

- 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 13-328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 21 صفر عام 1439 الموافق 11 نوفمبر سنة 2017، يجعل منهج إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة من طريق حساب المستعمرات المتحصّل عليها في 44° م، إجباريا.

إن وزير التجارة،

- بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 17-243 المؤرخ في 25 ذي القعدة عام 1438 الموافق 17 غشت سنة 2017 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

2. مصطلحات وتعريفات : يقصد في مفهوم هذا المنهج، بما يأتي :

1.2 بكتيريا القولون المتحملة للحرارة : بكتيريات في درجة حرارة معينة، تشكل مستعمرات مميّزة في هلام يحتوي على اللاكتوز والصفراء بالكريستال البنفسجي والأحمر المعتدل، عند إجراء التجربة حسب التقنية المحددة في هذا المنهج.

2.2 إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة : هو إحصاء عدد بكتيريا القولون المتحملة للحرارة الموجودة بالملييلتر أو بالغرام من العينة، عند إجراء التجربة حسب التقنية المحددة في هذا المنهج.

3. المبدأ :

1.3 يزرع في عمق الوسط الهلامي بالصفراء والكريستال البنفسجي والأحمر المعتدل واللاكتوز، مُصَبَّ في علب بيتري :

- كمية محددة من عينة التجربة إذا كان المنتج المراد فحصه سائلا،

- أو كمية محددة من المحلول الأم في حالة مواد أخرى.

يغطى بعد ذلك بطبقة من نفس الوسط.

وفي نفس الشروط، تزرع علب بيتري أخرى مع تخفيفات عشرية متحصل عليها انطلاقا من عينة التجربة أو المحلول الأم.

2.3 تحضين علب بيتري في 44° م لمدة 24 ساعة.

3.3 يحسب عدد بكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالملييلتر أو بالغرام من عينة التجربة انطلاقا من عدد المستعمرات المميّزة المحصاة عن كل علبة بيتري.

4. المخففات ووسط الزرع :

تستعمل خلال التحليل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها أو ماء مقطر أو ماء منزوع الأيونات معقم.

1.4 المخففات :

يجب تحضير المخففات طبقا للتعليمات المحددة في المناهج المتعلقة بتحضير العينات للتجربة والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي المحددة في التنظيم المعمول به.

2.4 وسط الزرع : هلام بالكريستال البنفسجي والأحمر المعتدل والصفراء واللاكتوز (VRBL).

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 15-172 المؤرخ في 8 رمضان عام 1436 الموافق 25 يونيو سنة 2015 الذي يحدد الشروط والكيفيات المطبقة في مجال الخصائص الميكروبيولوجية للمواد الغذائية،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 17-62 المؤرخ في 10 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 7 فبراير سنة 2017 والمتعلق بشروط وضع وسم المطابقة للوائح الفنية وخصائصه وكذا إجراءات الإشهاد بالمطابقة،

- وبمقتضى القرار المؤرخ في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014 الذي يجعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي، إجباريا،

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 منهج إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة عن طريق حساب المستعمرات المتحصل عليها في 44° م، إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة عن طريق حساب المستعمرات في 44° م، تلزم مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض باستعمال المنهج المبيّن 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 21 صفر عام 1439 الموافق 11 نوفمبر سنة 2017.

محمد بن مرادي

الملحق

منهج إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة من طريق حساب المستعمرات المتحصل عليها في 44° م

1. مجال التطبيق :

يحدد هذا المنهج تقنية إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة، في جميع المواد الموجهة للاستهلاك البشري أو التغذية الحيوانية، عن طريق حساب المستعمرات في وسط صلب بعد التحضين في 44° م.

6.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (PH)

بتدقيق 0,1 وحدة (PH) في 25°م وذو عتبة أدنى للقياس 0,01 وحدة (PH).

6. اقتطاع العينات :

يجب أن تكون عينة التجربة ممثلة حقيقيا غير متلفة أو تغيّرت أثناء النقل أو التخزين.

يجب إجراء اقتطاع العينات طبقا للشروط المحددة في التنظيم المعمول به، أو المواصفات المعترف بها، إذا اقتضى الأمر.

