وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك و عرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل 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 و المتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث عن السالمونيلا في الحليب ومنتجات الحليب، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق. كما يجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005.

نور الدين بوكروح

الملحق
منهج البحث عن السالمونيلا في الحليب و منتجات الحليب

1– تعاريف

ضمن إطار هذه الطريقة تطبق التعاريف التالية:

1.1 السالمونيلا :

عضو مجهري دقيق، يشكل مستعمرات نموذجية فوق أوساط انتقائية، صلبة لها مميزات بيوكميائية ومصلية مبينة عند إجراء التجارب وفق هذه الطريقة.

2.1 البحث عن السالمونيلا :

يتم الكشف عن وجود أو غياب هذه الأعضاء المجهرية الدقيقة في كتلة أو حجم محدد في المنتوج، عند إجراء التجربة وفق هذه الطريقة.

2 - المبدأ :

على العموم ، البحث عن السالمونيلا يتطلب أربعة مراحل متتالية كما هو مبين في 1.2 إلى 4.2 (لاحظ كذلك كيفية العمل المبينة في الملحق)

1.2 الاغتناء المسبق في وسط سائل :

تزرع العينة المأخوذة للتجربة داخل الوسط، ثم تحضن في37°م لمدة 16 إلى 20 ساعة.

2.2 الاغتناء في أوساط سائلة انتقائية :

– يزرع وسط لرباعي التيونات و وسط سيلينيت السيستين مع الزرع المتحصل عليه في (1.2).

– يحضن الوسط لرباعي التيونات في43°م و يحضن وسط السيلينيت السيستين في37°م على مرحلتين من 18 إلى 24 ساعة.

3.2 العزل والتعريف :

انطلاقا من الزرع المتحصل عليه(2.2)، يزرع الوسطين الانتقائيين الصلبين من هلام الأحمر الفينول و الأخضراللامع و هلام السلفيت البسميث.

يحضنان في37°م ثم يختبران بعد 20 إلى24 ساعة وإن اقتضى الأمر، يختبران بعد 40 إلى48 ساعة، من أجل مراقبة وجود مستعمرات، المفترض أنها السالمونيلا بسبب خصائصها.

4.2 الإثبات :

يعاد زرع المستعمرات ، المفترض أنها السالمونيلا (3.2) والتأكد بواسطة اختبارات بيوكيميائية ومصلية مناسبة.

3- أوساط الزرع، الكواشف و الأمصال :

1.3 المكونات الأساسية :

لتحسين نسخ النتائج، ينصح باستعمال، من أجل تحضير أوساط الزرع ، مكونات منزوعة الماء في الأصل أوأوساط كاملة منزوعة الماء.

المواد الكيميائية المستعملة لتحضير أوساط الزرع و الكواشف يجب أن تكون ذات نوعية تحليلية معترف بها.

الماء المستعمل يجب أن يكون ماءا مقطرا أو خال من الأملاح المعدنية ، و خال من المواد التي بإمكانها أن تعيق نمو الأعضاء المجهرية الدقيقة في الظروف التجريبية.

عندما يحدد الهلام ، المقدار المستعمل يجب أن يتغير وفق المعلومات المذكورة لإعطاء أوساط ذات ثبات مناسب.

يجب أن تجرى قياسات العامل الهيدروجيني بواسطة جهاز خاص به يدعى جهاز العامل الهيدروجيني (pH متر). هذه القياسات ترجع إلى درجة 25°م. التعديلات الملائمة تنجز بإضافة ، إما محلول حامض الكلور يدريك لـ 1مول /لتر، و إما محلول هيدروكسيد الصوديوم لـ 1مول/ لتر.

لا تستعمل أوساط الزرع و الكواشف فورا بل يجب أن تحفظ في الظلام ، في درجة حرارة 4 ± 1° م لمدة شهر على الأكثر، في ظروف تمنع كل تغيير في تركيبها إلا في حالة وجود تعليمات مخالفة.

2.3 أوساط الزرع

1.2.3 وسط ذو اغتناء مسبق

ماء بيبتوني مثبت .

التركيب:

بيبتون..... 10,0غ

كلورور الصوديوم 5,0غ

هيدروجينو- أورتو- فوسفات، ثنائي الصوديوم

ثنائي عشاري مميه ($Na_2HPO_4,12H_2O$.).....9,0غ

ثنائي هيدروجينو- اورتو - فوسفات البوتاسيوم..... (KH_2PO_4).....1,5غ

الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات في الماء حتى الغليان.

- يعدل العامل الهيدروجين (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يوزع الوسط بمقادير225 ملل، داخل قارورات سعتها 500 ملل(أو مضاعفات 225ملل داخل قارورات سعتها مناسبة).

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.2.3 وسط للاغتناء انتقائي: مرق لرباعي التيونات (موليير- كوفمان)

الأخضر اللامع 0,5غ

الماء 100ملل

1.2.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

مستخلص اللحم.....5,0غ

بيبتون..... 10,0غ

كلورور الصوديوم..... 3,0غ

كربونات الكالسيوم 45,0غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

- تضاف المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الأساسي الكامل و المنزوع الماء إلى الماء، ليصل إلى الغليان حتى الذوبان الكامل للمكونات المنحلة.

- يعدل العامل الهيدروجيني (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يعقم الوسط الأساسي لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

2.2.2.3 محلول تيوسلفات الصوديوم

التركيب :

تيوسلفات الصوديوم خماسي الإماهة

($Na_2S_2o_3\ 5H_2o$).....50,0غ

الماء كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

- يذوب تيوسلفات الصوديوم داخل جزء من الماء.

- يكمل إلى الحجم النهائي.

- يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

3.2.2.3 محلول اليود

التركيب :

اليود 20,0غ

إيودور البوتاسيوم 25,0غ

الماء ، كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

– يذوب إيودور البوتاسيوم داخل حجم قليل من الماء، ثم يضاف اليود.

– نرج إلى غاية الذوبان الكامل.

– يكمل إلى الحجم النهائي.

– يحفظ المحلول داخل إناء داكن مغلق بصفة كاملة.

4.2.2.3 محلول الأخضر اللامع

التركيب:

الأخضر اللامع 0,5غ

الماء 100ملل

التحضير:

– يضاف الأخضر اللامع إلى الماء .

–يحفظ المحلول على الأقل يوم واحد في الظلام للحصول على التعقيم الذاتي .

5.2.2.3 محلول مرارة البقرة

التركيب :

مرارة البقرة المجففة..... 10,0غ

الماء..... 100ملل

التحضير :

– تذوب مرارة البقرة المجففة داخل الماء حتى الغليان.

– يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م

6.2.2.3 الوسط الكامل

التركيب:

الوسط الأساسي (1.2.2.3) 900ملل

محلول تيوسلفات الصوديوم (2.2.2.3) 100ملل

محلول اليود(3.2.2.3).....20 ملل

محلول الأخضر اللامع(4.2.2.3).....2 ملل

محلول مرارة البقرة (5.2.2.3).....50ملل

التحضير :

– يضاف بطهارة إلى الوسط الأساسي المكونات الأخرى بالترتيب المعطى أعلاه . نخلط بعناية المحاليل بعد كل إضافة .

– يوزع بطهارة الوسط الكامل بمقادير 100ملل ، داخل قارورات معقمة سعتها 500ملل.

– يحفظ في 0,5°م في الظلام مع استعماله في الأسبوع الموالي للتحضير.

3.2.3 أول وسط للتعريف :

هلام بالأحمر الفينول و الأخضر اللامع (إدال وكامبلماشر)

1.3.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

مستخلص مسحوق اللحم 5,0غ

بيبتون..... 10,0غ

مستخلص مسحوق الخميرة.....3,0غ

هيدروجينو– اورتو– فوسفات ثنائي الصوديوم (Na_2HPO_4) 1,0غ

ثنائي هيدروجينو– اورتو– فوسفات الصوديوم(NaH_2PO_4).....0,6غ

أغار– أغار ..... 12,0 إلى 18,00غ

الماء..... 900 ملل

التحضير:

– تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الأساسي الكامل المنزوع الماء داخل الماء حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدر وجيني بحيث بعد التعقيم يكون 7،0 ± 0،1.

– يوزع الوسط الأساسي داخل أنابيب أو في قارورات معقمة سعتها القصوى 500 ملل.

2.3.2.3 محلول السكر بأحمر الفينول

التركيب :

لاكتوز.....10,0غ

سكاروز 10,0غ

أحمر الفينول..... 0,09غ

الماء، كمية كافية لـ..... 100ملل

التحضير:

– تذوب المكونات في الماء.

– تسخن داخل الحمام المائي لمدة 20 دقيقة في70°م.

– تبرد في 55°م مع استعمالها مباشرة .

3.3.2.3 الوسط الكامل

التركيب :

الوسط الأساسي (1.3.2.3).....900 ملل

محلول سكر الأحمر الفينول(2.3.2.3).....100ملل

محلول الأخضر اللامع(4.2.2.3).....1ملل

التحضير:

– يضاف بطهارة محلول الأخضر اللامع إلى محلول سكر الأحمر الفينول المبرد في55°م.

– يضاف إلى الوسط الأساسي المذوب و المثبت في50°م إلى 55°م ويخلط.

4.3.2.3 تحضيرالعلب :

– يوزع الوسط الكامل المبرد في45°م، بكميات حوالي15ملل داخل علب بيتري المعقمة قطرها 90 مم ويترك ليتجمد.

– قبل الاستعمال، تجفف و بعناية علب الوسط الهلامي من الأفضل بعد سحب الأغلفة و تقليب العلب داخل محضن أو مجفف معدل في50 ± 5°م لمدة30 دقيقة.

– يجب عدم الاحتفاظ بعلب الوسط الهلامي غير الجافة، أكثر من 4 ساعات في درجة حرارة المخبر أو أكثر من 24 ساعة في 0°م إلى5°م.

4.2.3 ثاني وسط للتعريف : هلام لسلفيت البسميث

التركيب :

بيبتون 10,0غ

مستخلص البقرة 5,0غ

غلوكوز 5,0غ

هيدروجينو- اورتو- فوسفات ثنائي الصوديوم.....4,0غ

سولفات الحديد.....(II).....0,3غ

سيترات البسميث أمونياكال..... 1,85غ

سلفيت الصوديوم 6,15غ

أغار- أغار..... 20,0غ

الأخضر اللامع..... 0,025غ

الماء 1000ملل

التحضير :

– تذوب المكونات في الماء حتى الغليان لمدة حوالي دقيقة واحدة.

– يعدل العامل الهيدروجيني(PH) إلى 7،7 ± 0،1.

- يبرد بين 45°م و50°م مع الخلط ببطء الراسب المعلق.

– لا يعقم الوسط.

– يوزع الوسط، بكميات 20 ملل داخل علب بيتري معقمة قطرها (90 مم) و يترك ليتجمد.

– مباشرة قبل الاستعمال، تجفف و بعناية علب الوسط الهلامي و من الأفضل بعد أن تسحب الأغلفة وتقلب العلب، داخل محضن أو مجفف معدل في 50 ± 5°م. لمدة30 دقيقة.

– تستعمل العلب الجافة بين 24 و48 ساعة بعد تحضيرها. تحفظ في الظلام.

5.2.3 الهلام المغذي

التركيب :

مستخلص اللحم..... 3,0غ

بيبتون 5,0غ

أغار-أغار 12,0غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

– تذوب المكونات منزوعة الماء للوسط أو الوسط الكامل المنزوع الماء داخل الماء، حتى الغليان.

– يعدل العامل الهدروجيني (PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

– يوزع وسط الزرع داخل أنابيب أو قارورات معقمة سعتها القصوى500 ملل.

