

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

- وبمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 2 محرم عام 1438 الموافق 4 أكتوبر سنة 2016 الذي يحدد المعايير الميكروبيولوجية للمواد الغذائية،

### 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 الأجسام الدقيقة بحساب المستعمرات في 30°م بتقنية الزرع في السطح، إجباريا.

**المادة 2 :** من أجل إحصاء الأجسام الدقيقة بحساب المستعمرات في 30°م بتقنية الزرع في السطح، تلزم مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

يجب أن يستعمل أيضا هذا المنهج من طرف المخبر عند الأمر بإجراء خبرة.

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

حرر بالجزائر في 11 محرم عام 1441 الموافق 11 سبتمبر سنة 2019.

سعيد جلاب

### الملحق

**منهج أفقي لإحصاء الأجسام الدقيقة بحساب المستعمرات في 30°م بتقنية الزرع في السطح.**

#### 1. مجال التطبيق :

يحدد هذا المنهج تقنية أفقية لإحصاء الأجسام العضوية الدقيقة القادرة على النمو وتشكيل مستعمرات على سطح وسط صلب بعد التحضين في وسط هوائي في 30°م.

يطبق هذا المنهج على :

(أ) المواد الموجهة للاستهلاك البشري أو الحيواني،

## وزارة التجارة

**قرار مؤرخ في 11 محرم عام 1441 الموافق 11 سبتمبر سنة 2019، يجعل المنهج الأفقي لإحصاء الأجسام الدقيقة بحساب المستعمرات في 30°م بتقنية الزرع في السطح، إجباريا.**

إن وزير التجارة،

- بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 19-111 المؤرخ في 24 رجب عام 1440 الموافق 31 مارس سنة 2019 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدل،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 جانفي سنة 1990 والمتعلق بمراقبة الجودة وقمع الغش، لا سيما المادة 19 منه، المعدل والمتمم،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02-453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 والذي 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،

تحتضن العلب في شروط هوائية في 30°م لمدة 72 سا.  
يحسب عدد الأجسام العضوية الدقيقة في الغرام من العينة أو  
عدد الأجسام العضوية الدقيقة في المليلتر من العينة انطلاقاً  
من عدد المستعمرات المتحصل عليها في العلب التي تحتوي  
على أقل من 300 مستعمرة.

#### 4. أوساط الزرع والمخففات :

##### 1.4 المخففات :

من الأحسن تحضير المخففات طبقاً للتوصيات المحددة في  
المناهج المتعلقة بتحضير عينات التجربة والمحلل الأم  
والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي، المحددة  
في التنظيم المعمول به.

#### 2.4 وسط هلامي : هلام للإحصاء (PCA) :

##### 1.2.4 التركيب :

عصارة أنزيمية للكازين	5غ
مستخلص الخميرة	2,5غ
غلوكوز عديم الماء (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	1غ
هلام *	9غ إلى 18غ
ماء	1000 ملل
* حسب قدرة تجمد الهلام	

في حالة تحليل منتجات الحليب، يضاف غرام واحد من  
مسحوق الحليب منزوع الزبدة في لتر واحد من وسط  
الزرع. يجب أن يكون مسحوق الحليب المنزوع الزبدة خالياً  
من المواد المثبطة.

##### 2.2.4 التحضير :

تذاب المكوّنات أو الوسط الكامل المجفف في الماء،  
بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

تمزج بعناية وتترك لترتاح عدة دقائق.

يضبط العامل الهيدروجيني pH (5.5)، إذا اقتضى الأمر،  
بحيث يصبح بعد التعقيم يساوي 7 ± 0,2 في 25°م.

يوزع الوسط في حوجلات أو قارورات (9.5) ذات سعة  
ملائمة.

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) لمدة 15 دقيقة في 121°م.

إذا كان الوسط سيستعمل مباشرة، يبرّد في حمام  
مائي (4.5) مضبوط بين 47°م و 50°م، قبل الاستعمال، أو  
يترك ليتصلب داخل حوجلة أو قارورة. يذوّب الوسط كلياً  
قبل الاستعمال في حمام مائي يغلي ثم يبرّد في حمام مائي  
(4.5) مضبوط بين 47°م و 50°م.

