قرارات، مقررات، آراء

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004، يجعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي 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 في14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل والمتمم،

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، المعدل و المتمم والمذكور أعلاه ، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش و تلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق .

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

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

حرر بالجزائر في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004.

نور الدين بوكروح

الملحق

منهج لتحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي

1-التعريف : تقتضي متطلبات هذا المنهج، تطبيق التعاريف التالية .

1.1 تخفيف أولي (المحلل الأم) : محلل، محلول أو مستحلب حصل عليه بعد وزن أو كيل كمية من المنتوج المراد تحليله (أو العينة المراد تجربتها والمحضرة انطلاقا من هذا المنتوج) التي تم خلطها إن اقتضت الحاجة باستعمال خلاط مع مراعاة الاحتياطات الملائمة (6) تسع مرات نفس كمية المخفف (3) مع ترك الجزيئات الكبيرة تتوضع إن وجدت.

يمكن في بعض الحالات، إضافة المخفف بكثرة لاسيما بالنسبة للمنتوجات التي تعطي محلل الأم 1+9 لزج أو كثيف. وفي حالات أخرى، يمكن استعمال تخفيف أولي مركز أكثر من 1+9 ذلك بالنسبة لنتائج التجربة التي لها علاقة مع بعض معايير المواصفات. يجب الأخذ بعين الاعتبار هذا العامل لمواصلة العمليات و/ أو للتعبير عن النتائج.

2.1 التخفيفات العشرية التالية : محلل، مستحلب أو محلول متحصل عليه بخلط حجم معين للتخفيف الأولي (1.1) مع

تسع مرات نفس حجم المخفف المناسب و تكرر هذه العملية على كل تخفيف محضر إلى غاية الحصول على مجموعة من التخفيفات العشرية المناسبة لزرع أوساط الزرع .

2-المبدأ

لتسهيل الفحص الميكروبيولوجي، نقوم بتحضير التخفيف الأولي (محلل الأم) (1.1) و إذا اقتضى الأمر التخفيفات العشرية الموالية (2.1) و هذا لتقليص عدد الأعضاء المجهرية لوحدة حجم.

3-المخففات

1.3 المكونات الأساسية

لتحسين صحة النتائج، يشترط لتحضير المخفف، استعمال مكونات أساسية مجففة أو تحضير كامل مجفف. يجب احترام التعليمات التقنية بدقة.

يجب أن تكون المنتوجات الكيميائية ذات نوعية تحليلية معترف بها.

يجب أن يكون الماء المستعمل ماء مقطرا في جهاز من الزجاج أو ماء خال من الأملاح المعدنية، خال من المواد التي بإمكانها التأثير على نمو الأعضاء المجهرية في الظروف التي أجريت فيها التجربة. يتعين مراقبة هذا الجانب دوريا خاصة في حالة الماء المنزوع الأملاح المعدنية.

يتعين استعمال محاليل هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الكلوريدريك (حوالي 0.1مول/ل) من أجل تعديل العامل الهيدروجيني pH للمخففات، ما لم يرد بيان مخالف.

2.3 المخففات للاستعمال العام

1.2.3 محلول بيبتون– ملح

التركيب

بيبتون..... 1,0غ

كلورور الصوديوم NaCl..... 8,5غ

الماء..... 1000ملل

التحضير

تذويب المكونات في الماء ، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر،

يعدل العامل الهيدروجيني pH إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,0 ± 0,1 في 25°م.

2.2.3 محلول رينجر المخفف عند الربع

التركيب

كلورور الصوديوم NaCl..... 2,25 غ

كلورور البوتاسيوم KCl..... 0,105 غ

كلورور الكالسيوم الجاف $CaCl_2$ .....0,06 غ

هيدروجينوكاربونات الصديوم $NaHCO_3$ .....0,05 غ

ماء 1000ملل

التحضير

تذويب الأملاح في الماء.

تعديل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 6,9 ± 0,1 في 25°م.

3.2.3 محلول بيبتون

التركيب

بيبتون ..... 1,0 غ

ماء 1000ملل

التحضير

تذويب بيبتون في الماء.

تعديل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,0 ± 0,1 في 25°م .

