

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 10 رمضان عام 1433 الموافق 29 يوليو سنة 2012، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية، إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى 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 والمتمم،

– 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 المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

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 والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية، فإن مخابر

مراقبة الجودة وقمع الغش وتلك 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 10 رمضان عام 1433 الموافق 29 يوليو سنة 2012.

مصطفى بن بادة

الملحق

المنهج الأفقي لإحصاء البكتيريا

المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية

يبين هذا المنهج الطريقة الأفقية لإحصاء البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية ويطبق في :

– المواد الموجهة لتغذية الإنسان والحيوان،

– عينات المحيط في مجال الإنتاج وتوزيع الأغذية.

1 . تعريف

لاحتياجات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي.

1 . 1 بكتيريا مرجعة للسلفيت النامية في شروط لا هوائية

بكتيريا مشكلة لمستعمرات نموذجية محصاة في شروط محددة في هذا المنهج.

2 . المبدأ

1 . 2 الزرع في الكتلة لعلبتي بيتري (أو لأنبوبين) لوسط من سلفيت الحديد مع كمية محددة من العينة للتجربة إذا كان المنتج الأولي سائلا، أو مع كمية محددة من المحلول الأم في حالة المنتجات الأخرى.

تحضّر علبتان أخريان (أو أنبوبان) من الهلام في نفس الشروط، مع تخفيفات عشرية لعينة للتجربة أو المحلول الأم.

إذا أُجري الإحصاء بواسطة أنابيب (5.4)، يسكب 20 ملل إلى 25 ملل من الوسط في الأنابيب. يعقّم في جهاز التعقيم مدة 15 دقيقة في درجة حرارة 121 °م.

يفرغ الوسط من الهواء مباشرة قبل استعماله.

3 . 2 . المخفف بيتون - ملح.

4 . الأجهزة والأدوات الزجاجية

اللوازم المعتادة في مخابر الأحياء الدقيقة

وبالخصوص ما يأتي :

4 . 1 جهاز المجانسة، لعينات الأغذية الصلبة

4 . 2 حمام مائي، يمكن ضبطه في درجة حرارة

محصورة بين 44 °م و 47 °م.

4 . 3 جرر للشروط اللاهوائية، مجهزة بمعدات

تسمح بتوليد وسط لا هوائي، ويحتوي على نظام مراقبة الشروط اللاهوائية.

4 . 4 جهاز الحظن، يمكن ضبطه في درجة حرارة

37 °م ± 1 °م، وفي 50 °م ± 1 °م إذا اقتضى الأمر.

4 . 5 أنابيب اختبار، ذات أبعاد 16 ملم x 160 ملم،

وحجرات أو قارورات سعتها 500 ملل.

5 - اقتطاع العينة

من المهم أن يتلقى المخبر عينة مثالية، غير معيبة

أو متغيرة عند النقل أو التخزين.

6 . طريقة العمل لتحضير العينة للتجربة

6 . 1 عموميات

يعطى التمثيل البياني لطريقة العمل في الجدول

المبين أدناه.

6 . 2 العينة المأخوذة للتجربة، المحلول الأم

والتخفيفات

من الممكن أن يكون ضروريا، إجراء معالجة

حرارية للمحلول الأم للتخلص من الأشكال الجذرية للبكتيريا المشكلة لأبواغ و/أو البكتيريا غير المتبوعة. تتغير درجات الحرارة ومدة التسخين حسب الحاجيات،

2 . 2 تحضن العلب (أو الأنابيب) في شروط

لاهوائية في درجة حرارة 37 °م ± 1 °م من 24 ساعة إلى 48 ساعة (القراءة الأخيرة خلال 48 ساعة)، عند الاقتران، في درجة حرارة 50 °م عند الاشتباه بوجود بكتيريا مقاومة للحرارة. تحصى المستعمرات المميزة بلون أسود. يعود اللون الأسود للمستعمرات وما حولها إلى تشكل سلفيت الحديد (II) الناتج عن التفاعل بين الأيونات المكبرته وأيونات الحديد ثلاثي التكافؤ [(III) Fe] الموجود في الوسط.

2 . 3 حساب عدد البكتيريا المرجعة للسلفيت

بالمليلتر أو بالغرام من العينة، انطلاقا من عدد المستعمرات المتحصل عليها في العلب (أو الأنابيب).

3 . وسط الزرع والمخفف

3 . 1 هلام الإحصاء : هلام بسلفيت الحديد

3 . 1 . 1 التركيبة

عصارة أنزيمية من الكازين	15 غ
عصارة أنزيمية من الصوجا	5 غ
مستخلص الخميرة	5 غ
ثاني سلفيت الصوديوم (Na ₂ S ₂ O ₅)	1 غ
سيترات الحديد (III) الأمونيك	1 غ
أغار - أغار	9 غ إلى 18 غ
الماء	1000 ملل

أ حسب قدرة تخثر الأغار - أغار

3 . 1 . 2 التحضير

تذوب المقادير في الماء بالتسخين. إذا اقتضى الأمر، يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,6 ± 0,2 في درجة حرارة 25 °م.

تسكب حصص من 250 ملل من الوسط في

قارورات ذات 500 ملل.

نفس الوسط في كل أنبوب، بحيث تغطي الطبقة السابقة.

4.6 الحضان

بعد التجمد، تحضن علب البيتري داخل جرر لشروط لا هوائية (4 . 3) في درجة حرارة $37 \pm 10^\circ \text{م}$ ، من 24 إلى 48 ساعة.

إذا اشتبه في وجود بكتيريا مقاومة للحرارة، تحضر سلسلة ثانية من علب بيتري (أنظر 3 . 6). تحضن هذه العلب في درجة حرارة $50 \pm 1^\circ \text{م}$.