(ب) عينات البيئة في مجال إنتاج المواد الغذائية الموجهة  
للاستهلاك البشري أو الحيواني وتحضير المواد الغذائية.

يخص هذا المنهج التحاليل المتعلقة ب :

1- المواد التي تحتوي على أجسام عضوية سريعة التأثير  
بالحرارة القابلة لتشكيل جزء هام من كامل المجموعة  
البكتيرية (على سبيل المثال : أجسام عضوية قادرة على  
التكاثر في البرودة والموجودة في المواد المبردة والمجمدة  
والمواد الجافة ومواد أخرى قادرة على احتواء أجسام عضوية  
سريعة التأثير بالحرارة).

2- المواد التي تحتوي على بكتيريا هوائية قابلة لتشكيل  
جزء هام من كامل المجموعة البكتيرية (على سبيل المثال :  
بسودوموناس (pseudomonas spp)،

3- المواد التي تحتوي على جزئيات صغيرة التي يمكن  
أن تشكل عائقاً في تمييز المستعمرات في علبة بيتري  
مزروعة في العمق،

4- المواد التي لها لون شديد والذي يمنع التعرف على  
المستعمرات في علبة بيتري مزروعة في العمق،

5- المواد التي يتعيّن أن يفرق فيها بين مختلف أنواع  
المستعمرات في مجال تقييم نوعية المواد الغذائية.

بالإضافة إلى تقنية الزرع اليدوي في السطح، يحدد هذا  
المنهج أيضاً استعمال جهاز الزرع الحلقي، وهو منهج سريع  
لإحصاء المستعمرات على السطح (10).

قد لا يتلاءم هذا المنهج مع تحليل بعض الأغذية المخمرة  
الموجهة للاستهلاك البشري والأغذية الحيوانية وأوساط  
أخرى حيث تكون شروط التحضين أكثر ملاءمة.

لكن، يمكن أن يطبق هذا المنهج على مثل هذه المواد حتى  
ولو أنها لا تكشف كل الأجسام العضوية الدقيقة والموجودة  
بكمية في تلك المواد الغذائية.

#### 2. التعريف :

لاحتياجات هذا المنهج، يطبق التعريف الآتي :

##### أجسام عضوية دقيقة :

كائنات حية ذات حجم مجهري تضم البكتيريا والفطريات  
والحيوانات الأولية (Protozoaires) والفيروسات.

#### 3. المبدأ :

تزرع كمية محددة من عينة التجربة بالنسبة للمواد  
السائلة أو كمية محددة من المحلول الأم في حالة مواد أخرى  
على سطح وسط زرع هلامي صلب موجود داخل علب  
بيتري.

تحضر علب أخرى في نفس الشروط انطلاقاً من التخفيفات  
العشرية لعينة التجربة أو المحلول الأم.

**6.5. علب بيتري** من الزجاج أو البلاستيك قطرها من 90 ملم إلى 100 ملم أو 140 ملم.

**7.5. ماصات مدرجة ذات تدفق تام** معقمة، سعتها من 0,1 ملل إلى 1 ملل أو ماصات أوتوماتيكية باستعمال مخروطات معقمة.

**8.5. جهاز لحساب المستعمرات** (اختياري)، مكون من قاعدة مضاءة وعداد (اختياري) ميكانيكي أو إلكتروني مع شاشة رقمية.

**9.5. حوجلات أو قارورات**، ذات سعة مناسبة للتحضير والتعقيم، وإذا اقتضى الأمر تخزين أو ساط الزرع.

**10.5. ملاعق** من الزجاج أو البلاستيك أو من المعدن معقمة تسمح بتوزيع الإنوكولوم (inoculum) فوق وسط الزرع.

#### 6. اقتطاع العينات :

يجب أن يجري اقتطاع العينات طبقا للشروط المحددة في التنظيم المعمول به، أو إذا اقتضى الأمر، للمواصفات المعترف بها.

