

MINISTERE DU COMMERCE

Arrêté du 16 Joumada El Oula 1440 correspondant au 23 janvier 2019 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des *Pseudomonas. spp* présomptifs dans les viandes et les produits carnés.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 17-243 du 25 Dhou El Kaâda 1438 correspondant au 17 août 2017, modifié, portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes, notamment son article 19 bis ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 13-328 du 20 Dhou El Kaâda 1434 correspondant au 26 septembre 2013 fixant les conditions et les modalités d'agrément des laboratoires au titre de la protection du consommateur et de la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 15-172 du 8 Ramadhan 1436 correspondant au 25 juin 2015 fixant les conditions et les modalités applicables en matière de spécifications microbiologiques des denrées alimentaires ;

Vu l'arrêté du 28 Rajab 1435 correspondant au 28 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique ;

Vu l'arrêté du 12 Rabie Ethani 1439 correspondant au 31 décembre 2017 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des viandes et des produits carnés ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, notamment son article 19 bis, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire la méthode de dénombrement des *Pseudomonas.spp* dans les viandes et les produits carnés.

Art. 2. — Pour le dénombrement des *Pseudomonas. spp* dans les viandes et les produits carnés, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet, doivent employer la méthode jointe en annexe du présent arrêté.

Cette méthode doit être, également, utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 16 Joumada El Oula 1440 correspondant au 23 janvier 2019.

Saïd DJELLAB.

ANNEXE

**METHODE DE DENOMBREMENT
DES *PSEUDOMONAS. SPP* PRÉSUMPTIFS
DANS LES VIANDES ET LES PRODUITS CARNÉS**

1. Domaine d'application :

La présente méthode spécifie une technique pour le dénombrement des *Pseudomonas.spp* présomptifs présents dans les viandes et les produits carnés, y compris les volailles.

2. Définition :

Au sens de la présente méthode, on entend par :

***Pseudomonas. spp* présomptifs :** bactéries qui, à 25 °C, forment des colonies dans un milieu gélosé au cétrimide, au fusidate de sodium et à la céphalothine (CFC) et qui présentent une réaction positive à l'oxydase.

3. Principe :

Préparation d'une suspension mère et des dilutions décimales à partir de l'échantillon pour essai.

Ensemencement dans une boîte de Petri contient le milieu sélectif solide gélosé CFC avec une quantité spécifiée de la suspension mère du produit.

Préparation d'autres boîtes de Petri dans les mêmes conditions, en utilisant des dilutions décimales de la suspension mère.

Incubation des boîtes de Petri à 25 °C pendant 44 h ± 4 h.

Confirmation des colonies de *Pseudomonas. spp* présomptifs par l'essai à l'oxydase (réaction positive).

Calcul du nombre de *Pseudomonas. spp* présomptifs par millilitre, ou par gramme, de l'échantillon pour essai à partir du nombre de colonies confirmées par boîte de Petri.

4. Diluants, milieux de culture et réactifs :

4.1 Diluant :

Pour la préparation du diluant, il ya lieu de se conformer :

— à la méthode fixant les règles générales pour la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixée par la réglementation en vigueur ;

— à la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique pour les viandes et les produits à base de viande, fixée par la réglementation en vigueur.

4.2 Milieux de culture et réactifs :

Milieu gélosé au cétrimide, au fusidate de sodium et à la céphalothine.

4.2.1 Milieu de base :

Composition :

Digestat enzymatique de gélatine.....	16 g
Digestat enzymatique de caséine.....	10 g
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄).....	10 g
Chlorure de magnésium (MgCl ₂).....	1,4 g
Agar-agar*.....	12 g à 18 g
Eau.....	1000 ml

* La masse utilisée dépend du pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

Préparation :

Dissoudre les composants de base ou le milieu de base déshydraté dans l'eau en portant à ébullition. Ajuster le pH (5.4), si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,2 ± 0,2 à 25 °C.

Répartir le milieu de base dans des flacons ou des bouteilles de capacité appropriée (5.6). Stériliser à l'autoclave (5.1) à 121 °C pendant 15 min.

4.2.2 Solutions d'inhibiteur :

Les solutions doivent être conservées à l'abri de la lumière à 5 °C ± 3 °C dont la durée ne dépasse pas sept (7) jours.

4.2.2.1 Solution de céphalothine :

Composition :

Sel de sodium de céphalothine	0,1 g
Eau	100 ml

Préparation :

Dissoudre la céphalothine dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

4.2.2.2 Solution de fusidate de sodium :

Composition :

Fusidate de sodium	0,1 g
Eau	100 ml

Préparation :

Dissoudre le fusidate de sodium dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

4.2.2.3 Solution de cétrimide :

Composition :

Cétrimide*	0,1 g
Eau	100 ml

* Mélange consistant, principalement, en bromure de tétradécyltriméthylammonium avec de petites quantités de bromure de dodécyltriméthylammonium et de bromure de cétrimonium (hexadécyltriméthylammonium).

préparation :

Dissoudre le céramide dans l'eau et stériliser la solution par filtration.

4.2.3 Milieu complet :

Composition :

	Volume ml	Concentration finale µg/ml
Milieu de base (4.2.1)	100	—
Solution de céphalothine (4.2.2.1)	5	50
Solution de fusidate de sodium (4.2.2.2)	1	10
Solution de cétrimide (4.2.2.3)	1	10

Préparation :

Ajouter les solutions d'inhibiteurs au milieu de base refroidi dans un bain d'eau à 47 °C ± 2 °C (5.3), puis mélanger soigneusement.