7. تحضير العينة للتجربة :

يجب إجراء تحضير عينة التجربة طبقا للمناهج التحاليل المتعلقة بتحضير العينات والمحلل الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي المحددة في التنظيم المعمول به.

8. طريقة العمل :**1.8 العينة المأخوذة للتجربة و المحلول الأم****والتخفيفات :**

يجب أن يحضّر المحلول الأم والتخفيفات طبقا للمناهج المتعلقة بتحضير العينات للتجربة والمحلل الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي المحددة في التنظيم المعمول به.

2.8 الزرع والتحصين :

2.8.1 تؤخذ علبه بيتري معقمة (2.5). ينقل 1 ملل من العينة للتجربة بواسطة ماصة معقمة (5.5) في علبه بيتري إذا كانت المادة سائلة أو 1 ملل من المحلول الأم بالنسبة للمواد الأخرى.

تؤخذ علبه بيتري أخرى معقمة. تنقل 1 ملل بواسطة ماصة جديدة معقمة من التخفيف العشري الأول لعينة التجربة إلى العلبه إذا كان المنتج سائلا أو 1 ملل من التخفيف العشري الأول للمحلل الأم في حالة المنتجات الأخرى.

تعاد هذه العمليات والتخفيفات التي تليها بواسطة ماصة جديدة معقمة لكل تخفيف عشري.

2.8.2 يصبّ في كل علبه بيتري حوالي 15 ملل من الوسط الهلامي بالصفراء والأحمر المعتدل والكريستال البنفسجي واللاكتوز (1.2.4) ميرد في حمام مائي (3.5) في درجة حرارة تتراوح ما بين 44°م و 47°م.

1.2.4 التركيب :

عصارة أنزيمية للأنسجة الحيوانية.....7غ
مستخلص الخميرة.....3غ
أملاح الصفراوية.....1,5غ
اللاكتوز.....10غ
كلورور الصوديوم.....5غ
أحمر معتدل0,03غ
الكريستال البنفسجي.....0,002غ
أغار- أغار بكتريولوجي من 12غ إلى 18غ أ
ماء.....1000غ

أ : حسب قدرة التجمد للأغار - أغار

2.2.4 التحضير: تذوّب المرّكبات أو الوسط

الكامل المجفف في الماء، مع وضعها للغليان.

يعلّل العامل الهيدروجيني (PH)، إذا اقتضى الأمر، بحيث يكون بعد الغليان والتبريد $7,4 \pm 0,2$ في 25°م. يوزع وسط الزرع في أنابيب معقمة أو في قارورات معقمة (4.5) ذات سعة مناسبة. يُجنب التسخين المطول أو التسخين المتكرر. لا يعقّم في جهاز التعقيم (Autoclave).

يستعمل هذا الوسط بصفة سريعة بعد التحضير (لا تتجاوز 4 ساعات). لا يعقم هذا الوسط ويحضّر فوراً.

5. التجهيزات والأدوات الزجاجية :

الأجهزة المتداولة في المخبر الميكروبيولوجي، لا سيما :

1.5 جهاز التحصين مضبوط في 44 ± 1 °م.

2.5 ملب بيتري معقمة من الزجاج أو من مادة بلاستيكية، قطرها يتراوح ما بين 90 مم و 100 مم.

3.5 حمام مائي أو جهاز مشابه مزود بمقياس حراري ما بين 44°م و 47°م.

4.5 أنابيب اختبار وقارورات ذات سعة مناسبة.

5.5 ماصات مدرجة ذات تدفق كامل، سعتها 1 ملل

و 2 ملل مدرجة بـ 0,1 ملل.

حيث:

$\sum C$: عدد المستعمرات المميّزة المحسوبة في العلبتين المحتفظ بهما،
 V : حجم اللقاح (Inoculum) المطبق على كل علبنة بالملييلتر،
 d : نسبة التخفيف الموافقة للتخفيف الأول المحسوب،

تدور النتائج المحسوبة إلى رقمين ممثلين.

تؤخذ كنتيجة، عدد بكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالملييلتر أو بالغرام من المنتج، معبر عنها بعدد يتراوح ما بين 1 و 9.9 مضروب في 10^x ، حيث x هي القوة المناسبة للعدد 10.