يجب أن تكون العينة ممثلة حقا غير متلفة أو تغيرت أثناء النقل أو التخزين.

#### 7. تحضير عينة التجربة :

يجب أن تحضر عينة التجربة طبقا لمناهج التحليل المحددة في التنظيم المعمول به.

#### 8. طريقة العمل :

#### 1.8. العينة المأخوذة للتجربة والمحلل الأم والتخفيفات :

يجب أن يحضر المحلول الأم والتخفيفات طبقا للمناهج المتعلقة بتحضير عينات التجربة والمحلل الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي والمحددة عن طريق التنظيم المعمول به.

#### 2.8. الزرع والتحضين :

**1.2.8** تنقل بواسطة ماصة معقمة (7.5) في وسط علبتي بتري تحتوي على وسط هلامي (2.4)، 0,1 ملل من عينة التجربة إذا كانت المادة سائلة أو 0,1 ملل من المحلول الأم في حالة المواد الأخرى. إذا حضرت العلب انطلقا من أكثر من تخفيف، يمكن أن يقلص عدد العلب إلى علبة واحدة لكل تخفيف.

**2.2.8** تؤخذ علبة هلام أخرى (2.4) تستعمل ماصة أخرى معقمة (7.5) لوضع 0,1 ملل من التخفيف  $10^{-1}$  (المواد السائلة) أو 0,1 ملل من التخفيف  $10^{-2}$  (المواد الأخرى).

#### 3.2.4. تحضير علب الهلام :

يسكب بين 15 ملل و 20 ملل من الوسط في علب بتري معقمة (6.5) ويترك ليتصلب.

يمكن أن تخزن العلب في  $(3 \pm 5)^\circ\text{C}$  لمدة 4 أسابيع على الأكثر.

قبل الاستعمال مباشرة، يوصى بتجفيف علب الهلام.

#### 4.2.4. تجارب فعالية وسط الزرع :

##### 1.4.2.4. عموميات :

إن الوسط الهلامي للإحصاء (PCA) غير انتقائي، يستعمل في هذا المنهج كوسط محضّر مسبقا للزرع في السطح.

##### 2.4.2.4. الإنتاجية :

التحضين	(3±72) ساعة في $(1 \pm 30)^\circ\text{C}$ .
السلالات الشاهدة	باسيلوس سوبتيليس ستافيلوكوكوس أوريوس
الوسط المرجعي	هلام تريبتوز صويا
منهج المراقبة	كمي
المعيار	تقرير الإنتاجية $\geq 0,7$ (RP)

#### 5. التجهيزات :

تقبل الأدوات ذات الاستعمال الوحيد كما هو الشأن بالنسبة للأدوات الزجاجية والبلاستيكية المعاد استعمالها، إذا كانت مواصفاتها مناسبة.

الأجهزة المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا خاصة ما يأتي :

**1.5 فرن** للتعقيم بالحرارة الجافة أو جهاز التعقيم بالحرارة الرطبة.

**2.5 جهاز التحضين أو خزانة التجفيف**، مع تهوية حرارية لتجفيف العلب ويمكن ضبطه بين  $37^\circ\text{C}$  و  $55^\circ\text{C}$  أو غرفة لتدفق الهواء الصفيحي.

**3.5 جهاز التحضين** يمكن ضبطه في  $(1 \pm 30)^\circ\text{C}$ .

**4.5 حمامات مائية** حيث واحد منها قادر على حفظ درجة الحرارة المحصورة بين  $47^\circ\text{C}$  و  $50^\circ\text{C}$  والآخر قادر على حفظ الماء في نقطة الغليان.

**5.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني** بدقة  $\pm 0,1$  وحدة PH في  $25^\circ\text{C}$ .

يحسب العدد N للأجسام العضوية الدقيقة الموجودة في عينة التجربة، كمعدل مرجح انطلاقاً من تخفيفين متتاليين بواسطة المعادلة الآتية :

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

**حيث :**

$\sum C$  : مجموع المستعمرات المحصاة في العلبتين (2) المأخوذتين بعين الاعتبار لتخفيفين متتاليين، حيث أن إحداهما، على الأقل، تحتوي على 10 مستعمرات على الأقل.