4.2.3 محلول الفوسفات

تركيب المحلول الأصلي

ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم

(KH_2PO_4)..... 42,5 غ

ماء..... 1000ملل

التحضير

يذوب الملح في 500ملل من الماء، يعدل العامل الهيدروجيني بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم أو حمض الكلوريدريك لـ 1 مول /ل، إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,2 ±0,1 في 25°م.

يذوب بالماء حتى 1000 ملل. يحفظ المحلول الأصلي في الثلاجة.

قبل الاستعمال، يضاف 1ملل من المحلول الأصلي (في 20م°) لـ 1000 ملل من الماء لاستعماله كمخفف.

3.3 المخففات للاستعمال الخاص

1.3.3 محلول سترات الصوديوم (للجبن، والجبن الطري والحليب الجاف هات ماكر Hatmaker)

التركيب

سترات ثلاثي الصوديوم المميه مرتين

$Na_3\ C_6H_5O_7 2H_2O$ ..... 20,0 غ

ماء..... 1000ملل

التحضير

يذوب الملح في الماء بالتسخين بين 45م° و 50م° .

يعدل العامل الهيدروجيني إلى أن يبلغ بعد التعقيم 7,5 ± 0,1 في 25م°.

2.3.3 محلول مونوهيدروجينو- فوسفات البوتاسيوم (للجبن، و الجبن الطري- حمض الكازيين- مسحوق الكازيين اللبني- الكازينات- مساحيق مصل الحليب الحمضي الحمضيات والقشدة الحامضة).

التركيب

مونوهيدروجينو- فوسفات البوتاسيوم K_2HPO_4 ..... 20,0 غ

ماء..... 1000ملل

التحضير

تذويب الملح في الماء بالتسخين بين 45م° و50م°.

يعدل العامل الهيدروجينيpH .بالنسبة للتخفيف الأولي لحمض الكازيين، الكازيين اللبني ومسحوق مصل الحليب الحمضي، يجب أن يكون العامل الهيدروجيني بعد التعقيم 8,4 ± 0,1 في 25م°. أما بالنسبة للكازينات، الأجبان، الأجبان الطرية والقشدة الحامضة، يكون العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1

4.3 التوزيع، التعقيم وحفظ المخفف

بالنسبة للتخفيف الأولي، يوزع المخفف (3.2 أو3.3) في القنينات(4.4)، أما بالنسبة للتخفيفات العشرية (3,2)، فتوزع في أنابيب اختبار (4.5) بكميات تسمح بعد التعقيم باحتواء كل قنينة (4.4) على 9,0 ملل (أو كميات أخرى مطلوبة) و كل أنبوب اختبار(4.5) على 9,0 ملل من المخفف أو مخفف متعدد يقدر بـ 9,0 ملل (أو كميات أخرى مطلوبة).

تسد الأنابيب و القنينات.

تعقيم بواسطة جهاز التعقيم لمدة 15 دقيقة في 121م°±1 (يمكن أن تكون مدة التعقيم طويلة بالنسبة للأحجام الكبيرة).

في حالة عدم استعمال المخفف فوريا، يتعين حفظه بعيدا عن الضوء من 0°م إلى 5°م لمدة شهر كحد أقصى في ظروف لا يحدث فيها أي تغير في حجم المخفف أو تركيبه.

إذا أردنا إحصاء عدة مجموعات من الأعضاء المجهرية باستعمال أوساط زرع مختلفة، يمكن توزيع كل المخففات (أو البعض منها) بكميات أكبر من 9,0 ملل. يجب أن تكون أحجام أنابيب الاختبار و القنينات (4,5 و4,4) متناسبة مع أحجام المخففات.

4- التجهيزات و الأدوات الزجاجية

تعتبر التجهيزات ذات الاستعمال الواحد مقبولة شأنها شأن الأدوات الزجاجية المعاد استعمالها ، إذا كانت خصوصياتها مطابقة لخصوصيات الأدوات الزجاجية وأن تكون مقاومة للتعقيمات المتكررة وأن تكون خاملة كيميائيا.

الأدوات العادية للمخبر الميكروبيولوجي لاسيما :

1.4 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (فرن) أو بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم) (جهاز تعقيم معزول أو مدمج داخل نظام تحضير و توزيع الأوساط) .