– يعقم الوسط لمدة 20 دقيقة في 121± 1°م

تحضير علب الهلام المغذي

تسكب حوالي 15 ملل من الوسط الذائب داخل علب بيتري المعقمة (قطرها 90 مم) و تنجز مثل ما هو مذكور في (4.3.2.3).

6.2.3 الهلام بسترات الحديد و بثلاثة أنواع من السكر(هلامTSI)

التركيب:

مستخلص اللحم.....3,0غ

مستخلص الخميرة..... 3,0غ

بيبتون 20,0غ
كلورور الصوديوم..... 5,0غ
لاكتوز..... 10,0غ
سكاروز 10,0غ
غلوكوز 1,0غ
سيترات الحديد(III) 0,3غ
تيوسلفات الصوديوم..... 0,3غ
أحمر الفينول 0,024غ
أغار- أغار..... 12,0غ
الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب مكونات الوسط منزوعة الماء أو الوسط الكامل المنزوع الماء داخل الماء حتى الغليان.
- يعدل العامل الهيدروجيني (PH) بحيث يكون بعد التعقيم 7،4 ± 0،1.
- يوزع الوسط بمقادير10 ملل داخل أنابيب قطرها بين 17و18مم.
- يعقم الوسط لمدة 10 دقائق في 121 ± 1°م
- يترك للراحة في وضعية مائلة من خلالها نتحصل على راسب عمقه 2,5 سم و بميل مقدر بين 4 و 5 سم.

7.2.3 هلام من أجل البحث على إنزيم اليورياز (كليريستينسان).

1.7.2.3 الوسط الأساسي

التركيب :

بيبتون..... 1,0غ
غلوكوز 1,0غ
كلورور الصوديوم 5,0غ
ثنائي هيدروجينو- اورتو- فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4).....2,0غ
احمر الفينول 0.012غ
أغار- أغار..... 15,0غ
ماء..... 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء أو الوسط الكامل المنزوع الماء في الماء حتى الغليان .
- يعدل العامل الهيدروجيني PH إذا اقتضى الأمر بحيث بعد التعقيم يكون 6،8 ± 0،1.

- يعقم الوسط الأساسي لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.7.2.3 محلول اليوريا :

التركيب :

اليوريا..... 400غ
الماء، كمية كافية لـ 1000ملل

التحضير:

- تذوب اليوريا في الماء.
- يعقم بالترشيح و يراقب التعقيم. (حسب تقنية التعقيم بالترشيح).

3.7.2.3 الوسط الكامل :

التركيب :

الوسط الأساسي (1.7.2.3) ..... 950 ملل
محلول اليوريا (2.7.2.3) 50ملل

التحضير:

- يضاف بطهارة محلول اليوريا إلى الوسط الأساسي المذوب مسبقا، ثم يبرد في 45°م.
- يوزع الوسط الكامل بمقادير10ملل داخل أنابيب معقمة .
- يترك للراحة في وضعية مائلة.

3.2.8 وسط لاختزال الكربون لليزين

التركيب :

أحادي هيدروكلورور- ل- لين 5,0غ
مستخلص الخميرة 3,0غ
غلوكوز 1,0غ
أرجواني بروموكريزول..... 0,015غ
الماء 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات في الماء حتى الغليان.

يعدل العامل الهيدروجيني(PH) بحيث بعد التعقيم يكون7،0 ± 0،1.

- يوزع الوسط بكميات 5 ملل داخل أنابيب الزرع قطرها حوالي 8 مم و طولها حوالي 160مم
- يعقم الوسط لمدة 10 دقائق في 121 ± 1°م.

3.3 الكواشف :

1.3.3 محلول مالح :

التركيب :

كلورور الصوديوم 8,5غ
الماء 1000ملل

التحضير :

– يذوب كلورور الصوديوم داخل الماء حتى الغليان.

– يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم 7,0±0,1.

– يوزع المحلول داخل قارورات أو أنابيب، بحيث بعد التعقيم، تكون تحتوي على90 إلى 100ملل من المحلول.

– يعقم المحلول لمدة 15 دقيقة في 121 ± 1°م.

2.3.3 كواشف للبحث علىB – غلاكتوزيداز :

1.2.3.3 التوليان :

2.2.3.3 محلول مثبت :

التركيب :

ثنائي هيدرو– اورتو– فوسفات الصوديوم (NaH_2PO_4).....6,9غ

هيدروكسيد الصوديوم، محلول لحوالي0.1 مول/لتر ..... 3 ملل

الماء، كمية كافية لـ 50ملل

التحضير :

– يذوب ثنائي هيدروجينو – اورتو– فوسفات الصوديوم داخل حوالي 45 ملل من الماء.

– يعدل العامل الهيدروجيني (pH) في 7,0±0,1 بواسطة حوالي 3 ملل من محلول هيدروكسيد الصوديوم.

– يكمل إلى 50 ملل بالماء .

3.2.3.3 محلول اورتو نيتروفينول-D-B-غلكتوبير انوزيد (ONPG)

التركيب :

(ONPG).....0,08غ

الماء 15ملل

التحضير :

– تذوب (ONPG) داخل الماء في 50°م

– يبرد المحلول.

4.2.3.3 الكاشف الكامل :

التركيب :

محلول مثبت (2.2.3.3) .....5 ملل

محلول (ONPG) (3. 2.3.3.) .....15 ملل

التحضير :

يضاف محلول مثبت إلى محلول(ONPG)

3.3.3 كواشف من أجل تفاعل فوجس – بروسكاور (V.P)

(طريقة سريعة لباري و فني)

1.3.3.3 وسط V.P :

التركيب :

بيبتون ..... 7,0 غ

غلوكوز 5,0غ

هيدروجينو– اورتو– فوسفات ثنائي البوتاسيوم ..... K_2HPO_4.....5,0غ

الماء 1000ملل

التحضير :

– تذوب المكونات داخل الماء.

– يعدل العامل الهيدروجيني(pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,0±0,1.

– توزع 3 ملل من الوسط داخل كل أنبوب.

– يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة على الأكثر في121 ±1°م

2.3.3.3 محلول الكرياتين :

التركيب :

كرياتين أحادي الإماهة (ن– اميدينوساركوزين).....0,5غ

الماء 100ملل

التحضير:

يذوب الكرياتين أحادي الإماهة داخل الماء.

3.3.3.3 محلول إيتانوليك نافتول –1

التركيب :

نافتول -1.....6غ

إيتانول (96% (ح/ح) 100ملل

التحضير :

يذوب النافتول -1 داخل الإيتانول.

4.3.3.3 محلول هيدروكسيد البوتاسيوم :

التركيب :

هيدروكسيد البوتاسيوم 40غ

الماء..... 100ملل

التحضير :

يذوب هيدروكسيد البوتاسيوم داخل الماء .

4.3.3 كواشف من أجل تفاعل الإندول :

1.4.3.3 وسط تريبتون- تريبتوفان (ل- جيتوف) :

التركيب :

تريبتون 10غ

كلورور الصوديوم 5غ

د- ل تريبتوفان 1غ

الماء 1000ملل

التحضير :

- تذوب المكونات داخل الماء حتى الغليان، يرشح.

- يعدل العامل الهدروجيني (pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,5±0,1.

- توزع 5 ملل من الوسط في كل أنبوب .

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م

2.4.3.3 كاشف الكوفاكس :

التركيب :

ثنائي ميتيل لارنينو -4 بنزا الدهيد 5غ

حمض كلوريدريك، 1,18 إلى 1,19غ/ملل 25ملل

مثيل – 2 بوتانول- 2..... 75 ملل

التحضير :

تخلط المكونات.

5.3.3 الهلام المغذي النصف صلب :

التركيب :

مستخلص اللحم 3,0غ

بيبتون 5,0غ

أغار- أغار 4إلى 9غ

الماء..... 1000ملل

التحضير:

- تذوب المكونات الأساسية منزوعة الماء داخل الماء حتى الغليان .

- يعدل العامل الهدروجيني(pH) بحيث بعد التعقيم يكون 7,0±0,1.

- يوزع الوسط داخل قارورات سعتها القصوى 500ملل.

- يعقم الوسط لمدة 15 دقيقة في121 ± 1°م.

تحضير علب الهلام :

- يوزع الوسط الكامل ، حديث التحضير، داخل علب بيتري بكميات 15ملل، يجب أن لا تجفف العلب.

4.3 أمصال :

يمكن أن توجد عدة أمصال ضد السالمونيلا تحتوي على واحد أو عدة مجموعات صنف"0" (تسمى مضادات المصل "0" أحادي الاختصاص أو متعدد الاختصاص) . مضادات المصل VI ومضادات المصل المحتواة على مضادات حيوية لواحد أو عدة عوامل "H" (تسمى مضادات المصل "H " أحادي الاختصاص) تتبع إرشادات الاستعمال لكل مصل.

4 - الأجهزة و الأواني :

التجهيزات العادية للمخبر الميكروبيولوجي، لا سيما :

1.4 الأجهزة :

1.1.4 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (مثل الفرن أو بواسطة الحرارة الرطبة (جهاز التعقيم) :

يجب أن تكون الأجهزة الملامسة لأوساط الزرع ، المخفف و العينة، معقمة ما عدا المعقمة مسبقا خاصة التي تكون من البلاستيك :

- سواء بالفرن المثبت في درجة حرارة تتراوح بين 170°م و175°م لمدة ساعة على الأقل.

- أو بواسطة جهاز التعقيم المثبت في 121 ±1° لمدة 20 دقيقة على الأقل .

جهاز التعقيم ضروري أيضا لتعقيم أوساط الزرع و كذلك الكواشف. يجب أ ن يكون معدل في 121 ±1°م

2.1.4 جهاز للتجفيف: محضن أو مجفف ، مهوي (يسمح بتجفيف سطح الأوساط الهلامية المسكوبة داخل العلب) ، معدلة في50 ±5°م.

3.1.4 محضن معدل في 37 ± 1°م .

4.1.4 حضن معدل في 43 ± 0.5°م.

5.1.4 حمام مائي معدل في 45 ±1°م وفي37 ±1°م

6.1.4 أجهزة المجانسة :

يجب استعمال إحدى التجهيزات التالية :

أ) جهاز تجانس دوراني ، يعمل بتواتر دوراني يقدر ما بين 8000 و 45000 دورة/ دقيقة بواسطة إناء زجاجي أومعدني, مزود من الأحسن بأغلفة مقاومة لظروف التعقيم.

ب) جهاز تجانس من نوع البيريستالتيكي (péristaltique) مع أكياس بلاستيكية معقمة .

يجب أن تكون سعة الأواني أو الأكياس البلاستيكية، كافية لإجراء الخلط الصحيح للعينة المأخوذة للتجربة مع المخفف. على العموم ، حجم الإناء يجب أن يعادل مرتين حجم العينة و كذا المخفف.

7.1.4 أسلاك الزرع الحلقية : من البلاتين غير مجعدة أو من النيكل- كروم قطرها حوالي 3 مم .

8.1.4 جهاز لقياس العامل الهيدروجيني: (يسمح بقياس العامل الهيدروجيني (PH) للأوساط والكواشف المحضرة) بتدقيق مثبت لـ± 0,1 وحدة (PH) في 25°م.

9.1.4 ثلاجة : تستعمل لحفظ الأوساط والكواشف المحضرة معدلة بين 0°م – 5°م.

2.4 الأواني الزجاجية :

يجب أن تكون الأواني الزجاجية لها قابلية المقاومة ضد التعقيم المتكرر.

1.2.4 قارورات الزرع : من أجل التعقيم و حفظ أوساط الزرع وكذا تحضين الأوساط السائلة .