V : حجم الإنوكولوم الموضوع في كل علبه، بالمليتر،

d : التخفيف الموافق للتخفيف الأول المأخوذ بعين الاعتبار

d=1 للمادة السائلة غير مخففة (عينة التجربة).

إذا استعمل أكثر من تخفيف واحد، ينتظر أن يساوي حساب المستعمرات للتخفيف الثاني  $d_2$  وحساب المستعمرات للتخفيف الأول  $d_1$  نسبة 10% من المستحسن أن يحدد الحد الأقصى والأدنى من طرف المخبر لحساب مستعمرات التخفيف الثاني  $d_2$ .

**مثال :** إذا كان عدد مستعمرات التخفيف الأول  $d_1$  هو 250، يجب ألا يكون عدد مستعمرات التخفيف الثاني  $d_2$  أقل من 13 (5,2%) ولا أكثر من 39 (15,6%).

تُدور النتيجة المحسوبة إلى رقمين معتبرين. لهذا، إذا كان الرقم الثالث أصغر من 5، لا يغيّر الرقم الأسبق، وإذا كان الرقم الثالث أكبر أو يساوي 5، نزيد الرقم الأسبق بوحدة.

من الأحسن أن يعبر عن النتيجة بعدد محصور بين 1 و9,9 مضروب في القوة المناسبة لـ 10، أو عدد كامل برقمين معتبرين.

يعبر عن النتيجة كعدد N من الأجسام العضوية الدقيقة في المليتر (المواد السائلة) أو بالغم (مواد أخرى).

مثال. أعطي إحصاء النتائج الآتية :

- في التخفيف الأول المأخوذ بعين الاعتبار (10<sup>-2</sup>) : 168 مستعمرة،

- في التخفيف الثاني المأخوذ بعين الاعتبار (10<sup>-3</sup>) : 14 مستعمرة.

$$N = \frac{\sum C}{V \times 1,1 \times d} = \frac{168+14}{1 \times 1,1 \times 10^{-2}} = \frac{182}{0,011} = 16545$$

3.2.8 إذا اقتضى الأمر، تعاد طريقة العمل مع تخفيفات عشرية أخرى، باستعمال ماصة معقمة جديدة لكل تخفيف.

4.2.8 يوزع الإنوكولوم بعناية وبطريقة موحدة بأسرع وقت ممكن على سطح الهلام، دون لمس جدران العلبه بالملعقة (10.5). من الممكن استعمال نفس الملعقة لإجراء جميع تخفيفات العينة وذلك بالبداء بالتخفيف الأكبر والاستمرار بانتظام حتى التخفيف الذي يحتوي على الكمية الأكبر من عينة التجربة.

تترك العلب في أماكنها لمدة 15 دقيقة تقريباً في درجة حرارة المحيط، لامتناس الإنوكولوم داخل الهلام.

5.2.8 تقلب العلب المحضرة بهذه الطريقة وتوضع داخل جهاز التحضين (3.5) مضبوط في 30°م. تحضن لمدة (3±72) ساعة.

**ملاحظة :** أنظر النقطة 10 للزرع بواسطة تقنية زرع حلقي.

### 3.8 إحصاء المستعمرات :

1.3.8 بعد مدة التحضين المحددة في (3.2.8)، تختار علب الهلام التي تحتوي، إذا أمكن، على أقل من 300 مستعمرة. تحسب جميع المستعمرات بواسطة جهاز حساب المستعمرات (8.5)، إذا اقتضى الأمر، ومن الأفضل إدماج المستعمرات ذات حجم رأس الدبوس في الحساب. لكن، من الضروري أن يتجنب المحلل الخلط بين جزيئات الأغذية والمستعمرات على شكل رأس الدبوس.

2.3.8 يجب أن تعتبر المستعمرات المجتاحة كمستعمرة واحدة.