يجب تعقيم الأدوات الملامسة للمخفف، للعينة المراد تجربتها و التخفيفات إلا في حالة ما إذا كانت معقمة مسبقا (التجهيزات البلاستكية).

أ – سواء في الفرن، بتثبيته في درجة حرارة تتراوح بين 170°م و175° م لمدة ساعة واحدة على الأقل .

ب – سواء في جهاز التعقيم ، بتثبيته في درجة حرارة تقدر بـ 121 م°±1 لمدة 20 دقيقة على الأقل.

في حين، يجب عدم تعقيم الماصات في جهاز التعقيم، وذلك بسبب تكثف الرطوبة على الجوانب الداخلية للماصة أثناء التبريد مما يؤثر على دقة الحجم المراد أخذه.

2.4 تجهيزات المجانسة

يجب استعمال إحدى التجهيزات التالية :

أ– جهاز المجانسة الدوراني، يبلغ عدد الدورات فيه بين 8000 د$^{-1}$ و 45000د$^{-1}$ ، يحتوي على كؤوس زجاجية أو حديدية مجهزة من الأفضل بأغطية ومقاومة للتعقيم.

ب– جهاز المجانسة من النوع الحلقي (Stomacher) يحتوي على أكياس بلاستيكية معقمة .

يجب أن تكون سعة الكؤوس و الأكياس البلاستيكية (كيس Stomacher) كافية تسمح بمزج العينة جيدا مع الكمية المناسبة للمخفف . و على العموم، يجب أن يكون حجم الوعاء يساوي مرتين حجم العينة و المخفف معا.

3.4 رجاج له القدرة على خلط 1ملل أو2 ملل من العينة المراد تجربتها (في حالة المواد السائلة) أو خلط التخفيفات العشرية في أنبوب ذو سعة كافية، مع 9 ملل أو18 ملل من المخفف للحصول على معلق متجانس و ذلك عن طريق حركات دورانية خارج مركز محتوى أنابيب الاختبار (مثال زجاج فورتيكس).

4.4 قنينات يمكن أن تستوعب 90 ملل من المخفف المستعمل لتحضير المحلول الأصلي أو عدة أحجام من 90 ملل، مع ترك فراغ كافي في هذه القنينات لتسهيل عملية الرج.

5.4 أنابيب اختبار يمكن أن تستوعب 10 ملل (أو عدة أحجام من 10ملل إذا اقتضى الأمر) من العينة المراد تجربتها (إذا كانت سائلا) أو التخفيف الأولي (في حالات أخرى) أو تخفيفات عشرية المواليه، مع ترك فراغ كافي في الأنابيب لتسهيل عملية الرج.

6.4 ماصات (مسدودة بواسطة قطن) ذات سعة معتبرة تقدر بـ 1ملل و فتحة سيلان تبلغ بـ 1,75مم ويبلغ قطرها 3 مم.

ينبغي عدم استعمال ماصات مشققة، و إذا استلزم الأمر يتعين أن تكون تدرجات الماصة واضحة لتمييزها عن المحتوى.

7.4 ماصات مدرجة (مسدودة بواسطة قطن) ذات سعة كبيرة نسبيا مثلا 10 ملل أو20 ملل .

8.4 كريات زجاجية، يبلغ قطرها حوالي 6 مم.

9.4 جهاز قياس العامل الهيدروجيني pH مجهز بمعدل حراري مضبوط في 0,1 لوحدة العامل الهيدروجيني pH .

10.4 ميزان ذو حمولة كافية مضبوط في 1% للكتلة الصافية الموزونة.

11.4 حمام مائي معدل في 45°م ±1.

12.4 حمام مائي معدل في 37°م ±1.

5 -المعايرة

تتم المعايرة وفق شروط مناسبة.

6- طريقة العمل

بالنسبة لبعض الأبحاث الخاصة (مثال السالمونيلا) يشترط تقنيات خاصة أو لزوم بعض الاحتياطات. بالنسبة لهذه الحالات، فإن التقنيات مبينة في المنهج المعني.

يجب أن لا تجري العمليات المبينة في 1.1.6 و2.1.6 مباشرة تحت أشعة الشمس.

يتعين أخذ الاحتياطات العادية للنظافة.