2.2.4 أنابيب الزرع : قطرها 8 مم و طولها 160مم، من أجل وسط منزوع الكربون لليزين.

3.2.4 قنينة مدرجة : من أجل تحضير الأوساط الكاملة

4.2.4 ماصات مدرجة : سعتها 10,25 و 1ملل، مدرجة بالتسلسل 0,5 و0,1 ملل .

5.2.4 علب بيتري.

5 - المعايرة :

تتم المعايرة وفق شروط مناسبة.

6 - تحضير العينات للتجربة :

1.6 الحليب :

– رج بقوة العينة المأخوذة للتجربة لتحقيق توزيع عادل للأعضاء المجهرية ، بحيث تقلب و بسرعة 25مرة الإناء و بداخله العينة، يجب تجنب تشكل الرغوة أو تترك لتتحلل.

– يجب أن لا تتعدى المدة بين الخلط و اقتطاع العينة المأخوذة للتجربة 3 دقائق.

2.6 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب أو مسحوق مخاض الزبدة ، لاكتوز ، كازيين :

– يخلط بعناية محتوى الوعاء المغلق بالرج اليدوي مع التقليب بطريقة متكررة ، إذا كان الوعاء جد مملوء، وللوصول إلى رج مقبول، يؤخذ وعاء أكبر منه يسمح بالخلط.

3.6 الزبدة :

– تذوّب العينة داخل إناء معقم داخل حمام مائي مثبت في 45° ±1°م (5.1.4).

- يرج عند التذويب ثم يسحب الإناء مباشرة من الحمام المائي عندما تكون العينة كاملة الذوبان

4.6 الجبن :

عادة ما تمثل عينة واحدة (1) للمخبر ، العينة المأخوذة للتجربة مكونة لعينة التجربة.نجري التجربة مثل ما هو مبين في (5.1.7)

5.6 مثلجات للاستهلاك :

نعمل بنفس الإجراءات المعمول بها في حالة الزبدة (3.6) لكن مع استعمال حمام مائي مثبت في 37°م (5.1.4) بحيث أن العينة لا تتجاوز درجة الحرارة هذه .

6.6 الحليب المخمر، الياهورت، القشدة المحلية :

يخلط محتوى الوعاء المغلق ، مع التحريك باليد و قلب الوعاء بطريقة متكررة ، ثم يفتح الوعاء و يخلط المحتوى بطهارة بواسطة ملعقة معقمة.

7 – طريقة العمل :

1.7 العينة المأخوذة للتجربة والاغتناء المسبق :

– ندخل العينة المأخوذة للتجربة داخل الوسط المغتني مسبقا وننجز العملية مثل ما هو مبين في (1.1.7)إلى (7.1.7).

- من أجل اختصار طرق العمل للاغتناء و الاغتناء المسبق، يرجع إلى الجدول1.

1.1.7 الحليب :

الاغتناء المسبق غير ضروري، يرجع إلى(2.7) باستعمال على التوالي 25 ملل من العينة المأخوذة للتجربة و 225 ملل من الوسط المغذي.

2.1.7 الحليب الجاف :

تحضر قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الماء المقطر معقم و 1ملل من محلول الأخضراللامع (4.2.2.3) توزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة و تسكب على سطح السائل الموجود داخل القارورة.

تسد القارورة ، مع عدم الخلط ، يترك للراحة في درجة حرارية عادية لمدة 60 ± 10دقيقة ، هذا قبل التحضين. تعديل العامل الهيدروجيني (PH) غير ضروري .

إذا كان الحليب الجاف لم ينحل بعد 3 ساعات من التحضين ، يخلط محتوى القارورة بالرج .

3.1.7 الحليب الجاف، مخاض زبدة الحليب الجاف:

– يوزن بطهارة، 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الماء المقطر المعقم.

– يرج إلى غاية الانحلال و يضاف 1ملل من الأخضر اللامع (4.2.2.3)

4.1.7 لاكتوز :

يوزن بطهارة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على 225 ملل من الوسط المغتني مسبقا (1.2.3) مع الرج إلى غاية الانحلال.

5.1.7 كازيين الجبن :

– توزن وبصفة نظيفة 25غ من العينة المأخوذة للتجربة داخل وعاء معقم مرفق بجهاز المجانسة ذ و سرعة كبيرة أومن النوع بيريستالتيك (Péristaltique).

(6.1.4) مع إضافة 225 ملل من الوسط المغتني مسبقا (1.2.3) في45°م.

– تخلط إلى غاية أن تكون العينة كاملة التوزيع (من 1 إلى 3 دقائق)

– التأكد من أن درجة حرارة التوزيع لا تتعدى 45°م.

6.1. 7 الزبدة :

ترج العينة المأخوذة للتجربة المذوبة وبواسطة ماصة مع إيصالها إلى درجة حرارية قدرها 45°م، مع إدخال 25 ملل داخل قارورة محتواة على225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3)مع الخلط.

7.1.7 منتجات الحليب المجمدة

(بما في ذلك مثلجات الاستهلاك):

تدخل بواسطة ماصة 25 ملل من العينة للتجربة و المذوبة داخل قارورة محتواة على 225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3) مع الخلط.

8.1.7 الحليب المخمر، ياهورت، قشدة محلية :

– توزن بطهارة 25 غرام من العينة للتجربة داخل قارورة مسدودة محتواة على كريات زجاجية و على225 ملل من الوسط المغذي مسبقا (1.2.3) مع الرج من أجل الانحلال.

– يراقب العامل الهيدروجيني (PH) ويعدل إذا اقتضى الأمر إلى7،0 ما لم توجد تعليمات مخالفة لذلك

9.1.7 التحضين :

تحضن القارورات المحضرة وفق (2.1.7)إلى (8.1.7) في37°م لمدة 16- 20 ساعة.

2.7 الاغتناء :

1.2.7 : ننقل بواسطة ماصة 10ملل من الوسط المغذي مسبقا المحضن (1.7) في قارورة محتواة على100ملل من الوسط المغذي الانتقائي برباعي التيونات(2.2.3).

في حالة الحليب، ننقل وبطهارة 25 ملل من العينة المأخوذة للتجربة في 225 ملل من الوسط برباعي تيونات (2.2.3)

2.2.7 : يحضن الوسط بالرباعي التيونات المزروع لمدة 18 إلى 24 ساعة في 43° ± 0.5°م.

3.7 الزرع و التعريف :

1.3.7 : انطلاقا من الزرع للوسط المغذي، يزرع بواسطة سلك الزرع سطح العلبة المعبأة بالهلام المكون من الأخضراللامع و الأحمر الفينول(3.2.3) وعلبة أخرى معبأة بهلام سلفيت البيسميث (4.2.3) بطريقة تسمح بنمو مستعمرات جد منفصلة.

يعاد وضع وسط الاغتناء للتحضين (لاحظ 3.3.7)

2.3.7 : تحضن العلب (مقلوبة) في37 ± 1° م. لمدة 24-20 ساعة.

3.3.7 : بعد تحضين القارورات لمدة 18-24 ساعة تعاد عمليات الزرع و كذلك التحضين المذكورة في (1.3.7و 2.3.7)

4.3.7 بعد التحضين تختبر العلب (2.3.7 و3.3.7) للبحث على وجود مستعمرات مطابقة للسالمونيلا. إذا كان النمو ضعيفا ولا توجد مستعمرات مطابقة للسالمونيلا، تحضن من جديد العلب في 37 ± 1° م.لمدة 18-24 ساعة ويعاد اختبار العلب من أجل البحث عن المستعمرات المطابقة للسالمونيلا.

5.3.7 : المستعمرات المطابقة للسالمونيلا يمكن أن تتميز على النحو الآتي :

– تكون المستعمرات المطابقة للسالمونيلا على الهلام بالأخضر اللامع /أحمر الفينول (3.2.3) وردية محاطة بالأحمر.

– تكون المستعمرات المطابقة للسالمونيلا على الهلام بالسلفيت البسيميث (4.2.3) بنية أو سوداء مع بريق معدني، بعض السلالات تعطى مستعمرات خضراء.

جدول 1- الموجز لطرق العمل

للاغتناء المسبق والاغتناء

المادة	كمية العينة	الوسط المغذي مسبقا *	طريقة التحضير	الوسط المغذي
الحليب	50 ملل 2 x 25 ملل	لايوجد	تخلط	225 ملل من رباعي التيونات
حليب جاف	25غ	ماء مقطر + محلول الأخضر اللامع	يبلل لمدة 60 ± 10 دقائق لا يخلط**	100 ملل من رباعي التيونات
مصل الحليب الجاف مخاض زبدة جافة	25غ	ماء مقطر + محلول الأخضر اللامع	تخلط	100 ملل من رباعي التيونات
لاكتوز	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
كازيين، الجبن	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط في 45°م على الأكثر	100 ملل من رباعي التيونات
الزبدة	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
منتوجات حليبية مجمدة	25ملل	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات
حليب مخمر ياهورت قشدة محلية	25غ	225 ملل ماء بيتوني مثبت	يخلط	100 ملل من رباعي التيونات

* إذا كان الوسط المغذي مسبقا قد أستعمل بعد التحضين لمدة 20 ساعة في37°م، نعيد زرع 10ملل من العينة المحضنة و تخلط مع الوسط المغذي مسبقا داخل الوسط المغذي .

** إذا لم يذوب الحليب الجاف بعد 3 ساعات من التحضين، يخلط محتوى القارورات عن طريق الرج.

4.7 الإثبات :

1.4.7 اختيار المستعمرات من أجل الإثبات :

انطلاقا من كل علبة لكل الأوساط الاختيارية (5.3.7)، تقتطع 5 مستعمرات نموذجية أو مشبوهة أو لو وجدت أقل من5 مستعمرات نموذجية أو مشبوهة. تقتطع كلها للإثبات.

2.4.7 التحضين :

تزرع المستعمرات المختارة على سطح علب الهلام المغذي (5.2.3) بطريقة تسمح بنمو المستعمرات جد منفصلة و تحضن العلب في37 ± 1°م لمدة 18-24 ساعة.

بعد التحضين، يحتفظ بالمستعمرات النقية الجد منفصلة من أجل الإثبات البيوكميائي و المصلي.

3.4.7 الإثبات الببوكيميائي :

بواسطة خيط للزرع، تزرع الأوساط الآتية بواسطة المستعمرات الخالصة.

1.3.4.7 هلام بسترات الحديد و بثلات أنواع من السكر(TSI) (6.2.3) :

يزرع ميل الهلام بطريقة الخطوط ويزرع في القعر بالوخز.

يحضن لمدة 24 ساعة في37 ± 1°م.

تفسر تغييرات الوسط بالطريقة الآتية :

القعر :

لون أصفر.....غلوكوز إيجابي(تخمر الغلوكوز)

لون أحمر أو عدم تبدله .....غلوكوز سلبي(عدم تخمر الغلوكوز)

اللون الأسود.....تشكيل كبريت الهيدروجين.

فقاعات أو تشققات..... تكوين غازات انطلاقا من الغلوكوز

الميل :

لون أصفر.....لاكتوز و/أو سكاروز موجب (تخمر اللاكتوز و/ أو السكاروز).

لون أحمر أو عدم تبدله ..... لاكتوز و سكاروزسالب (عدم تخمر اللاكتوز ولاالسكاروز).

2.3.4.7 هلام للبحث عن إنزيم اليوريا (7.2.3) :

يزرع بطريقة الخطوط ميل الهلام. يحضن لمدة 24 ساعة في37 ± 1°م. عندما يكون التفاعل موجبا، ينتج إنزيم اليوريا تسرب الأمونياك و يعمل على تحويل الأحمر الفينول إلى اللون الوردي ثم إلى اللون الأحمر العاتم.