إذا كان من المتوقع أن نجد مستعمرات مجتاحة، تفحص العلب بعد 24 ساعة أو 48 ساعة وتؤشر المستعمرات المرئية. إذا اجتاحت هذه المستعمرات أقل من ربع العلبه، تحسب مستعمرات الجزء غير المجتاح وتعد المستعمرات الموافقة للعلبه بأكملها.

إذا غطت المستعمرات المجتاحة أكثر من ربع العلبه، لاتؤخذ هذه العلبه بعين الاعتبار في الإحصاء. إذا أظهرت جميع العلب مستعمرات مجتاحة، يجري الإحصاء في العلب التي يمكن إجراء الإحصاء فيها مع الإشارة في تقرير التجربة بأن المستعمرات المجتاحة يمكن أن تؤثر على النتائج.

### 9. التعبير عن النتائج :

#### 1.9 طريقة الحساب حالة عامة :

لكي تكون النتيجة صحيحة، يقدر بصفة عامة أنه من الضروري إحصاء المستعمرات، على الأقل، في علبه واحدة تحتوي على 10 مستعمرات على الأقل.

0,1 ملل أو 0,2 ملل أو 0,4 ملل في العلبة، وتحتوي عموماً على مضخة فراغية لمراقبة امتصاص وترسب محاليل العينات وإزالة المحاليل المتبقية وتطهير وشطف الجهاز. يكون الضغط المتبقي محصوراً بين 24 كيلو باسكال و35 كيلو باسكال ( بين mmHg 160 و mmHg 260).

**2.4.10 جهاز حساب المستعمرات** ذو مجال معايرة حسب حجم العينة الموضوع في المناطق المحددة من الهلام. يمكن استعمال أيضاً أجهزة أوتوماتيكية أخرى للإحصاء.

**3.4.10 أوعية للعينات المعقمة ذات الاستعمال الوحيد، سعتها 5 ملل.** هناك نماذج لأجهزة حديثة تستعمل أوعية ذات أحجام مختلفة، خاصة للتعقيم والشطف.

**4.4.10 حقن دقيقة معقمة ذات الاستعمال الوحيد (اختياري).**

**5.4.10 علب الهلام محضرة،** طبقاً لـ (2.4) من الأحسن على وجه الخصوص الحصول على سمك كاف وثابت من الهلام في العلب، وأن يكون سطح الهلام مستو. يتم التعرف على العلب عن طريق جوانبها.

**5.10 اقتطاع العينات : (6)**

**6.10 تحضير عينة التجربة : (7)**

**7.10 طريقة العمل :**

**1.7.10 العينة المأخوذة للتجربة والمحلل الأم والتخفيفات : (1.8).**

عموماً، أثناء استعمال تقنية الزرع الحلقي ليس من الضروري تحضير أي تخفيف حيث أقل عدد ممكن من التخفيفات يكون كافياً. ينقل بواسطة ماصة معقمة، بين 3 ملل و5 ملل من العينة المجانسة في وعاء معقم حجمه 5 ملل وذي استعمال وحيد (3.4.10).

إذا اقتضى الأمر، تترك العينة المتجانسة تترسب لمدة بضع دقائق قبل اقتطاع الجزء الكافي للقيام بالزرع الحلقي. يمكن أن يحدث وجود جزيئات انسداد في الأنبوب. في حالة انسدادات متكررة، ينصح باستعمال أكياس بلاستيكية معقمة مزودة بمصفاة لتحضير المحلول الأم للعينات غير السائلة.

**2.7.10 الضبط :**

إذا اقتضى الأمر، يضبط الجهاز طبقاً لتعليمات المصنع خاصة مراقبة :

(أ) بالنسبة للأجهزة التي تشتغل ميكانيكياً، تبقى يد الجهاز التي تشتغل بالقفل فوق القفل في الارتفاع الصحيح بحيث يمكن وضع الحجم المناسب،

(ب) أن توجد العلبة المعينة في مركز الصفيحة المتحركة،

بتدوير النتيجة كما هو مبين أعلاه، يكون عدد الأجسام العضوية الدقيقة 17000 أو  $1,7 \times 10^4$  في المليلتر أو في الغرام من المادة.

