

الملحق

منهج إحصاء الكولييفورم في الحليب المخمر.

1. التعريف :

تستعمل تسمية بكتيريا "الكولييفورم" حسب هذا المنهج، على البكتيريات ذات الشكل العصوي، جرام سلبي (-)، هوائية ولا هوائية، اختيارية غير مبوجة، المخمرة للاكتوز مع تشكيل الغاز والحمض.

2. المبدأ :

تزرع ثلات سلسلات من التخفيقات المتوازية متحصل عليها انطلاقا من عينة الحليب المخمر في وسط مميز (الحويصل الصفراوي للبقرة الأخضر اللامع ولاكتوز) في أنابيب اختبار تحتوي على أنبوبات صغيرة دورهام (Durham). تجفف الأنابيب لمدة 48 ساعة في درجة 37 م°. انطلاقا من الأنابيب الإيجابية (تشكل الغازات في أنابيب دورهام) (Durham)، نستخرج العدد الأكثر احتمالا لبكتيريات الكولييفورم في واحد غرام من الحليب المخمر بالاستناد على جدول العدد الأكثر احتمالا لثلاث سلسلات متوازية.

3. التجهيزات والأدوات الزجاجية :

الأدوات العاديّة للمخبر

4. وسط الزرع

1.4. التركيب

يتركب الوسط "الحويصل الصفراوي للبقرة، الأخضر اللامع ولاكتوز" مما يلي :

بيبتون أو جيليزيات..... 10 غ

لاكتوز..... 10 غ

الحويصل الصفراوي للبقرة المجفف..... 20 غ

أخضر لامع..... 0,0133 غ

ماء مقطر (في جهاز من الزجاج)..... 1000 ملل

2.4. التحضير

لتحضير 1000 ملل من الوسط، يذوب بيپتون ولاكتوز في حوالي 500 ملل من الماء المقطر.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004، يجعل منهج إحصاء الكولييفورم في الحليب المخمر إجباريا.

إن وزير التجارة،

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

- وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بمواصفات الميكروبولوجي 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 منهج إحصاء الكولييفورم في الحليب المخمر إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الكولييفورم في الحليب المخمر، فإن معايير رقابة الجودة وقمع الغش وتلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبولوجي 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 4 ربيع الثاني عام 1425 الموافق 24 مايو سنة 2004.

نور الدين بوكروح

2.1.6 اقتطاع عينة لـ 10 غ من الحليب المخمر مع الإحاطة بالحذر الوقائي، توضع في قارورة أو وعاء مناسب مغلق بضمام أو سادة يحتوي على 90 ملل من محلول رينجر المخفف عند الرابع وبعض كريات من الزجاج.

الخلط بعناية برج القارورة 25 مرة من الأعلى إلى الأسفل باهتزاز يساوي حوالي 30 سم.

يستخدم السائل للعد : 1 ملل يساوي 100 ملغ من الحليب المخمر.

3.1.6 من أجل الحصول على التخفيف عند 1/100، ننقل بعناية 1 ملل من السائل (2.1.6) لـ 9 ملل من محلول رينجر المخفف عند الرابع مع الخلط. تحضير، إذا اقتضى الأمر سلسلة من التخفيفات عند 1/1000 انطلاقا من التخفيف عند 1/100.

2. ذرع الوسط

1.2.6 تزرع أنابيب تحتوي على وسط (الهوبيكل الصفراوي للبقرة، الأخضر اللامع ولاكتوز) بإضافة واحد غرام من الحليب المخمر مع التخفيفات المحضرية المشار إليها في 3.1.6. نمزج بعناية مع تحسب تسرب الفقاعات الهوائية في أنابيب دورهام.

2.2.6 تزرع بالموازاة داخل ثلاثة أنابيب نفس الكمية من العينة وبنفس التخفيف، تجرى ثلاثة سلسلات على الأقل، على سبيل المثال 1 غ، 0,1 غ، 0,01 غ. وعلى العموم، يمكن الإرتقاء إلى عدد عشرة تخفيفات وفق الشروط المبينة في الجدول أدناه.

3. التجفيف

تجفف الأنابيب المزروعة لمدة 48 ± 2 ساعة في درجة $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.6 تحديد العدد الأكثر احتمالا لبكتيريات **الكولييفورم**

يعتبر الاختبار إيجابيا عندما يكون هناك تشكل واضح للغازات في أنابيب دورهام. يعتبر عدد الأنابيب الإيجابية أساسيا لقراءة العدد الأكثر احتمالا (ع أ) لبكتيريات الكولييفورم لثلاث سلسلات متوازية وذلك حسب الجدول المبين أدناه.

تذوب 20 غ من الهوبيكل الصفراوي للبقرة المجفف، في 200 ملل من الماء المقطر.

يضبط العامل الهيدروجيني لهذا محلول بين 7,0 و 7,5 يمزج المحلولان معا و يعدل العامل الهيدروجيني المقاس بواسطة قطب زجاجي إلى 7,4، نضيف 13,3 ملل من محلول لزج لـ 0,1% من الأخضر اللامع، يتم الحجم إلى مقدار 1000 ملل بإضافة الماء المقطر. يفرغ 10 ملل من الوسط في أنابيب الاختبار.

تكون هذه الأنابيب مجهرة بأنبوبات صغيرة دورهام.

بعد الملا، تعقم هذه الأنابيب لمدة 15 دقيقة في جهاز التعقيم يعدل في درجة 121° م بعد التعقيم، يضبط العامل الهيدروجيني بواسطة قطب زجاجي إلى $0,1 \pm 7,2$.

5. المخفف

محلول رينجر المخفف عند الرابع يتركب محلول رينجر المركز من :

كلورور الصوديوم 9,00 غ

كلورور البوتاسيوم 0,42 غ

كلورور الكالسيوم الجاف 0,24 غ

بكربونات الصوديوم 0,20 غ

ماء مقطر (في جهاز زجاجي) 1000 ملل للاستعمال، تضاف كمية من محلول السابق إلى ثلاثة كميات من الماء المقطر في جهاز زجاجي.

يعقم محلول المخفف عن طريق التسخين لمدة 15 دقيقة في درجة 121° م.

- يمكن استعمال محلول بيبيتون بنسبة 0,1% عوض من محلول رينجر المخفف عند الرابع.

- يجب أن تكون جميع الكواشف من النوعية التدقيقية.

6. طريقة العمل :

1.6. تحضير التخفيفات

1.1.6 تحفظ العينة في الثلاجة (3 إلى 4° م) إلى غاية التحليل البكتيريولوجي في أجل لا يتعدى 24 ساعة بعد الاقتطاع.