3.3.4.7 وسط اختزال كربون الليزين (8.2.3) :

– يزرع الوسط مباشرة تحت سطح السائل.

– يحضن لمدة 24ساعة في 37 ± 1°م.

لون بنفسجي بعد التحضين يدل على تفاعل موجب.

لون أصفر يدل على تفاعل سلبي.

4.3.4.7 كاشف للبحث على B - غلاكتوزيداز (2.3.3) :

- يوضع على شكل معلق قبضة من المستعمرة المشبوهة داخل أنبوب يحتوي على 0.25 ملل من المحلول الملحي (1.3.3).

– ثم تضاف قطرة من التوليان، ثم يرج الأنبوب.

– يوضع الأنبوب داخل حمام مائي في37 ± 1°م. لعدة دقائق.

– يضاف 0,25 ملل من الكاشف للبحث عن

B - غلاكتوزيداز ، ثم يخلط.

– يعاد وضع الأنبوب داخل الحمام المائي في37 ± 1°م. لمدة 24 ساعة .

– لون أصفر يدل على تفاعل موجب.

– التفاعل عادة مرئي في حدود20 دقيقة.

5.3.4.7 وسط لتفاعل فوكس بروسكاور (V.P) (3.3.3) :

– يزرع أنبوبان بواسطة معلق لقبضة من المستعمرة المشبوهة داخل 0.2 ملل من وسط(V.P) (1.3.3.3) داخل كل أنبوب.

– يحضن أنبوب في درجة حرارة عادية والآخر في37 ± 1°م. لمدة24 ساعة.

– بعد التحضين يضاف إلى كل أنبوب قطرتين من محلول الكرياتين (2.3.3.3)، 3 قطرات من محلول إيتانوليك النافتول– 1 (3.3.3.3) ، ثم قطرتان من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (4.3.3.3)، يخلط الأنبوبان بعد إضافة كل كاشف .

تغير اللون الوردي إلى اللون الأحمر الفاتح خلال 15 دقائق يدل على تفاعل موجب.

6.3.4.7 وسط من أجل تفاعل الأندول (4.3.3) :

- يزرع بواسطة جزء من المستعمرة أنبوب يحتوي على 5 ملل من وسط تريبتون- تريبتوفان (1.4.3.3)

– يحضن لمدة24 ساعة في37 ± 1°م.

– بعد التحضين ، تضاف قطرتين أو ثلاث قطرات من كاشف الكوفاكس (2.4.3.3).

و تشكل حلقة حمراء تدل على تفاعل موجب.

وتشكل حلقة صفراء بنية تدل على تفاعل سالب.

الجدول 2 تفسير النتائج

تجارب الإثبات	تفاعل موجب أو سالب	النسبة المئوية لسلالة السالمونيلا الممثلة للتفاعل
غلوكوز TSI (تكوين حمض) (1.3.4.7)	+	100
غلوكوز TSI(تشكل غاز) (1.3.4.7)	+	91,9
لاكتوز TSI (1.3.4.7)	(1)-	99,2
سكاروز TSI (1.3.4.7)	-	99,5
كبريتات الهيدروجين TSI (2.3.4.7)	+	91,6
تفكيك اليوريا (2.3.4.7)	-	100
اختزال كربون الليزين (3.3.4.7)	+	94,6
تفاعل B -غلاكتوزيداز (4.3.4.7)	(2)-	98,5
تفاعل فوكس بروسكاور (VP) (5.3.4.7)	-	100
تفاعل الاندول (6.3.4.7)	-	98,9

تفسير التجارب البيوكيميائية :

تفسير النتائج وفق الجدول2 :

الجدول 2 تفسيرالنتائج (أنظر جدول2)

(1) السالمونيلا متفرعة من النوع الثالث (أريزونا) تعطي تفاعل موجب أو سالب باللاكتوز ولكن دائما تفاعل موجب لـ B – غلاكتوزيداز .

(2) لسالمونيلا من النوع الثاني ، تعطي تفاعل سلبي للاكتوز، و لكنها يمكن أن تعطي تفاعل موجب لـ B– غلاكتوزيداز.

4.4.7 منهج التشخيص السريع :

إن مناهج التشخيص السريع أنظر إلى التنبيه في (1.3) يمكن أن تستعمل في مكان العمليات المبينة في (3.4.7) من أجل الإثبات البيوكيميائي للمستعمرات النموذجية أو المشكوك فيها .

في هذه الحالة، فإن تعليمات الاستعمال يجب أن تتبع بدقة .

5.4.7 الإثبات المصلي :

يجرى الكشف عن وجود مولدات الضد O، H،Vi للسالمونيلا بواسطة تخثر على سطح صفيحة بواسطة أمصال مناسبة ، فوق مستعمرات نقية (1.4.7) بعد التخلص من السلالات ذات التخثر الذاتي.

1.5.4.7 التخلص من السلالات ذات التخثر الذاتي:

– توضع على سطح صفيحة جد نظيفة قطرة من محلول مالح (1.3.3).

– يوزع داخل هذه القطرة جزء من المستعمرة (2.4.7) لمحاولة الحصول على معلق متجانس ومعكر .

– تخضع الصفيحة إلى تذبذب لمدة 30 إلى 60 ثانية.

– ملاحظة النتائج على قعر أسود و من المستحسن بواسطة عدسة مكبرة .

– تعتبر السلالات ذاتية التخثر إذا تجلطت الجراثيم إلى أكداس على الأقل متشابهة. يعتبر الإثبات المصلي لهذه السلالات ذاتية التخثر مستحيل من خلال طريقة العمل المبينة في (2.5.4.7)،(3.5.4.7) و(4.5.4.7).

2.5.4.7 إظهار لمولد الضدO :

- تستعمل سلالات خالصة (2.4.7) غير ذاتية التخثر (1.5.4.7).

– تجرى العملية كما هو مبين في (1.5.4.7) لكن باستعمال قطرة من المضاد المصلي O. (4.3) عوض المحلول المملح .

– تستعمل الأمصال أحادية أو متعددة الخدمات الواحدة تلوى الأخرى .

3.5.4.7 إظهار لمولد الضد Vi :

تنجز العملية كما هو مذكور في (2.5.4.7) لكن باستعمال قطرة من المضاد المصلي Vi (4.3) عوض المحلول المملح .

4.5.4.7 إظهار لمولد الضد H :

– يزرع الهلام المغذي النصف صلب (5.3.3)بواسطة سلالة خالصة غير ذاتية التخثر (1.5.4.7)

– يحضن الوسط لمدة 18 إلى 24 ساعة في 37 ± 1°م

يُستعمل هذا الزرع لاختبار مولد الضد H كما هو مذكور في (2.5.4.7)، باستعمال قطرة من المضاد المصلي H (4.3) عوض المحلول المملح .

5.5.4.7 تفسير التفاعلات المصلية :

إذا وجد تخثر ، اعتبرت التفاعلات إيجابية .

6.4.7 تفسير التفاعلات البيوكيميائية والمصلية

1.6.4.7 تعتبر السلالات سالمونيلا إذا قدمت تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) وتعطي تفاعلات مصلية موجبة كما هو مبين في (5.4.7).

2.6.4.7 السلالات التي تظهر تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) ولكن لا تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.)، السلالات التي لا تقدم تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) و لكن تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.). و السلالات ذاتية التخثر و التي تظهرتفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7)يمكن أن تكون سالمونيلا .

3.6.4.7 إذا لم تظهر السلالات تفاعلات بيوكيميائية نموذجية (3.4.7) ولا تعطي تفاعلات مصلية موجبة وفق (5.4.7.) لا تعتبر سالمونيلا.

7.4.7 الاثبات النهائي

بالنسبة للسلالات التي تعتبر سالمونيلا(1.6.4.7) أو التي يمكن اعتبارها كذلك (2.6.4.7) يجب اجراء تعريف للسالمونيلا من أجل إثبات التبيان النهائي من التفاعل المصلي .

8 – زرع المراقبة

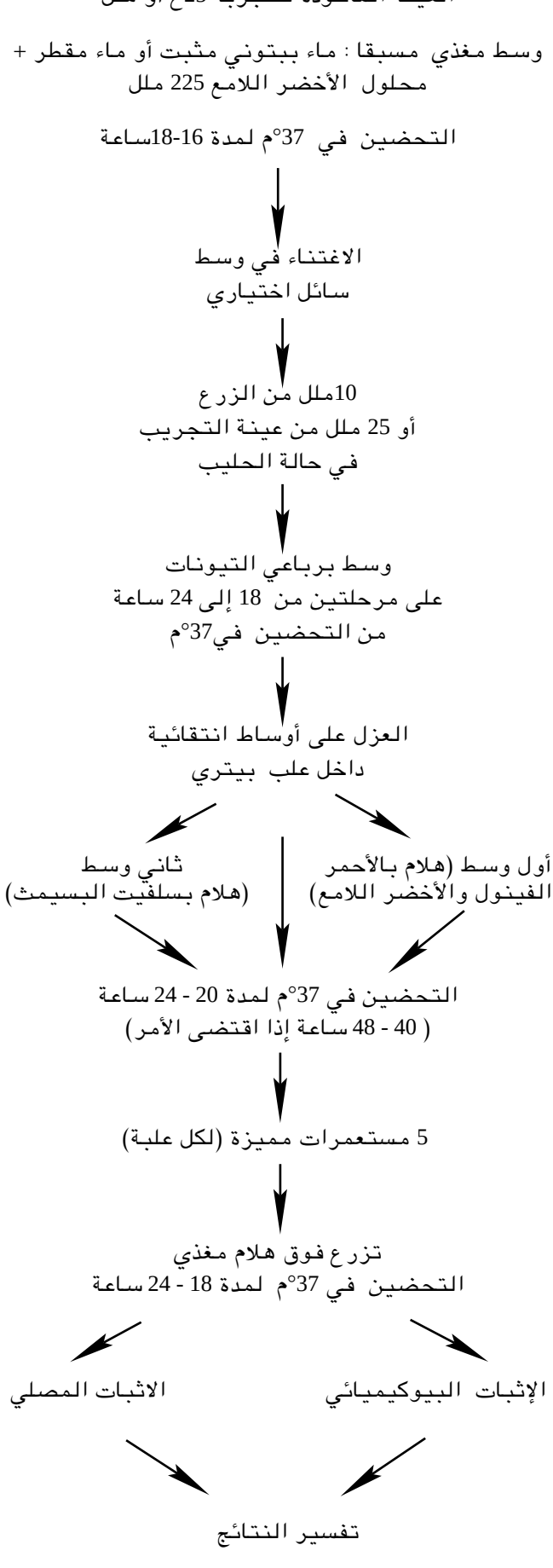
من أجل التحقق من قدرة الأوساط الاغتناء والتأكد من تحمل نمو السالمونيلا، يجب استعمال سلالة مرجعية لسالمونيلا حديثة العزل من أجل مراقبة أوساط الاغتناء (لاحظ 2.7)

يجب أن تتبع عمليات المراقبة، تلك الخاصة بالزرع و أجهزة التجريب، ليظهر لنا زرع المراقبة إيجابي.

9. تفسير النتائج

وفق نتائج التفسير، يصرح بوجود أو غياب السالمونيلا في العينة المأخوذة للتجربة، مع تحديد الكتلة بالغرام أو الحجم بالميليلتر، من المنتوج المجرب.

مخطط لطريقة العمل



قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج التحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدل و المتمم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

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

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 21 شعبان 1419 الموافق 10 ديسمبرسنة 1998 و المتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة وكيفيات وضعها للاستهلاك،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير 1990، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج للتحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.