**10. تقنية إحصاء المستعمرات في السطح بواسطة جهاز الزرع الحلقي.**

**1.10 عموميات :**

تحدد هذه التقنية إحصاء الأجسام العضوية الدقيقة الموجودة في الأغذية الموجهة للاستهلاك البشري أو الحيواني وعينات البيئة عن طريق الزرع الحلقي وحساب المستعمرات التي تنمو فوق وسط صلب بعد التحضين في وسط هوائي (بالنسبة لتعريف الأجسام العضوية الدقيقة، (1,2).

**2.10 المبدأ :**

توضع العينة السائلة أو المحلول في حالة مواد أخرى بطريقة مستمرة وبتابع شكل حلقة أرخميدس على سطح علبة الهلام مشكلة حركة دورانية.

يبدأ الحجم الموزع في التناقص شيئاً فشيئاً كُلاً ما تقدمنا في عملية التوزيع (مسبر أو حقنة دقيقة معقمة ذات الاستعمال الوحيد) من المركز إلى محيط العلبة، بحيث تكون هناك علاقة طردية بين الحجم الموزع والقرص الحلقي.

أثناء التحضين، تتكاثر المستعمرات فوق الهلام على طول الخطوط التي وضع فوقها السائل. يعاير مجال الإحصاء حسب حجم العينة الموضوع فوق مختلف المناطق من الهلام.

تحسب المستعمرات في منطقة معينة ويحسب عدد المستعمرات في الغرام أو في المليلتر. يمكن أن يجري الحساب بواسطة جهاز أوتوماتيكي.

**3.10 أوساط الزرع والمحلل الأم والمخففات (4) :**

تستعمل المحاليل الآتية لتنظيف وتعقيم المسبر، ولكنها غير ضرورية لأجهزة الزرع الحلقي الذي تستعمل فيه الحقن الدقيقة ذات الاستعمال الوحيد :

**1.3.10 ماء معقم** إذا كان من المحتمل أن تحتوي الأغذية على مواد دسمة، يمكن إضافة متعدد السوربات 80 لـ 1% من الحجم.

**2.3.10 محلول هيبوكلوريت الصوديوم،** لـ 5% من الكلور النشط.

**4.10 التجهيزات :**

التجهيزات المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا (5)،

**1.4.10 جهاز الزرع الحلقي،** مضبوط بطريقة تضمن توزيع الحجم الكلي لعينة ما، على سبيل المثال 0,05 ملل أو

**4.7.10 التحضين : (5.2.8).**

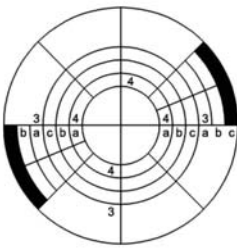
**5.7.10 إحصاء المستعمرات :**

**1.5.7.10 شبكة الإحصاء :**

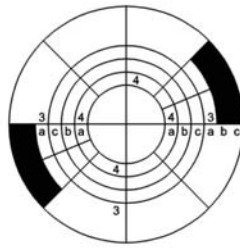
هناك شبكتين للإحصاء حسب أبعاد العلية.

تظهر شبكتا الإحصاء على شكل قرص شفاف قطره 150 ملم لكن بالنسبة للعلب التي قطرها 90 ملم، يستعمل فقط الجزء الداخلي للقرص الذي قطره 90 ملم. تستعمل شبكات الإحصاء المستلمة مع الجهاز وطبقا لتعليمات المصنع. تستعمل الشبكة لربط عدد المستعمرات فوق علية مزروعة بشكل حلقي حسب حجم الإنوكولوم الموزع في البداية. انظر الأمثلة في التمثيل البياني لمناطق الإحصاء.