1.6 تحضير العينة للتجربة و التخفيف الأولي

لتفادي إلحاق الضرر بالأعضاء المجهرية بسبب التغير المفاجئ لدرجة الحرارة، يتعين أن تكون درجة حرارة المخفف خلال العمليات المذكورة أدناه، هي نفس درجة حرارة العينة المراد تجربتها، إلا في حالة وجود مواصفات مخالفة.

1.1.6 الحليب و المنتجات الحليبية السائلة

رج العينة المراد تجربتها جيدا لضمان توزيع متماثل بقدر الإمكان للأعضاء المجهرية ، بالقلب السريع للوعاء المحتوى على العينة، 25 مرة . يجب تجنب تشكل رغوة أو تركها تتبعثر. يجب أن لا تتجاوز المدة بين الخلط واقتطاع العينة، ثلاث دقائق.

اقتطاع 1ملل من العينة المراد تجربتها بواسطة ماصة معقمة (6.4) و تضاف إلى 9 ملل من المخفف (2.3) (أو 10 ملل من العينة المراد تجربتها لـ 90 ملل من المخفف أو 11 ملل لـ 99 ملل).

– رج هذا التخفيف الأولي (مثال 25 مرة عن طريق حركة تقدر بـ 300مم في 7 ثوان) .وبذلك نتحصل على تخفيف 10^{-1}.

تحضر التخفيفات الموالية حسب 2,6.

2.1.6 الحليب الجاف، مسحوق مصل الحليب ، مسحوق المخيض واللاكتوز

خلط بعناية محتوى الوعاء المغلق بتحريكه وقلبه بصفة مكررة.

إذا كانت العينة المراد تجربتها موجودة في الرزم الأصلي ومعبأة بطريقة لا تسمح بالخلط الجيد ، يتعين تحويلها إلى وعاء أكبر. يخلط الوعاء ثم يفتح لاقتطاع العينة المطلوبة بواسطة ملعقة وفق الطريقة المبينة أدناه.

يغلق الوعاء مباشرة بعد ذلك.

تسخن قنينة تحتوي على 90 ملل من المخفف ملائم (2.3) في حمام مائي (11.4) أو مسحوق الحليب هات ماكر(1.3.3)، إذا اقتضى الأمر ويبلغ عامله الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 في 45° م ±1.

وزن 10غ من العينة المراد تجربتها في وعاء زجاجي مناسب (مثل وعاء بيشر)، يفرغ المسحوق ببطء في قنينة التخفيف المحتوية على المخفف المختار أ و وزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في القنينة مع المخفف.

لتذويب المحتوى، تدور القنينة ببطء من أجل تمييه المسحوق تم ترج 25 مرة لمدة 10 ثوان عن طريق حركات تبلغ حوالي 300 مم . يمكن استعمال جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) كوسيلة أخرى للرج .

إعادة وضع القنينة في الحمام المائي لمدة 5 دقائق مع الرج من حين لآخر.

تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

من أجل الحصول على مسحوق حليب جيد معاد تكوينه و خاصة مسحوق الحليب هات ماكر، يمكن استعمال كريات زجاجية (8.4). و في هذه الحالة، يتعين وضعها في القنينات قبل التعقيم.

3.1.6 الجبن و الجبن الطري

يوزن 10غ من العينة المراد تجربتها في كبسولة توضع في وعاء جهاز المجانسة الدوراني (2.4أ) أو جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) أو توزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في الوعاء.

أثناء استعمال جهاز المجانسة الدوراني أو جهاز المجانسة من النوع الحلقي، يضاف 90 ملل من المخفف (2.3)، أو (1.3.3) أو(2.3.3) و يكون العامل الهيدروجيني pH 7,5 ± 0,1.

تخلط المادة إلى غاية توزيعها الكامل (من دقيقة واحدة إلى 3 دقائق). في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني، نعمل لمدة كافية للحصول على دوران إجمالي يبلغ من 15000 إلى 20000 دورة.

– حتى في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني الأقل سرعة، ينبغي أن لا تتجاوز المدة 2,5 دقيقة. من الأفضل أن لا تتجاوز درجة حرارة التوزيع 40م° و أن لا تتعدى في أي حال 45م°. تترك الرغوة لتتوزع.