المادة 2 : من أجل التحليل الميكروبيولوجي للزبدة، فإن مخابر رقابة الجودة و قمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

كما يجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج للتحليل الميكروبيولوجي للزبدة

1- المعايرة :

يجب أن تتم الرقابة على خمسة وحدات جاهزة التعبئة تنتمي لحصة من نفس الإنتاج .

يتكون الاقتطاع حسب الكتلة الموضبة داخل التغليف، مما يأتي :

- وزن الوحدة أقل من 1 كلغ : 5 وحدات جاهزة التعبئة سليمة يبلغ وزنها من 125غ إلى 250غ.

- وزن الوحدة أكبر من 1كلغ : انطلاقا من 5 وحدات جاهزة التعبئة، تقتطع 5 قطع، وزن القطعة الواحدة يبلغ حوالي 200غ. يتم الاقتطاع بواسطة آخذة الزبدة(sonde à beurre) أو الاقتطاع من الوحدات الجاهزة التعبئة بطهارة، قطعة من المنتوج هرمية الشكل يبلغ وزنها من 300غ إلى 400غ .

يخص هذا العدد من الوحدات جاهزة التعبئة المراد فحصها الزبدة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة مكونة من مادة دسمة من الزبدة .

بالنسبة للزبدة المركزة، تتم الرقابة على عينة تمثل الوحدة المصنعة ، ينجز الاقتطاع حسب الطرق المبينة .

تنقل الاقتطاعات و تحفظ إلى حين إجراء التحليل في درجة حرارة موجبة لا تتعدى+6°م.

2 – تحضير العينة للتجربة

1.2 – وحدة جاهزة التعبئة :

نزع ورق التغليف بعناية دون نزع الطبقة السطحية، تنقل 50غ من المنتوج في أنبوب الطرد المركزي معقم ومجهز بسدادة لولبية .

2.2 الاقتطاع المنجز بواسطة آخذة الزبدة

ينقل بطهارة 50غ من المنتوج إلى أنبوب الطرد المركزي .

3.2 الاقتطاع على شكل كتلة هرمية

بواسطة سكين منظف بالكحول و ممرر على اللهب، يتم نزع الطبقة السطحية على عمق 1سم تقريبا و يدخل 50غ من المنتوج بطهارة، داخل أنبوب الطرد المركزي.

يحفظ داخل الثلاجة بين 0°م و +5°م إلى حين تحضير المرحلة السائلة .

3 – تحضير المرحلة السائلة، التخفيف الأولي

1.3 - الزبدة الطازجة و الزبدة المبسترة :

داخل أنبوب الطرد المركزي المحتوي على 50غ من الزبدة، نضيف 42 ملل من محلول ذو تركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم، العامل الهيدروجيني (pH) 7,5 ± 0,1 معقم (4).

إجراء عملية الذوبان داخل حمام مائي لا يتعدى 45°م.

عند ذوبان الزبدة، إنجاز عملية الطرد المركزي بسرعة دورانية تبلغ 1000 - 2000 دورة/ د لمدة دقيقة أو دقيقتين . نضع أنبوب الطرد المركزي على حامل .

تنزع المادة الدسمة عن طريق الامتصاص بواسطة ماصة قصيرة أو قمع من مادة اصطناعية معقم مثبت على حافة أنبوب مطاطي متصل بكرة ذات أنبوبين متصلين بقنينة فارغة (فخ) وهي بدورها متصلة بمضخة مائية .

تغير الماصة أو القمع بعد كل عينة . يجرى التحليل البكتيريولوجي في الحين .

2.3 جسم دسم ذو قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة :

طريقة تحضير التخفيف الأولى مماثلة لما جاء في (1.3) إلا أنه يتم حساب كمية المحلول ذي تركيز 2%من فوسفات ثنائي البوتاسيوم و العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 (pH) حسب كمية الدهون التي يحويها المنتوج و على سبيل المثال:

- منتوج يحتوي على كمية دهون تتراوح بين 38غ % و 41غ % ، استعمال 20 ملل من المخفف .

- منتوج يحتوي علي كمية من الدهون أكبر أوأقل من 38غ % و41غ %. لكمية من المنتوج تقدر بـ 50غ ، استعمال حجم من المخفف يساوي نصف كمية الدهون الموجودة في 100غ من المنتوج .

3.3 الزبدة المركزة :

طريقة تحضير التخفيف الأولي مماثلة لتلك المبينة في (1.3) وإنما يستعمل كمخفف محلول تريبتون- ملح (الرجوع إلى 4) بمقدار 50 ملل .

بالاستناد إلى التركيبة النموذجية لكل منتوج ، يقبل بصفة متفق عليها بأن 1ملل من المرحلة السائلة، تخفيف أولي، يمثل 1غ من المنتوج .

4 –المخففات و تحضير التخفيفات العشرية

1.4 المخففات :

يستعمل مخففان، ولأسباب عملية، يوزع محلول بتركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم والعامل الهيدروجيني (pH) 7,5 ± 0,1 ومحلول تربتون – ملح (أو محلول رينجر) بحيث يكون الحجم بعد التعقيم يساوي 50 ملل .

2.4 التخفيفات العشرية :

عند الاستعمال، يوزع محلول تريبتون – ملح (أو محلول رينجر) بمقدار 9 ملل في أنابيب معقمة ذات أبعاد 20 مم 200x مم.

يمزج التخفيف الأولي كما يجب عن طريق الامتصاص و الدفع 10مرات بواسطة ماصة معقمة تبلغ سعتها 1 ملل ثم يدخل 1ملل في أنبوب يحتوي على 9 ملل من محلول معقم من تريبتون ملح و ذلك من أجل الحصول على تخفيف 1/10.

يمزج جيدا لمدة 5 إلى 10 ثوان بواسطة جهاز الرج الدوراني خارج دائرة المركز.

و بنفس الطريقة يتم تحضير التخفيف إلى 1/100 والتخفيف إلى1/1000.

5 – التعبير عن النتائج:

لكي تسمح التحاليل البكتيريولوجية بتقييم أمثل لنوعية النظافة في صناعة الزبدة النيئة، والزبدة المبسترة، والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة و الزبدة المركزة , يستوجب الامتثال إلى طريقة العمل هذه و ذلك لتفادي حدوث فروقات ذات طابع تقني .

– مدة الفحص البكتيريولوجي: يجب أن لا تتعدى الفترة الزمنية الفاصلة بين نهاية تحضير التخفيف الأولي ومزج التخفيفات مع وسط الزرع، مدة 15 دقيقة.

– درجة حرارة التحضين و تبريد الأوساط : يجب مراقبة كل الأجهزة المستعملة، المجفف والحمام المائي، بصفة دورية (مرتين في الشهر على الأقل)

– قراءة النتائج : حسب البيانات الواردة . إلا أنه عندما لا يمكن التعبير عن النتائج بشكل صحيح، يتعين إعادة التحليل بفحص مجموعة أوسع من التخفيفات . إذا وقع الفحص ما بعد أجال الاستهلاك (تاريخ نهاية أو الأمثل للاستهلاك)، ينبغي تدوين ذلك على كشف التحليل .

– نوعية أوساط الزرع : بصفة عامة ، يوصى باستعمال أوساط كاملة منزوعة الماء.

1.5 – الأعضاءالمجهرية الدقيقة الهوائية في 30°م المسماة الملوثة :

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المبسترة و يتعلق بالاعضاء المجهرية الدقيقة الناجمة من مختلف التلوثات التي يمكن أن تحدث خلال صنع الزبدة. يجب استبعاد جراثيم اللبن (الحليب) التي تم زرعها داخل القشدة وفق التكنولوجية المستعملة من هذا الإحصاء .

1.1.5 – الوسط المستعمل :

التركيب :

جليزات 7,5غ

تريبتيكاز أو تريبتون 7,5غ

كلورور الصوديوم.....5غ

هلام (خالية من هيدرات الكربون) 4غ

ماء مقطر .....1000 ملل.

يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم يساوي 7,6 ± 0,1 في 25°م.

يعقم في جهاز التعقيم في121°م لمدة 15 دقيقة .

يحفظ في الثلاجة لمدة شهر على الأكثر .

2.1.5 الزرع :

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1ملل من التخفيف 10^{-1} 1,1 ملل من التخفيف 10^{-2} مع احتمال إضافة 1ملل من التخفيف 10^{-3} صب من 12 إلى 15ملل من الوسط ثم يخلط الإينوكولوم جيدا مع الوسط .

يترك ليبرد و بعد التصلب يوضع للتحضين في 30°م لمدة 48 ساعة ثم في 20 ± 1° م لمدة 48 ساعة.

3.1.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي ما بين 10 و 300 مستعمرة . إحصاء كل المستعمرات مع تفادي حساب المستعمرات على شكل « قمة إبرة » و التي تمثل مستعمرة لبنية (حليب) .

إلا أنه، يمكن لبعض السلالات لأنواع اللبن (الحليب) أن تنمو بصفة منسجمة، لذلك يجب الانتباه إلى المظهر المرفولوجي المنتظم ، مستعمرات عدسية أو دائرية وعليه فإنه ينصح بإجراء اختبار الكاطلاز الذي يجب أن يكون سلبيا بالنسبة لأنواع الحليب .

4.1.5 التعبير عن النتائج :

حساب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الملوثة في ميليلترمن التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة وفق طريقة الحساب الآتية :

– الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيف واحد :

إجراء حساب المعدل الجبري .

– الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيفين متتاليين :

نطبق القاعدة الآتية :

$$\frac{\sum \text{م}}{(\text{ع}_1 + 0{,}1\,\text{ع}_2)\ \text{ت}}$$

حيث : م $\sum$: هو المجموع الكلي للمستعمرات المحسوبة .

ع 1 : عدد العلب المحسوبة في التخفيف الأول .

ع 2 : عدد العلب المحسوبة في التخفيف الثاني.

ت : عامل التخفيف الذي تم من خلاله الحصول على تعداد أولى.

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي 3×10^3.

2.5 الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية في 30°م:

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المركزة .

1.2.5 الوسط : استعمال الوسط المسمى بـ (بلات كونت أغار) المضاف إليه الحليب .

2.2.5 الزرع : يوضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولى ومع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10^{-1}. يصب من 12 إلى 15 ملل من الوسط ثم يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد و بعد التصلب، يوضع للتحضين في30°م لمدة72 ساعة .

3.2.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 10 إلى300 مستعمرة. يتم إحصاء كل المستعمرات، باستعمال عدسة مكبرة 1,5 على الأكثر إذا اقتضى الأمر.

4.2.5 التعبير عن النتائج :

يحسب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية لميليلتر واحد من التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة المركزة حسب ما جاء في (4.1.5)

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي $1,5 \times 10^{-3}$.

3.5 بكتيريا الكوليفورم في 30°م:

1.3.5 الوسط :

وسط هلام بـدي أوكسي كولات :

التركيب :

بروتيوز بيبتون 10غ

لاكتوز...10غ

دي أوكسي كولات الصوديوم.....................0,.5غ

كلورور الصوديوم.......................................5غ

سيترات الصوديوم......................................2غ

أغار...15غ

أحمر معتدل..0,03غ

ماء مقطر 1000ملل

يحضر الوسط مباشرة قبل الاستعمال ولايعقم .

2.3.5 الزرع :

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولي و مع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10^{-1} . يصب الوسط بمقدار 15ملل تقريبا يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد ثم تصب طبقة ثانية حجمها 4 إلى 5 ملل من الوسط غير المزروع . بعد التصلب ، توضع العلب للتحضين في30°م لمدة22 إلى24 ساعة .