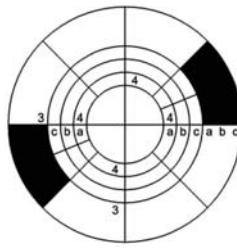
**التمثيل البياني لمناطق الإحصاء**



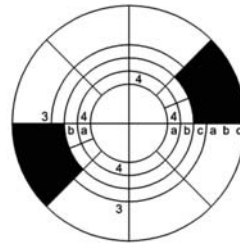
منطقة 3c - 0,0005 ملل



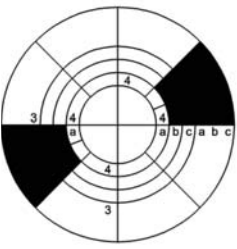
منطقة 3b - 0,0015 ملل



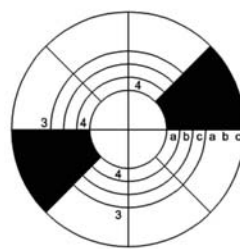
منطقة 3a - 0,0025 ملل



منطقة 4c - 0,0038 ملل



منطقة 4b - 0,0060 ملل



منطقة 4a - 0,0090 ملل

(ج) أن تشكل حافة المسبر أو الحقنة الدقيقة عند التماس، زاوية صحيحة مع سطح الهلام طبقا لتوصيات المصنع،  
(د) أن ينزل المسبر ويصعد في نقطة المعلم (المرجع) - بالنسبة للأجهزة الإلكترونية، يجب مراقبة نقطة البداية فقط.

تعد هذه المراقبات إذا أتلّف أو أختل المسبر أثناء اشتغال الجهاز (يرى بواسطة ترسبات موزعة بصفة غير منتظمة أو تراصف سيء لحواف المسبر مع معلم البداية الذي يوجد فوق الصفيحة المتحركة للجهاز).

**3.7.10 الزرع :**

**1.3.7.10 عموميات :**

تطبق التدابير الآتية لنماذج الأجهزة اليدوية - النماذج الحديثة نصف الأوتوماتيكية، ومن الملائم تشغيلها طبقا لتعليمات المصنع.

يملاً الوعاء الأول ذو الاستعمال الوحيد (3.4.10) بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم (2.3.10) ثم الثاني بالماء المعقم والثالث بالعيّنة. ينظف طرف المسبر قبل الاستعمال، ويعقم المسبر بين كل زرع، يشطف لمدة ثانية باستعمال هيبوكلوريت الصوديوم ثم ثانية واحدة بالماء المعقم.

بعد الشطف، ينزل المسبر للعيّنة ويفتح صمام التعبئة لجهاز الامتصاص. تمتص العيّنة من حواف المسبر حتى يتشكل عمود مستمر من السائل داخل الأنبوب فوق صمام التعبئة لجهاز الامتصاص. تكون حافة المسبر دائما تحت مستوى السائل، ويغلق صمام جهاز التعبئة. ترفع حافة المسبر ويدار الجهاز الذي احتفظ بالعيّنة لتوزيعها. ويوضع فوق الصفيحة المتحركة، الجهة السفلى لعلبة الهلام المسكوب مسبقا يتحقق منها من الجانب وينزل المسبر حتى تنزل حافته بدون ضغط على سطح علية الهلام. يشغل المحرك وتترك الصفيحة تدور حتى يرتفع المسبر ويتوقف الجهاز أوتوماتيكيا. يعاد الغطاء فوق العلية وتسحب من الصفيحة المتحركة.

بعدها خضعت كل عيّنة للتجربة، يشطف الجهاز بمحلول الهيبوكوريت والماء كما تم وصفه سابقا. يترك الجهاز مملوءا بالماء عند كل استعمال.

إذا كان هناك أكثر من تخفيف واحد للزرع، يشرع في التخفيف الأعلى.

تترك العلب بأغطيّتها مغلقة لمدة حوالي 15 دقيقة في درجة حرارة المحيط لامتصاص الإنوكولوم (التطعيم).

**2.3.7.10 مراقبة تعقيم جهاز الزرع الحلقي :**

يراقب تعقيم جهاز الزرع الحلقي باستعمال الماء المعقم قبل وبعد فحص كل سلسلة من العيّنات.

