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم لـ 1 مول/ل.

تنقل كمية تقدر بـ 25 ملل من الوسط إلى قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل. تعقم لمدة 15 دقيقة بواسطة جهاز التعقيم في 121°م ± 1°م.

2. 2. 2. 3 وسط أساسي ذو تركيز مضامف

يحضر الوسط الأساسي ذو التركيز المضاعف كما في (1. 2. 2. 3) لكن بإنقاص حجم الماء المقطر إلى النصف.

تنقل منه كميات، تقدر بـ 10 ملل و 50 ملل على التوالي من الوسط إلى قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام ذات سعرات تقدر بـ 25 ملل و 100 ملل على التوالي.

تعقم بجهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في 121°م ± 1°م.

3. 2. 3 سولفيت الصوديوم (Na₂S₂O₃)، محلول

في 4% (ك/ك).

يذوب 4 غ من سولفيت الصوديوم الجفف في 100 ملل من الماء. يعقم عن طريق الترشيح.

3.6 زرع التطعيم والتحضير

يضاف 50 ملل من العينة (6 . 2) إلى قارورة ذات غطاء مغلق بإحكام تحتوي على 50 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3. 5 . 2 . 3).

يضاف 10 ملل من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل تحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3. 5 . 2 . 3).

يضاف 1 ملل من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام سعتها 25 ملل وتحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز بسيط (2. 5 . 2 . 3).

إذا اقتضى الأمر، يضاف 1 ملل من التخفيف 10/1 من العينة (6 . 2) إلى سلسلة تتكون من 5 قارورات ذات أغطية مغلقة بإحكام تحتوي على 25 ملل من وسط ذي تركيز بسيط (2. 5 . 2 . 3).

لإجراء فحص نوعي لـ 100 ملل من ماء صالح للشرب أو ماء معبأ بدون إجراء الحساب بطريقة (ع.أ.إ)، تستعمل حوجلة سعتها 200 ملل تحتوي على خليط من 100 ملل من وسط ذي تركيز مضاعف (3. 5 . 2 . 3) و 100 ملل من العينة (6 . 2).

إذا اقتضى الأمر، تملأ جميع القارورات بوسط ذي تركيز بسيط (2. 5 . 2 . 3) بطريقة يصل فيها السائل إلى العنق بعد التأكد من عدم وجود أي حجم صغير من الهواء. تغلق القارورات بإحكام وتحضن في وسط لا هوائي.

تحضن القارورات 37° م ± 1° م لمدة 44 ± 4 ساعات. **ملاحظة:** يمكن أن تنفجر الأجاجم الكبيرة التي تحتوي على مرق الزرع الموجودة في قارورات زجاجية مغلقة بإحكام بسبب تشكل الغاز. كما أن استعمال خيط من الحديد مسخن حتى الاحمرار ووضعه في الوسط قبل التحضير يمكن أن يخلق وسطا لا هوائيا.

4.6 التفسير

تعتبر قارورات موجبة إذا لوحظ فيها اسوداد ناتج عن ارجاع السولفيت وترسب سولفير الحديد (II).

7. التعبير عن النتائج

يعبر عن النتائج حسب منهج إحصاء الأجسام الدقيقة في وسط الزرع.