3.3.5 قراءة العلب :

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر و حساب المستعمرات الحمراء المميزة النموذجية التي يبلغ قطرها 0,5 مم على الأقل، عندما يكون القطر صعب التقدير، يعاد زرع المستعمرة داخل أنبوب به مرق لاكتوزي و به حمض الصفراء و الأخضر اللامع و يوضع في المجفف في30°م لمدة 24 إلى 48 ساعة لملاحظة تخمر اللاكتوز.

4.3.5 قراءة النتائج :

يحسب عدد بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل من التخفيف الأولى ، أي في غرام من المنتوج وفق طريقة الحساب المبينة في (4.1.5) .

الحد التحليلي المسموح به : 3 م بالنسبة للزبدة المبسترة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة أي30 : غياب السماح بالنسبة للزبدة المركزة، مخطط ذو رتبتين .

4.5 ستافيلوكوكوس أوروس :

1.4.5 الوسط : هلام بيرد باركر، (E.T.G.P.A)

يصب الوسط الكامل بمقدار 15 إلى20 ملل في علب بيتري قطرها 90 أو100 مم على التوالي.

بعد التصلب، تجفف العلب مقلوبة، بأغطية مفتوحة قليلا في جهاز التجفيف مضبوط في 45°م و55°م لمدة 30 دقيقة (أو في درجة محيطية لمدة ساعتين (2).

بالنسبة لعلب بيتري قطرها 140 مم يصب 28 ملل من هلام بيرد باركر .

في حالة الشك في وجود بكتيريا بروتيوس، ينصح بإضافة محلول السالفاميزاتين .

سالفاميزاتين..... 0،2غ

محلول هيدروكسيد الصوديوم (0,1 مول). 10 ملل

ماء (كمية كافية لـ).....100 ملل

قبل توزيع و تعقيم هلام بيرد باركر، يضاف لكل لتر من الوسط 27,5 ملل من محلول سالفاميزاتين.

2.4.5 الزرع :

يوزع 1 ملل من المرحلة السائلة على سطح هلام بيرد باركر في علبة بيتري قطرها 140 مم، أو ثلاثة علب بيتري قطرها 90 إلى 100 مم على شكل ثلاثة تجزئات متساوية إلى أقصى حد، ثم توزع على السطح بواسطة ناشر زجاجي معقم . يترك الوسط يتبلل لمدة 15دقيقة في درجة حرارة محيطية. يحضن في37°م لمدة 24 إلى48 ساعة.

3.4.5 قراءة العلب و اختيار المستعمرات :

بعد 24 و48 ساعة من التحضين ، يؤشر عمق العلب ، على المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة .

المستعمرات المميزة : مستعمرات سوداء، لماعة ومحدبة، محاطة بمنطقة شفافة يمكن أن تكون شبه شفافة . بعد 24 ساعة، يمكن أن يظهر في هذه المنطقة الشفافة حلقة عاتمة ملامسة مباشرة للمستعمرات .

المستعمرات غير المميزة : مستعمرات سوداء ولماعة محدبة، أو رمادية مسودة، تتصف أحيانا بمظهر شاحب ونسيج جاف، لا تحيط بها منطقة شفافة (ما عدا بعض المستعمرات الرمادية المسودة).

يحتفظ من أجل العد، بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر ، المميزة و/ أو غير المميزة .

يتم إحصاء المستعمرات بحسب مظهرها .

من أجل إجراء اختبار الكواقلاس(مع احتمال إجراء اختبار الترمونكلواز) يقتطع عدد من المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة يساوي الجذر التربيعي للعدد الإجمالي للمستعمرات الموجودة في علبة أو ثلاث علب بيتري و يؤخذ بعين الاعتبار عددها على التوالي .

عندما يتم توزيع الحجم في علبة بيتري قطرها 140 مم، يجب فحص 5 مستعمرات على الأقل و إذا كان العدد أقل من خمسة فإنه يتم اقتطاعها كلها، في حالة توزيع الحجم على ثلاثة تجزئات ، 10 مستعمرات على الأقل يتم فحصها، وعندما يكون العدد أقل، تقتطع كل المستعمرات .

4.4.5 التعبير عن النتائج :

يتم حساب عدد ستافيلوكوكوس اوريوس في مليلتر من التخفيف الأولى، أي في غرام من المنتوج مع ترجمة النتائج المتحصل عليها كما يأتي:

تعتبر النتائج المشكوك فيها بالنسبة لاختبار الكوقولاس موجبة، إذا كان اختبار الترمونيكلوياز موجب.

إذا كان80% على الأقل من المستعمرات المفحوصة ذات كواقولاس إيجابي، يعتبر العدد المفترض الحصول عليه من خلال العد، ممثلا لعدد ستافيلوكوكوس أوروس.

و إلا يعبرعن النتيجة الإجمالية بأخذ بعين الاعتبار نسب المستعمرات المميزة و غير المميزة، التي هي كواقولاس أو الترمونيكلوياز موجب .

إذا تم فحص عدة تخفيفات، تطبق طريقة الحساب الموضحة في (.4.1.5)

الحد التحليلي المسموح به :

– 3 م بالنسبة للزبدة النيئة، الزبدة المبسترة والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة .

– لا يوجد الحد المسموح به بالنسبة للزبدة المركزة ، مخطط ذو رتبتين .

5.5 البحث عن السالمونيلا :

1.5.5 الاغتناء الأولي :

مرق لاكتوزي بالأرجوان بروموكريزول :

يوزع المرق بمقدار 1125 ملل في أوعية سعتها 2 لتر وفتحة واسعة .

يعقم في جهاز التعقيم في 121°م لمدة 15 دقيقة .

– الاغتناء :

يستعمل وسط يوزع بمقدار 100 ملل في أوعية ذات سعة مناسبة، يتم تحضيره مباشرة قبل الاستعمال.

– مرق بالرباعي ثيونات الصوديوم (مولي وكوفمان) و مزود إذا اقتضى الأمر، بالنفوبيوسين ذات تركيز نهائي40 ميكروغرام / ملل من الوسط .لا يعقم الوسط.

العزل :

يوصى باستعمال الهلامات الانتقائية الآتية :

– هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول (إيدال وكومبل ماكر) .

– هلام بسلفيت البيسميت (ويلسن بلار) .

– هلام (كزيلوزليزين دي كربوكسيلاز) (XLD) تستعمل الأوساط التي يسمح بغليانها.

– هلام هيكتوان .

لتفادي حدوث تفاعلات غير ملائمة لنمو السالمونيلا من طرف بعض الهلامات الانتقائية ، يوصى بمايأتي:

يجب استعمال الهلامات الانتقائية بعد24 ساعة أو في اليوم الذي يلي تحضيرها على الأكثر.

– يجب تفادي تعقيم الأوساط.

– يجب تجفيف العلب المحضرة من الأفضل في درجة حرارة محيطية، مثلا ، حوالي ساعتين (2) في 25°م يحتفظ بالأوساط في الظلام في نفس درجة الحرارة أو داخل ثلاجة .

2.5.5 الاغتناء الأولي (اليوم أ) :

للتخفيف من حجم العمل ، يقتطع من كل أنبوب من الأنابيب الخمس لجهاز الطرد المركزي المحتوية على المرحلة السائلة، 25 ملل منها و تجمع داخل وعاء تبلغ سعته 2 لتر يحتوي على 1125 ملل من مرق لاكتوز بالأرجواني بروموكريزول .

– يمزج جيدا ، يترك ساعة واحدة في درجة حرارة محيطية.

– يحضن في 37°م لمدة 22 ± 2 ساعة .

تتم القراءة بعد مرور18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد تحضينه من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة.

3.5.5 تقنيات الاغتناء و العزل :

العمل وفق المخطط الآتي:

اليوم أ + 24 ساعة

الاغتناء

بزرع 10 ملل من المزرعة المغتنية أوليا في

↓

100 ملل من الوسط رباعي تيترا ثيونات الصوديوم المحضن في حمام مائي في 43°م لمدة 24 و48 ساعة

↓

اليوم أ + 48 ساعة العزل

بواسطة سلك حلقي على هلامين منتقيين :

1 – هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول أو هلام بسلفيت البيسميت.

2 – هلام(XLD) (كزيلوزليزين دي كربوكسيلاز) أو هلام هيكتوان .

اليوم أ + 72 ساعة

إعادة عمليات العزل كما هو موضح في اليوم أ + 48 ساعة .

تحضن الهلامات الانتقائية في37°م.

إجراء قراءة أولية بعد18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد التحضين من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة .

4.5.5 اختيار المستعمرات و التأكيد :

الاستناد على البيانات المبينة في الطريقة المتعلقة بالبحث عن السالمونيلا .

5.5.5 البحث المصلي :

يتم إخضاع السلالات التي تستجيب إلى الخصائص البيوكيميائية للسامونيلا ، أو مشكوك كونها سالمونيلا ، إلى التحقق عن طريق الاختبارات المصلية .

6.5.5 التعبير عن النتائج :

عندما تكون العينة المركبة عديمة السالمونيلا، فإن المنتوج مطابق للمواصفات المطلوبة.

إذا كانت العينة المركبة تحتوي على السالمونيلا، فإنه ينصح بإعادة فحص الخمس وحدات كل واحدة على حدى.

بالنسبة للسالمونيلا، يطبق مخطط ذو رتبتين دون وجود الحد المسموح به في التحليل.

قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج اقتطاع العينات والتحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمّم،

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

– و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

يقرّر 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، المعدّل و المتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

المادة 2 : من أجل اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

كما يجب أن يستعمل المخبر هذا المنهج عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – اقتطاع المثلجات والقشدة المثلجة

أ – الأدوات المستعملة

1 – قارورات زجاجية سعتها 350 ملل، عريضة الفتحة محاطة بالسلكات من نوع (بيراكس) مسدودة بواسطة غطاء معدني ملولب، يحتوي على غطاء وسطي الذي يتم استبداله بعد كل تعقيم. تحتوي هذه القارورات على كريات زجاجية من نوع بيراكس. تحضر و تعقم بالمخبر.

2 – خزينة الجليد

3 – أدوات الاقتطاع

ملاعق معدنية معقمة ذات قبضة طويلة، أنابيب معدنية معقمة من نوع مسبار خاصة بالجبن المثقوب يشكل مكبس يتوغل داخل الأنبوب .

4 – مصباح من البوتان (من نوع مصباح التلحيم)

5 – ثلج كربوني أو خليط من الجليد مكدس والملح

هذا الخليط من الجليد المكدس والملح يعبأ في أكياس بلاستيكية مغلقة بإحكام .

ب . تقنيات الاقتطاع

1 – كمية المنتوج المراد اقتطاعها : حوالي 100 غرام .

2 – تقنيات الاقتطاع

يجب أن تنجز عملية اقتطاع المثلجات و القشدة المثلجة بأخذ كل احتياطات النظافة اللازمة خاصة فيما يتعلق بفتح و غلق القارورات .

أ) المثلجات والقشدة المثلجة الموضبة

– الموجودة داخل رزم من الورق

يمدد الورق و تسرب المثلجات داخل القارورة دون اللمس باليد. إذا تعلق الأمر بمثلجات من نوع مصاصة، تقطع العصية بصفة نظيفة إلى حافة المثلجات .

– الموجودة داخل رزم من الورق المقوى (الكارطون)

توضع في المساء، قارورات الاقتطاع داخل خزينة الجليد مع أكياس محتواة على جليد للتبريد . عند الاقتطاع ، يتم إخراج القشدة المثلجة بصفة نظيفة من رزم ورق المقوى ووضعها مباشرة داخل قارورات . تعوض الأكياس بالجليد الكربوني أو بأكياس أخرى محتواة على خليط جليد+ ملح.

ب) المثلجات والقشدة المثلجة المقدمة من طرف البائع بالملعقة

– تستعمل أجهزة البائع دون تمريرها على اللهب.