إذا كان العدد الإجمالي للمستعمرات المحصاة أعلى من 75 وإذا انتهى من إحصاء المستعمرات في منطقة المستعمرة العشرين، يكون عدد هذه المستعمرات عامة أقل بسبب خطأ التطابق المرتبط بتكاثر عدد كبير من المستعمرات.

يوصى بإحصاء الأجزاء الحلقية القريبة من المحيط حتى يحصى عدد إجمالي لا يقل عن 50 مستعمرة. تحسب النتيجة بتقسيم عدد المستعمرات المحصاة على حجم هذه المناطق.

إذا أخصيت أقل من 20 مستعمرة على كامل العلبة، يكون مجال الثقة للإحصاء عاليا. وإذا كان عدد المستعمرات المحصاة أعلى من 75 في المنطقة الأولى، على سبيل المثال، المنطقة 3c، تسجل النتيجة كأنها بالتقريب  $300\ 000 <$  مستعمرة/ملل.

#### 4.5.7.10 فحص وتسجيل عدد المستعمرات المزروعة بشكل حلقي في التقرير (بواسطة جهاز الإحصاء الإلكتروني) :

تتبع تعليمات المصنع، لكن تجرى المراقبة باستعمال منهج يدوي (3.5.7.10) على الأقل، أثناء الاستعمال الأولي للجهاز أو عند فحص مادة غذائية جديدة.

#### 8.10 الحساب والتعبير عن النتائج :

يحسب عدد المستعمرات المزروعة بشكل حلقي. تسجل النتيجة بأنها عدد المستعمرات المزروعة بشكل حلقي في المليتر أو الغرام، حسب الحالة.

#### 2.5.7.10 المعايرة والمراقبة :

تحدد الأحجام المرافقة لمختلف مناطق الشبكة في دليل التوصيات لجهاز الزرع الحلقي لإنجاز معايرة دقيقة، يجب أن تراقب الأحجام الموافقة لمناطق الشبكة من طرف شخص له خبرة.

لمراقبة الأحجام الموافقة لكل منطقة، يحضّر 11 تركيزا بكتيريا في مجال محصور بين 106 خلية/ملل و103 خلية/ملل بالقيام بتخفيفات 1+1 لمحلول من البكتيريا غير مجتاحة. تزرع جميع التخفيفات مرتين كما هو محدد في (2.8)، بواسطة جهاز الزرع الحلقي باستعمال نفس الوسط ونفس جهاز التحضين. يحسب الحجم الموافق بالمنطقة المحصاة من الشبكة، معطاة بـ :

$$V = \frac{C_A}{C_{ml}}$$

حيث :

V : هو حجم منطقة معينة من الشبكة (بالمليتر)،

CA : هو عدد المستعمرات المحصاة في هذه المنطقة،

Cml : هو العدد الحقيقي للمستعمرات بالمليتر.

يراقب الحجم الكلي الموضوع عن طريق جهاز الزرع الحلقي بوزن الكمية الموزعة فوق ميزان تحليلي بدقة  $\pm 2$  ملغ.

#### 3.5.7.10 فحص وتسجيل عدد المستعمرات

#### المزروعة بشكل حلقي (منهج يدوي) في التقرير :

توجّه العلبة المزروعة فوق الشبكة. وتنتقى المناطق بدءا من الخارج حتى المركز إلى غاية إحصاء 20 مستعمرة.

يستمر في إحصاء المستعمرات الموجودة في المنطقة (أي في المنطقة أو في جزء من المنطقة) التي لوحظت فيها المستعمرة العشرون 20. ويسجل العدد وكذا رقم المنطقة التي تحوي المستعمرة العشرون (على سبيل المثال 4a, 4b, 4c, 3a, 3b, 3c) المبيّن في التمثيل البياني لمناطق الإحصاء. يجري الحساب في نفس المنطقة، من الجهة المعاكسة من العلبة، ويقسم العدد الإجمالي للمنطقتين على الحجم المعروف الذي وضع في تلك المنطقتين، والذي يعطي عدد المستعمرات في المليتر.