– تحضر التخفيفات الموالية وفق.2.6.

4.1.6 حمض الكازيين، الكازيين اللبني، حمض مسحوق مصل الحليب

وزن 10غ من العينة المراد تجربتها ووضعها في كبسولة.

توضع العينة في قنينة التخفيف تحتوي على كريات زجاجية (8.4) و 90 ملل من مخفف هيدروجينو الفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.3) ويكون العامل الهيدروجيني p H 8,4 ± 0,1 وهذا يتعلق بحمض الكازيين و الكازيين اللبني .

تترك القنينة في درجة حرارة محيطية لمدة 15 دقيقة ثم ترفع درجة الحرارة إلى 37°م ± 1 في حمام مائي (12.4).

تترك القنينات في 37°م لمدة 15 دقيقة مع تحريكها بقوة من حين لآخر .

تجنب استعمال جهاز المجانسة الدوراني (2.4 أ) أو جهاز من النوع الحلقي(2.4ب) بسبب تشكل الرغوة .

– تحضير التخفيفات الموالية وفق 2.6.

5.1.6 الكازيينات

توزن 10غ من العينة المراد تجربتها في كبسولة وتوضع في وعاء جهاز المجانسة الدوراني (2.4 أ) أو في جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب) أو توزن 10غ من العينة المراد اختبارها مباشرة في الوعاء. إضافة 90 ملل من مخفف هيدروجينو_ فوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.3) و يكون العامل الهيدروجيني 7,5 ± 0,1 وفي درجة حرارة محيطية.

يخلط لحوالي دقيقتين . في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني ، ينبغي العمل لمدة كافية للحصول على دوران إجمالي يبلغ من 15000 إلى 20000 دورة . حتى بالنسبة لجهاز المجانسة الدوراني الأقل سرعة يجب أن لا تتجاوز المدة 2,5 دقيقة.

– ترفع درجة الحرارة إلى 37° م ± 1 في حمام مائي(12.4).

– في حالة استعمال جهاز المجانسة الدوراني ، ينقل الخليط إلى قنينة أخرى تحتوى على تخفيف معقم .

– يترك في37° م ± 1 لمدة 15 دقيقة .

– تترك الرغوة تتوزع ، قبل مواصلة العمل .

– تحضر التخفيفات الموالية وفق 2.6.

6.1.6 الزبدة

توزن 10غ من العينة المراد تجربتها في وعاء و توضع في الحمام المائي (11.4) في 45°م ± 1.

يترك الوعاء في الماء إلى غاية ذوبان العينة.

يضاف 90 ملل من المخفف (2.3) ثم يخلط.

يسهل إنجاز هذه العملية، في حالة استعمال جهاز المجانسة من النوع الحلقي (2.4ب).

كما يمكن العمل فقط على الطبقة المحتوية على الماء لتحضير التخفيف كما يلي :

تؤخذ كمية تقدر بـ 50 غ تحتوي على حوالي 8 ملل من الماء و يضاف إليها 42 ملل من المخفف (3.2.3) ثم يعاد تسخينه في 45° م.

يوضع الوعاء في الحمام المائي (11.4) في 45° م ± 1 إلى غاية ذوبان الزبدة. يخلط جيدا و يترك على الأكثر 15دقيقة إلى غاية حدوث الانفصال.

لفصل الطبقات، إذا اقتضى الأمر، توضع العينة الخاصة باختبار الذوبان في أنبوب الطرد المركزي معقم (أو تذوب العينة المراد تجربتها مباشرة في أنبوب الطرد المركزي) حيث تبلغ سرعة الدوران من 1000د$^{-1}$ إلى 2000 د$^{-1}$.

تقتطع الطبقة الدسمة (العليا) بطريقة معقمة بواسطة أنبوب معقم متصل بمضخة فارغة.

تقتطع الطبقة السفلى.

تحضير التخفيفات الموالية وفق 2.6.

7.1.6 المنتوجات الحليبية المجمدة (بما فيها المثلجات الموضوعة للاستهلاك)

تطبق نفس الطريقة الخاصة بالزبدة (6.1.6) (الطريقة الأولي) ولكن باستعمال حمام مائي(12.4) في 37° م± 1 على الأكثر.