ج) المثلجات و القشدة المثلجة المباعة بنصف لتر أو لتر واحد.

نستعمل ملعقة حديدية مشتعلة.

د) المثلجات و القشدة المثلجة المبيعة عن طريق جهاز التوزيع.

– تؤخذ العينة مباشرة من فوهة الجهاز .

و) المثلجات والقشدة المثلجة المجمدة

– يستعمل أنبوب معدني مكونا مجرافا والذي يتم إخضاعه إلى إلهاب جد خفيف أثناء الاقتطاع (لا يتعدى 50°م). بواسطة مصبار مكونا لمكبس يدفع بالمثلجات لوضعها داخل القارورة.

– تؤخذ جميع احتياطات العمل في المجال البكتيريولوجي بالنسبة لفتح و غلق قارورات الاقتطاع خاصة في فتح القارورة في آخر المطاف.

تمرير اللهب على ثقب القارورة و الجهة السفلى من الغطاء قبل إدخال المقتطع بقليل و كذلك عند غلق القارورة .

II – التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – تحضير العينات

أ) الإجراء الأول

توضع القارورات المستخرجة من الجليد الكربوني أو من الثلج داخل المجفف أوفي الحمام المائي في37°م لمدة ساعة واحدة على الأكثر. يتعين عدم تجاوز هذه المدة و إلا وصلنا إلى بداية مرحلة اللوغاريتمية للنمو . في المجال العملي يتم مراقبة هذا التسخين في37°م و إيقافه في أقرب أجال ممكنة .

إذا تم تحضير المثلجات في الجليد الكربوني، يتعين على أعوان المخبر أن يتخلصوا من هذا الجليد الكربوني مباشرة خارج المخبر .

تجرى التخفيفات عند1/100.000 بواسطة محلول تريبتون– الملح.

و لكن انطلاقا من التخفيف1/100، ننجز تخفيفا عند 200 /1 و كذلك تخفيف عند1/1000.

ب) الإجراء الثاني

توضع المثلجات داخل الثلاجة في+4° م / +6°م إلى غاية مرحلة الذوبان.

تعتبر هذه الطريقة أفضل من الإنجاز الأول بالنسبة للعينات الصغرى (100 إلى 200 غ) ، لأن الذوبان سريع و لا يلائم تضاعف البكتيريا التي تعيش في الأوساط الباردة (بسيكروتروف).

– بعد ذوبانها، تتجانس المثلجات بواسطة رج حراري داخل قارورة الاقتطاع لمدة دقيقتين إلى 3 دقائق حتى و لو تعلق الأمر بمثلجات بالفواكه واللوز.

– بالنسبة للمثلجات و القشدة المثلجة المغلفة بالشكولاطة، تنزع الشكولاطة بالملقاط أو بسكينة معقمة و لا نختبر إلا الثلج.

– بالنسبة للمثلجات والقشدة المثلجة الفائضة، تخرب الرغوة منزوعة الهواء وفق التقنية المذكورة أدناه :

وصف الجهاز : قارورة بها سداد مخرق بثقبين وإحدى الثقبين مجهز بماصة باستور .الثقب الخارجي للماصة مسدود بمثبت من القطن .و بالثقب الآخر، أنبوب من الزجاج ثقبه الخارجي مقفل بمثبت من القطن و ملحق بالفراغ .

يستعمل الأنبوب أين يتم وضع الإصبع، لتخفيض أو رفع الفراغ (الهواء) لمنع تسرب القشدة المثلجة داخل الأنبوب الموصل بأنبوب خرطومي أو بمضخة الفراغ .

– طريقة الاستعمال : تسد ماصة باستور بالإصبع. إنجاز الفراغ . و من حين لآخر، يترك الهواء يمر . ترج القارورة في آن واحد.لا يتم نزع كل الرغوة و إنما يتم إنقاصها .

2 – تقنية الفحص البكتيريولوجي

أ) تحضير التخفيفات

القيام بتخفيفات إلى غاية 1/100.000 بمحلول تريبتون– ملح .

لكن انطلاقا من التخفيف 100 /1، نجري التخفيف 200 / 1 و كذا تخفيف 1/1000.

يستعمل التخفيف 200 /1 لإحصاء 200 بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل .

الصيغة

تريبتون..... 1غ

كلورور الصوديوم..... 8غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني(pH) : 7 – 2 ,7.

يوزع الوسط في أنابيب أو قارورات . و يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. التحقق من تعقم الوسط قبل استعماله.

يرج كل تخفيف إما يدويا 30 مرة على الأقل، أو من الأفضل بواسطة رجاج ميكانيكي لمدة دقيقتين على الأقل و ذلك قبل المرور إلى التخفيف الموالي. ينجز كل تخفيف بواسطة ماصة مدرجة معقمة .

ب) الأبحاث التي ستنجز

في وسط صلب من تريبتون ، مستخلص الخميرة و أغار لمدة 72 ± 2 ساعة.

صيغة تريبتون، مستخلص الخميرة و أغار

تريبتون..... 6غ

مستخلص خميرة..... 3غ

مسحوق أغار 15غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7

يوزع الوسط في أنابيب قدرها 20 200x مم بمقدار20 ملل في كل أنبوب . يعقم في جهاز التعقيم في 115°م لمدة 20 دقيقة .

يزرع

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

1 ملل من التخفيف عند 1/10.000

1 ملل من التخفيف عند 1/100.000

0,1 ملل من التخفيف عند1/100.000.

من أجل تسهيل الإحصاء و تفادي نمو بعض المستعمرات المحتلة في الوسط، تستعمل التقنية المعروفة بـ (تقنية مضاعفة الطبقة) : تزرع 1 ملل من المادة أو من مختلف التخفيفات في علب بيتري .

يسكب الوسط المذوب مبدئيا و المرجع إلى45°م 50°م داخل علب بيتري . لا يمكن الانتظار أكثر من 5 دقائق لزرع الوسط . يخلط ثم يترك ليتصلب على سطح بارد و أفقي تام .

عندما يصبح التحضير صلبا، تسكب على سطحه طبقة رقيقة من الهلام الأبيض (سمكه 2 مم تقريبا) المذوب مبدئيا و المرجع إلى 45° م.

يترك ليتجمد قبل وضعه داخل المجفف .

صيغة الهلام الأبيض

الهلام..... 20غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7.

يوزع الوسط داخل أنابيب و يعقم في جهاز التعقيم في120°م لمدة 20 دقيقة .

3 – إحصاء بكتيريات الكوليفورم والتعرف على إيشريشيا كولي

مرق اللاكتوز– الصفراء و الأخضر اللامع

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 10غ

لاكتوز.....10غ

ماء مقطر ..... 786 ملل

صفراء البقرة طازجة أو محلول به 10% من الصفراء منزوعة الماء..... 200 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 2 ,7.

يضاف عندئذ، 13,3 ملل من محلول مائي عند 1/ 1000 من الأخضر اللامع . يوزع في أنابيب مجهزة بأجراس (10 ملل لكل أنبوب لـ 160 x 16مم). يعقم في120°م لمدة 20 دقيقة.

يزرع على مرتين

1 ملل من التخفيف عند 1/10

1 ملل من التخفيف عند1/100

1 ملل من التخفيف عند1/200

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

توضع الأوساط المزروعة داخل جهاز التجفيف في30°م لمدة 48 ساعة . تعتبر الأنابيب التي تحتوى أوساطها على غازات، محتوية على بكتيريا الكوليفورم. يتم التعرف على إيشيريشيا كولي بإجراء اختبار ماك كنزي .

اختبار ماك كنزي

لكل أنبوب لمرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع يحتوي على الغاز في 30°م، نستعمل :

- أنبوب مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع (نفس الصيغة المذكورة أعلاه).

- أنبوب به ماء ببتوني بسيط و الطريقة تكون كما يلي :

ببتون..... 10غ

كلورور الصوديوم..... 5غ

ماء مقطر..... 1000ملل

(pH) : 7, 2.

- يعقم في جهاز التعقيم في _ 121م لمدة 20 دقيقة.

- بواسطة سلك الزرع تؤخذ قطرة من كل أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع و الغاز وتزرع في أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع وهذا بعد الخلط بعناية .

بواسطة سلك الزرع، تؤخذ قطرة أخرى من نفس الأنبوب المحتوي على مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع و الغاز و تزرع في أنبوب به ماء بيبتوني بسيط، بعد الخلط بعناية.

يوضع الأنبوبان داخل حمام مائي في 44°م ± 0,5 م لمدة 48 ساعة . للتأكد من وجود إيشيريشيا كولي، يجب أن يكون أنبوب المرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع الموضوع في الحمام المائي في44°م يحتوي على الغاز و أن البحث عن الأندول يكون موجب في أنبوب الماء البيبتوني البسيط في 44°م. يتم البحث عن الأندول بواسطة حمض النتريك النيتري بوجود كحول الأميلي . يكشف عن الأندول بعد 24 ساعة و 48 ساعة .

4 - البحث وإحصاء الستافيلوكوك الممرضة

التقنية الأولى : على وسط شابمان مانيتي

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 2غ

مستخلص اللحم..... 1غ

بروتيوز بيبتون..... 9غ

كلورور الصوديوم 75غ

مانيتول..... 10غ

باكتو أغار 15غ

أحمر الفينول..... 0,025غ

ماء مقطر..... 1000 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) النهائي : 7,4-7,5

يوزع الوسط داخل أنابيب ذات أبعاد 22 x 200 مم بمقدار25 ملل لكل أنبوب. يعقم في جهاز التعقيم في 120°م لمدة 20 دقيقة . يسكب الوسط داخل علب بيتري عند الاستعمال. يترك ليتجمد .

يجفف داخل المجفف في 37°م.

يزرع فوق علبتين مختلفتين :

0,1 ملل من منتوج غير مخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 1/10

يوزع على سطح الوسط بشكل منتظم، يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. تفحص العلب بعد 24 و48 ساعة.

نحتفظ بالمستعمرات البيضاء أو الصفراء المحاطة بحلقة صفراء(مانيتول +).

يتم التعرف على مستعمرات ستافيلوكوك الممرضة بواسطة اختبار الكواقولاس الحر و كذا اختبار الفوسفاتاز مكملة بالبحث عن الهواء اللاهواء. فعلا، يمكن أن نتحصل على :

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض

فوسفاتاز +

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض (6% من الحالات)

فوسفاتاز -

كواقولاس - ستافيلوكوك ممرض (4% من الحالات)

فوسفاتاز + أو ميكروكوكيس.

في هذه الحالة الأخيرة، يجب إكمال البحث بالتعرف عن هوائية لا هوائية، لأن بعض الميكروكوكيس تحتوي على الفوسفاتاز إلا أنها هوائية إجبارية بينما الستافيلوكوك هي هوائية لاهوائية.

أ) إظهار الكواقولاس الحر

تؤخذ بعض المستعمرات المشتبه فيها و تزرع كل واحدة منها داخل أنبوب مرق مخالف ثم يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة .

انطلاقا من هذا الزرع من المرق :

يتم البحث عن الكواقولاس مع ترك أنبوب كشاهد .

تجرى المراقبة كل ساعة. في حالة عدم إيجابية الكواقولاس بعد 24 ساعة ، يجرى فحص من جديد على مستعمرات أخرى.

إذا كان الكواقولاس سالبا : يجرى البحث عن الهوائية و اللا هوائية.

البحث عن الفوسفاتاز

البحث عن الهوائية و اللا هوائية :

يقتطع من الزرع المرقي عينة عالقة بواسطة ماصة باستور مغلقة و يزرع على مرتفع أنبوب به وسط من لحم – خميرة المذوب مبدئيا و المنعش والمرجع إلى48° م – 50°م.