مثال : أعطى إحصاء بكتيريا القولون المتحملة للحرارة في 44°M في المنتج السائل، النتائج الآتية :

- عند التخفيف الأول 10^{-2} : 83 مستعمرة محتفظ بها.

- عند التخفيف الثاني 10^{-3} : 13 مستعمرة محتفظ بها.

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d} = \frac{83+13}{1 \times 1,1 \times 10^2} = \frac{96}{0,011} = 8727$$

تدور النتيجة إلى رقمين ممثلين أي 8700 أو 8.7×10^3 بكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالملييلتر من المنتج.

2.9 تقدير الأعداد الصغيرة :

1.2.9 إذا كانت علبنة بيتري تحتوي سواء عند عينة التجربة (منتج سائل) أو المحلول الأم (منتجات أخرى) على أقل من 10 مستعمرات مميّزة، تعطى النتيجة على النحو الآتي :

• بالنسبة للمنتجات السائلة، العدد المقدر N_e لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالملييلتر:

$$N_e = a$$

حيث:

a : هي عدد المستعمرات المميّزة المحسوبة،

• بالنسبة للمنتجات الأخرى، العدد المقدر N_e لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالغرام :

$$N_e = a / d$$

يخلط بعناية اللقاح (Inoculum) بوسط الزرع ويترك الخليط ليتصلب مع وضع علب بيتري على سطح بارد وأفقي.

3.2.8 بعد تصلب الخليط، تضاف طبقة سمكها حوالي 5 ملل من محلول (VRBL) (2.4) المبرد كما هو مبين في (2.2.8) لتجنب انتشار المستعمرات.

4.2.8 تترك الطبقة الثانية تتجمد. تقلب العلب المحضرة (الغطاء إلى الأسفل) وتحضن في جهاز التحضين مضبوط في $44^\circ\text{M} \pm 1^\circ\text{M}$ (1.5) لمدة 2 ± 24 ساعة.

ملاحظة : من الضروري وضع علب بيتري بصفة سريعة في جهاز التحضين بعد التجمد.

3.8 حساب المستعمرات :

بعد مرحلة التحضين المحددة في (4.2.8) يجرى حساب المستعمرات المميّزة لبكتيريا القولون المتحملة للحرارة لكل علبنة بيتري لا تحتوي على أكثر من 150 مستعمرة في المجموع. إذا كان عدد المستعمرات يتجاوز هذا العدد، فقد تأخذ مستعمرات بكتيريا القولون المتحملة للحرارة مظاهر غير مميّزة.

بعد 24 ساعة من التحضين، تأخذ المستعمرات المميّزة اللون البنفسجي ذات قطر يفوق أو يساوي 0,5 مم، وتكون في بعض الأحيان محاطة بمنطقة حمراء تدل على ترسب الصفراء.

9. التعبير من النتائج :

1.9 حالة عامة :

يحتفظ بالعلب التي تحتوي على أقل من 150 مستعمرة مميّزة و/أو غير مميّزة عند تخفيفين متتاليين. يجب أن تحتوي علبنة بيتري على 10 مستعمرات، على الأقل.

يحسب العدد N بكتيريا القولون المتحملة للحرارة بالملييلتر أو بالغرام من المنتج كمعدل مرجح بواسطة المعادلة الآتية :

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d}$$

حيث :

a : هي عدد المستعمرات المميزة المحسوبة،

d : نسبة التخفيف للمحلول الأم.

2.2.9 إذا تراوح إجمالي المستعمرات بين 1 و3

تكون ثقة النتائج ضعيفة جدا، حيث نعبّر عن النتيجة كما يأتي :

وجود بكتيريا القولون المتحمّلة للحرارة، لكن بأقل من $(d/1 \times 4)$ من بكتيريا القولون المتحمّلة للحرارة بالغرام أو بالملييلتر.

3.2.9 إذا لم تحتو العلبية على أي مستعمرة مميّزة

سواء عند عينة التجربة (منتوج سائل) أو المحلول الأم (منتجات أخرى) تعطى النتائج على النحو الآتي :

• أقل من مستعمرة واحدة لبكتيريا القولون بالملييلتر (منتوج سائل)،

• أقل من $1 \times \frac{1}{d}$ من بكتيريا القولون المتحمّلة للحرارة بالغرام (منتجات أخرى).

حيث :

d : نسبة التخفيف من المحلول الأم.