4.2.3.1 Préparation des boîtes de Petri contient le gélose CFC :

Répartir le milieu complet (4.2.3), par quantités d'environ 15 ml, dans des boîtes de Petri stériles (5.8) et laisser se solidifier.

Sécher les boîtes de Petri de gélose, immédiatement, avant l'utilisation, de préférence sans couvercles, avec la surface de la gélose tournée vers le bas, dans une étuve réglée entre 25 °C et 50 °C, jusqu'à disparition des gouttelettes à la surface du milieu.

Pour les milieux gélosés disponibles dans le commerce, il convient de les stocker et de les utiliser, selon les instructions du fabricant.

Dans le cas ou, les boîtes de Petri de milieu gélosé sont préparées à l'avance, elles ne doivent pas être conservées plus de 4 semaines à 5 °C ± 3 °C, si elles n'ont pas été séchées au préalable.

4.3 Réactif pour la recherche de l'oxydase :**Composition :**

Dichlorhydrate de <i>N,N,N',N'</i> -tétraméthyl-p- phénylènediamine	1 g
Eau	100 ml

Préparation :

Dissoudre le réactif dans l'eau, immédiatement, avant utilisation.

Des disques de l'oxydase ou autres dispositifs disponibles dans le commerce peuvent être utilisés.

Dans ce cas, suivre les recommandations du fabricant.

5. Appareillage et verrerie :

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et, en particulier, ce qui suit :

5.1 Appareil pour la stérilisation en chaleur sèche (étuve) ou en chaleur humide (autoclave).

5.2 Etuve pouvant fonctionner à $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

5.3 Bain d'eau pouvant fonctionner à $47\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$.

5.4 pH mètre pouvant mesurer avec une précision de $\pm 0,05$ unité pH.

5.5 Anses bouclées en platine iridié ou anses bouclées stériles à usage unique équivalentes.

5.6 Tubes à essai, bouteilles ou flacons, de capacités appropriées.

5.7 Pipettes à écoulement total stériles d'une capacité nominale de 1 ml, graduées en divisions de 0,1 ml ou pipettes automatiques utilisant des embouts stériles.

5.8 Boîtes de Petri en verre ou en plastique de 90 mm à 100 mm de diamètre.

5.9 Etaleurs en verre ou en plastique, par exemple baguettes en verre en forme de crosse de hockey d'environ 3,5 mm de diamètre, de 200 mm de longueur, coudées à angle droit à 30 mm environ d'une des extrémités et dont les bords de coupe ont été régularisés par chauffage.

6. Echantillonnage :

L'échantillon doit être réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

Préparation de l'échantillon pour essai :

Préparer l'échantillon pour laboratoire conformément :

— à la méthode fixant les règles générales pour la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique fixée par la réglementation en vigueur ;

— à la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique pour les viandes et les produits de la viande, fixée par la réglementation en vigueur ;

— à la méthode spécifique, appropriée pour chaque produit concerné.

7. Mode opératoire :**7.1 Prise d'essai, suspension mère et dilutions :**

Préparer la suspension mère et les dilutions, conformément à la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique pour les viandes et les produits de la viande, fixée par la réglementation en vigueur.

7.2 Ensemencement et incubation :

Une boîte de Petri pour chaque dilution doit être utilisée avec, au moins, deux (2) dilutions successives. Si une seule dilution est réalisée, deux (2) boîtes de Petri doivent alors être utilisées.

Prendre une boîte de Petri de gélose CFC (4.2.3.1) et à l'aide d'une pipette (5.7), transférer 0,1 ml de la suspension mère dans la boîte de Petri.

Prendre une autre boîte de Petri de gélose CFC et à l'aide d'une autre pipette stérile, transférer 0,1 ml de la première dilution décimale de la suspension mère dans la boîte de Petri.

Répéter ces opérations avec les dilutions suivantes, en utilisant une pipette stérile pour chaque dilution décimale.

Répartir le liquide sur la surface de la boîte de Petri gélosée avec un étaleur stérile (5.9) jusqu'à ce que la surface soit complètement sèche.

Incuber dans une étuve (5.2) à $25\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ pendant 44 h \pm 4 h les boîtes de Petri ainsi préparées dont leurs couvercles sont tournés vers le bas.

7.3 Comptage et sélection des colonies :

Après la période d'incubation spécifiée, procéder au comptage des colonies sur chaque boîte de Petri et retenir les boîtes contenant moins de 150 colonies.

Prélever, au hasard, cinq colonies représentant tous les types de colonies, sur chacune des boîtes de Petri retenues et les soumettre à confirmation (7.4).

7.4 Confirmation :**7.4.1 Recherche de l'oxydase :**

Humecter un morceau de papier filtre avec le réactif d'oxydase (4.3). Prélever une colonie sélectionnée en utilisant une anse bouclée (5.5) en platine ou en plastique (une anse bouclée en nickelchrome donne de faux positifs) et le déposer sur le papier filtre humecté.

En présence d'oxydase, une couleur violette à pourpre apparaît dans les 5 s à 10 s. Si la couleur n'a pas viré après 30 s, l'essai est considéré comme négatif.

Confirmer les résultats en utilisant des souches de référence.

7.4.2 Interprétation :

Les colonies présentant une réaction positive à l'oxydase doivent être considérées comme des colonies de *Pseudomonas. spp* présumptifs.

8. Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés selon différents modes de calcul fixés par les méthodes reconnues à l'échelle internationale et ce, selon le cas.

————★————