يوضع في جهاز التجفيف في 37°م لمدة 24 ساعة وذلك بعد التبريد .

صيغة الوسط لحم – خميرة : وسط لمستخلص اللحم والخميرة

بيبتون تربسيك..... 10غ

كلورور الصوديوم..... 5غ

مستخلص اللحم..... 4غ

مستخلص الخميرة..... 5غ

كلوريدرات السيستين.....0,30غ

غلوكوز.....2غ

مسحوق أغار..... 6غ

ماء مقطر 1000ملل

يغلى الوسط إلى غاية الذوبان .

يعدالعامل الهيدروجيني (pH) إلى 7,2 -7,4 بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم عند 1/10 . يغلى الوسط.

يرشح و يوزع داخل أنابيب أبعادها 8 أو 9 x 180 مم، على ارتفاع 8 سم . تعقيم في 115°م. على الأكثر لمدة 30 دقيقة .

ب) إظهار الفوسفاتاز

ينجز زرع على هلام مائل انطلاقا من زرع من مرق و تنشر على سطح الهلام. توضع في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة.

1) بواسطة الزرع المتحصل عليه.

ننجز مستحضر جرثومي و ذلك بإضافة 20 قطرة من ماء مملح داخل أنبوب خاص بالانحلال . تنقل المستعمرات المتحصل عليها من الهلام إلى الماء الفيزيولوجي إلى غاية الحصول على مستحلب كثيف.

في أنبوب آخر انحلالي يحتوي على 0,25 ملل من محلول برانيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم، يضاف 0,25 ملل من محلول أسيتات الصوديوم . يخلط محتوى الأنبوبان و يحضنان في 37°م لمدة 20 دقيقة. إذا تحصلنا على لون اصفر واضح : وجود الفوسفاتاز ينجز بالموازاة شاهد لا يحتوي على محلول من ستافيلوكوك .

(محلول بارانتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم تركيز 4 % في الماء المقطر).

(محلول أسيتات الصوديوم بتركيز2,025غ في250 ملل من الماء المقطر).

يمكن لبعض الستافيلوكوك الممرضة أن تفقد الكواقولاس، لكن إذا كان بحوزتنا فوسفاتاز + وبكتيريا هوائية لا هوائية نستنتج أنها ستافلوكوك ممرضة.

2) تقنية أخرى لإظهار الفوسفاتاز.

التقنية الأولى : يوضع 0,50 ملل من ماء مقطر في أنبوب إنحلالي، يرش بواسطة رجاج من الزجاج قرص من ركيزة oc – نافتيل فوسفات حمض الصوديوم .

ينجز في هذا المحلول، معلق من خلال الزرع المتحصل عليه فوق الهلام .

يحضن في 37° م لمدة 30 دقيقة.

إدخال في الأنبوب قرص من أورتو ديامين بيس أزوتي المرش مسبقا.

بوجود الفوسفاتاز، نتحصل على تلوين أحمر عاتم منتج من طرف oc – نافيتول المحررة.

في حالة التفاعل السلبي، يبقى اللون الأصفر الأولي سائدا.

للتعرف على الخاصية الممرضة، يجب أن تتم على عدد كاف من المستعمرات : 5 مستعمرات و أكثر، إذا كان هناك 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة ، 10 مستعمرات و أكثر إذا كان هناك أكثر من 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة.

التقنية الثانية : للبحث عن بكتيريا الستافيلوكوك الممرضة وإحصاءها.

استعمال وسط بيرد باركر به السيلفاميزاتين.

صيغة الوسط

أ) الوسط الأساسي

تريبتون.....10غ

مستخلص لحم البقرة.....5غ

مستخلص الخميرة..... 1غ

كلورور الليثيوم.. .....5غ

أغار..... 20غ

محلول السلفاميزاتين 0,2 %..... 25 ملل

ماء مقطر.....،..... 1000ملل

تحضير محلول السلفاميزاتين

يذوب 0،5 غ من السلفاميزاتين في 25 ملل من هيدروكسيد الصوديوم ن /10 و يكمل إلى 250 ملل بالماء المقطر.

يمكن إضافة هذا المحلول إلى الوسط قبل أو بعد التعقيم.

يعقم الوسط الأساسي لمدة 20 دقيقة في 120°م .

يعدّل العامل الهيدروجيني pH النهائي إلى 7,2.

يوزع الوسط داخل أنابيب 20 x 200 مم بمقدار 20 ملل.

عند الاستعمال، يذوب الوسط الأساسي في حمام مائي يغلي ثم يبرد إلى 45°م – 48°م.

تضاف بعدها المحاليل التالية مرشحة و ساخنة في 20 ملل من الوسط الأساسي.

ب) غليسين بتركيز 20%..... 1,2 ملل

ج) تلوريت البوتاسيوم بتركيز1%.....0,2 ملل

د) بيروفات الصوديوم بتركيز 20%..... 1ملل

و) مستحلب أصفر البيض 1ملل

تحضر المحاليل ب و ج و د في ماء مقطر ثم تعقم بتمريرها على راشح ساتز Seitz أو بواسطة شمعة شامبرلاند ل3 .

– مستحلب لصفار البيض .

– يذوب 5 ملل من صفار البيض معقم و مقتطع بصفة نظيفة في 95 ملل من ماء مالح معقم .

– التحقق من تعقم الوسط بواسطة مرق غذائي عادي ومحضن في 30°م لمدة ثلاثة أيام على الأقل .

يسكب الوسط الكامل المتحصل عليه في علب بيتري .

عندما يبرد الوسط و يجفف يزرع مع :

0,1 ملل من المنتوج غير المخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 10 /1.

تحضن العلب المزروعة في37°م و تفحص بعد 24 و 48 ساعة .

تكون مستعمرات الستافيلوكوك الممرضة سوداء ومحاطة بمنطقة فاتحة لصفار البيض.

يعتبر هذا المظهر خاص و مميز .

يعطى البرتيوس هوساري مستعمرات مماثلة ولكن السلفاميزاتين تعيق نموها .

يحتفظ بالوسط الكامل لمدة 24 ساعة فقط.

التحقق من الخاصية الممرضة للستافيلوكوك بالبحث عن الفوسفاتاز

يستعمل الكاشف نيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم بمعدل 20غ/ ملل في محلول مثبت pH تريس8 :

المحلول المثبت تريس : ثلاثي فوسفات الصوديوم نقي : 121غ/ل.

يسكب الكاشف على سطح وسط بيرد باركر الذي نمت عليه المستعمرات المميزة.

يحضن لمدة 30 دقيقة في30°م

تعطي الستافيلوكوك الممرضة ، فوسفتاز+، اللون الأصفر الموجود داخل المنطقة الفاتحة حول المستعمرة.

نتفادى بالتالي البحث عن الكواقولاس.

5 . البحث عن السالمونيلا

يجرى البحث على 25 ملل من المنتوج .

أ) الاغتناء المسبق للوسط

تضاف 25 ملل من المنتوج في 75 ملل من مرق عادي (مضاعف التركيز) .

صيغة المرق العادي (مضاعف التركيز)

مستخلص لحم البقرة 2غ

بروتيوز بيبتون..... 20غ

كلورور الصوديوم 10غ

ماء مقطر..... 1000ملل

يوزع الوسط المضاعف التركيز في قارورات سعتها 150ملل بمقدار 75 ملل .

يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. العامل الهيدروجيني 7,2 pH.

يوضع 25 ملل من المثلجات أو القشدة المثلجة، في قارورة تحتوي على 75 ملل من المرق العادي . يحضن في37°م لمدة 18 إلى 24 ساعة.

يجب أن يستعمل الاغتناء المسبق للوسط في المرق العادي لكل المنتوجات الخاضعة للتجمد المعمق .

ب) إغتناء الوسط

يلقح 1ملل من محتوى هذه القارورة في أنبوب به وسط سيلينيت زائد سيستين .

يحضن في 37°م أومن الأحسن في 40°م لمدة 24 ساعة.

صيغة وسط السلينيت زائد السيستين

تريبتون..... 5غ
لاكتوز..... 4غ
فوسفات ثنائي الصوديوم 10غ
سيلينيت حمض الصوديوم..... 4غ
سيستين..... 0,01 غ
ماء مقطر..... 1000ملل
العامل الهيدروجيني (pH) النهائي7.

لا يعقم . يوزع في أنابيب 20 X 200 مم بمقدار 20 ملل لكل أنبوب.

يسخن في بخار متدفق لمدة 30 دقيقة ، يحفظ في الثلاجة.

ج) العزل

يتم العزل على هلام من ديزوكسيكولات السترات، لاكتوز، تركيبة ليفسون، معدلة من طرف هينس.

– يحضن في المجفف في 37°م لمدة24 إلى 48 ساعة.

بعد أن يتم عزل المستعمرات المشتبه فيها بصفة تامة ، تزرع في وسط كليقلر.

– يتم بعدها التعرف على وجود السالمونيلا.

وزارة الثقافة

قرار مؤرّخ في 4 ربيع الأول 1426 الموافق 13 أبريل سنة 2005، يحدّد تشكيلة اللجنة القطاعية لتأهيل المهندس المعماري المتخصص في المعالم والمواقع المحمية وسيرها.

إنّ وزيرة الثقافة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسيّ رقم 04 –138 المؤرّخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق 26 أبريل سنة 2004 والمتضمّن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذّي رقم 03 –322 المؤرّخ في 9 شعبان عام 1424 الموافق 5 أكتوبر سنة 2003 والمتضمّن ممارسة الأعمال الفنية المتعلقة بالممتلكات الثقافية العقاريّة المحمية،

– وبمقتضى المرسوم التّنفيذّي رقم 05 – 79 المؤرّخ في 17 محرّم عام 1426 الموافق 26 فبراير سنة 2005 الذي يحدّد صلاحيات وزير الثقافة،

تقرّر ما يأتي :

المادّة الأولى : تطبيقا للمادّة 13 من المرسوم التّنفيذّي رقم 03 – 322 المؤرّخ في 9 شعبان عام 1424 الموافق 5 أكتوبر سنة 2003 والمذكور أعلاه، يحدّد هذا القرار تشكيلة اللّجنة القطاعيّة لتأهيل المهندس المعماري المتخصّص في المعالم والمواقع المحمية وسيرها.

المادّة 2 : تتكوّن اللّجنة القطاعيّة لتأهيل المهندس المعماري المتخصّص في المعالم والمواقع المحميّة من :

– المدير المكلّف بالتراث الثقافي،

– المدير المكلّف بالتخطيط،

– المدير المكلّف بالشؤون القانونية،

– المدير المكلّف بالإدارة العامّة،

– مديري الثقافة بالولايات الذين أرسلوا إلى اللّجنة ملفّات طلب تأهيل المهندسين المعماريّين المتخصّصين.

ينتخب رئيس اللّجنة في كلّ دورة من بين المديرين المركزيين.

تتولّى مديريّة التراث الثقافي أمانة اللّجنة القطاعيّة.

المادّة 3 : يودع المهندس المعماري المتخصّص المترشّح ملف طلب التأهيل لدى أمانة مدير الثقافة بالولاية التي يقيم بها.

يرسل مديرو الثقافة بالولاية ملفّات الطلبات خلال الأسبوع الذي يلي استلامها إلى أمانة اللّجنة القطاعيّة التي تتولاها مديرية التراث بالوزارة المكلفة بالثقافة.

المادّة 4 : تبدي اللّجنة القطاعيّة رأيها في ملفّات طلب تأهيل المهندسين المعماريّين التي تضمّ الوثائق الآتية :

– نسخة من شهادة مهندس معماري للدولة أو شهادة معادلة لها،