إذا استعملت أنابيب، يكون الحضان في الجرر في الشروط اللاهوائية غير ضروري.

5.6 حساب المستعمرات

تقرأ النتائج بعد 24 ساعة وبعد 48 ساعة، حسب درجة التلوين الأسود ونسبة نمو الكائنات الدقيقة. تحصى المستعمرات السوداء المحتمل أنها محاطة بمنطقة سوداء كبكتيريا مرجعة للسلفيت.

ملاحظة 1 - يمكن أن ينتج اسوداد منتشر وغير نوعي للوسط، لا سيما عندما يجرى التلقيح في أنابيب من الهلام بدلا من علب البيتري. يمكن أيضا لنمو البكتيريا اللاهوائية المنتجة للهيدروجين فقط (ليس H_2S) أن يرجع السلفيت الموجود وإحداث اسوداد عام للوسط.

تحصى المستعمرات المرجعة للسلفيت في كل علبة تحتوي على أقل من 150 مستعمرة مميزة وأقل من 300 مستعمرة بالإجمال.

يمكن أن تكون الأعداد المحددة أعلاه جد مرتفعة بالنسبة للأنابيب، في هذه الحالة لا تأخذ بعين الاعتبار إلا الأنابيب التي تكون بداخلها المستعمرات المعزولة تماما.

ملاحظة 2 - هيا هذا المنهج أيضا لإحصاء الكلوستريديا لوحدها. في هذه الحالة بعد الحصول على مستعمرات مميزة، تقطع خمس من بينها داخل كل علبة مستعملة، ثم يثبت نمط الكلوستريديوم بواسطة تجارب الإثبات (على سبيل المثال تجارب حول القدرة التنفسية، حول تشكل الأبواغ).

تتراوح بدءا من اندماجات منتجة لأثر بسترة واضح إلى عمل لتنشيط الأبواغ بالحرارة (على سبيل المثال 75°م خلال 20 دقيقة) وحتى الغلي لعدة دقائق.

في هذه الحالة، يمكن أن تعطى النتيجة بعد أبواغ البكتيريا المرجعة للسلفيت النامية في شروط لاهوائية.

3.6 الزرع

تأخذ علبتي بيتري معقمتين. بواسطة ماصة معقمة، ينقل في كل علبة 1 ملل من العينة للتجربة إذا كان المنتج المراد اختباراه سائلا، أو 1 ملل من المحلول الأم للمنتوجات الأخرى.

تأخذ علبتي بيتري أخريين معقمتين. بواسطة ماصة أخرى معقمة، ينقل 1 ملل من المخفف العشري الأول (10^{-1}) من العينة للتجربة إذا كان المنتج سائلا، أو 1 ملل من المخفف العشري الثاني (10^{-2}) من المحلول الأم للمنتوجات الأخرى.

يعاد الإجراء الموصوف مع التخفيفات التي تلي، باستعمال ماصة معقمة جديدة لكل تخفيف.

يضاف لكل علبة بيتري حوالي 15 ملل من هلام بسلفيت الحديد (3 . 1) مبرّد بواسطة حمام مائي (4 . 2) في درجة حرارة محصورة بين 44°م و 47°م . من الأنسب عدم تجاوز المدة بين زرع علب بيتري وإضافة الوسط الهلامي 15 دقيقة.

يمزج التطعيم جيدا مع الوسط الهلامي بواسطة حركات أفقية، ثم يترك الوسط ليتجمد.

بعد تجمد الوسط، يسكب في علبة من 5 ملل إلى 10 ملل من نفس الوسط، بحيث تغطي الطبقة السابقة.

في حالة استعمال الأنابيب، يلقح 1 ملل من كل من التخفيفات في كل من الأنبوبين المحتويين على الوسط الهلامي، يحفظ في درجة حرارة محصورة بين 44°م و 47°م .

يمزج بلطف مع اجتناب تشكل فقاعات هوائية، ثم يترك الوسط ليتجمد بواسطة حمام مائي (4 . 2).

بعد أن يتجمد الوسط، يسكب 2 ملل إلى 3 ملل من

الجدول التمثيل البياني لطريقة العمل

x1 غ من العينة المأخوذة للتجربة + 9 غ من المخفف

المحلول الأم

التخفيف (أنظر 2.6)

معالجة حرارية للتخلص من
البكتيريا الجذرية (أنظر 2.6)
للحصول على النتيجة بعدد
أبواغ البكتيريا أو بعدد أبواغ
الكلوستريديا المقاومة للحرارة
(أنظر الملاحظة 2 في 5.6)

هلام بسلفيت الحديد (1.3).
الحضن في درجة حرارة $37 \pm 1^\circ \text{م}$ ، خلال
24 ساعة إلى 48 ساعة (أنظر 4.6)

تحليل النتائج :
نتيجة تعطي عدد البكتيريا المرجعة
للسلفيت النامية في الشروط اللاهوائية

تجارب الإثبات (أنظر الملاحظة 2 في 5.6)
حول :
- القدرة التنفسية
- تشكل الأبواغ
نتيجة تعطي عدد كلوستريديا.

في حالة الاشتباه في البكتيريا المقاومة
للحرارة (أنظر 4.6)

هلام بسلفيت الحديد (1.3).
الحضن تعطي في درجة حرارة $50 \pm 1^\circ \text{م}$ ،
خلال 24 ساعة إلى 48 ساعة (أنظر 4.6)

تحليل النتائج :
نتيجة تعطي عدد البكتيريا المرجعة
للسلفيت النامية في الشروط اللاهوائية

تجارب الإثبات (أنظر الملاحظة 2 في 5.6)
حول :
- القدرة التنفسية
- تشكل الأبواغ
نتيجة تعطي عدد كلوستريديا المقاومة
للحرارة.