

قرارات، مقررات، آراء

وزارة التجارة

**قرار مؤرخ في أول ربيع الأول عام 1439 الموافق 20
نوفمبر سنة 2017، يجعل منهج تمضير العينات
والمطول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص
الميكروبيولوجي للحليب ومشتقاته، إجباريا.**

إن وزير التجارة،

- بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 17-243 المؤرخ
في 25 ذي القعدة عام 1438 الموافق 17 غشت سنة 2017
والمتمم بتعيين أعضاء الحكومة،

- وبمقتضى 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 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،

الملحق**منهج تحضير العينات والمحلل الأم والتخفيفات
العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي للحليب
ومشتقاته****1. مجال التطبيق :**

يحدد هذا المنهج قواعد تحضير عينات الحليب ومشتقاته ووضعها في محلول معلق قصد الفحص الميكروبيولوجي.

يطبق هذا المنهج على :

- الحليب ومشتقات الحليب السائلة،
- منتجات الحليب على شكل مسحوق،
- الأجبان،
- الكازيين والكازينات،
- الزبدة،
- الثلجات،
- الكريمة الإنجليزية والحلويات والكريمة الحلوة،
- الحليب المخمر والكريمة الحامضة،
- المستحضرات الموجهة للرضع والمعدة أساسا من حليب.

2. مصطلحات و تعاريف :

يقصد، في مفهوم هذا المنهج، بما يأتي :

1.2 عينة المخبر:

العينة المقتطعة لكي ترسل إلى المخبر والموجهة لاستعمالها في المراقبة أو التجارب.

2.2 العينة المقتطعة للتجربة :

عينة ممثلة مقاسة بحجم أو بكتلة مقتطعة من عينة المخبر والتي تستخدم لتحضير المحلول الأم.

3.2 المحلول الأم (التخفيف الأول) :

معلق أو محلول أو مستحلب متحصل عليه بمزج كمية من المنتج المراد تحليله (أو عينة للتجربة محضرة انطلاقا من هذا المنتج) مع كمية من المخفف تساوي تسع (9) مرات كمية المنتج مع ترك العناصر الكبيرة تترسب في حالة وجودها.

- 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 المرسوم التنفيذي رقم 17-62 المؤرخ في 10 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 7 فبراير سنة 2017 والمتعلق بشروط وضع وسم المطابقة للوائح الفنية وخصائصه وكذا إجراءات الإسهاد بالمطابقة،

- وبمقتضى القرار المؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004 الذي يجعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي إجباريا،

- 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،

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 تحضير العينات والمحلل الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي للحليب ومشتقاته، إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينات والمحلل الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي للحليب ومشتقاته، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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

المادة 3 : تلغى أحكام القرار المؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004 الذي يجعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي، إجباريا.

المادة 4 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

حرر بالجزائر في أول ربيع الأول عام 1439 الموافق 20 نوفمبر سنة 2017.

محمد بن مرادي

يضبط، إذا اقتضى الأمر، العامل الهيدروجيني (PH) بحيث يساوي $7 \pm 0,2$ في 25°C بعد التعقيم.

2.2.4 محلول رينجر (Ringer) مخفف إلى الربيع :

1.2.2.4 التركيب:

كلورور الصوديوم (NaCl).....	2,25 غ
كلورور البوتاسيوم (KCl).....	0,105 غ
كلورور الكالسيوم، عديم الماء (CaCl ₂).....	0,06 غ *
هيدروجينوكربونات الصوديوم (NaHCO ₃).....	0,05 غ
ماء	1000 ملل
* يمكن استعمال 0,12 غ من (CaCl ₂ , 6H ₂ O) كبديل.	

2.2.2.4 التحضير:

تذوّب الأملاح في الماء. يضبط العامل الهيدروجيني (PH)، إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي $6,9 \pm 0,2$ في 25°C بعد التعقيم.

3.2.4 محلول البيتون :

1.3.2.4 التركيب :

عصارة إنزيمية للكازين	1 غ
ماء	1000 ملل

2.3.2.4 التحضير:

يُذوّب البيبتون في الماء، يضبط العامل الهيدروجيني (PH)، إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي $7 \pm 0,2$ في 25°C بعد التعقيم.

4.2.4 محلول مثبت للفوسفات:

1.4.2.4 التركيب:

ثنائي هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم (KH ₂ PO ₄).....	42,5 غ
ماء	1000 ملل

2.4.2.4 التحضير:

يذوّب الملح في 500 ملل من الماء. يضبط العامل الهيدروجيني (PH)، إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي $7,2 \pm 0,2$ في 25°C بعد التعقيم. يخفف إلى 1000 ملل بالماء المتبقي.

يضاف 1 ملل من هذا المحلول الأم لـ 1000 ملل من الماء لاستعماله كمخفف.

4.2 التخفيفات العشرية التي تلي :

معلقات أو محاليل متحصل عليها بمزج حجم مقاس من المحلول الأم (3.2) مع حجم من المخفف يساوي تسع (9) مرات الحجم المقتطع من المحلول الأم مع إعادة هذه العملية على كل تخفيف محضر حتى الحصول على سلسلة من التخفيفات العشرية مناسبة لزراعة أوساط الزرع.

3. المبدأ :

تحضير المحلول الأم (3.2) بحيث نحصل بقدر الإمكان على توزيع موحد للأجسام الدقيقة الموجودة في عينة التجربة.

تحضير، إذا اقتضى الأمر، التخفيفات العشرية التي تليها (4.2) قصد تقليص عدد الأجسام الدقيقة في كل وحدة من الحجم للتمكن من ملاحظة نموها المحتمل بعد التحضين (حالة الأوساط السائلة) أو ملاحظة المستعمرات (حالة العلب التي تحتوي على الهلام).

إذا اقتضى الأمر ولتقليل الإحصاء في مجال معين أو إذا كان العدد المتوقع للأجسام الدقيقة كبيرا ، يمكن زرع التخفيفات العشرية الضرورية فقط (على الأقل تخفيفين متتاليين) للتمكن من إجراء الإحصاء.

4. المخففات :

تستعمل فقط كواشف ذات نوعية تحليلية معترف بها والماء المقطر أو منزوع الأيونات معقم.

1.4 المركبات الأساسية :

يجب الاستناد إلى منهج التحليل المتعلق بتحضير العينات، المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي والمحدد عن طريق التنظيم الساري المفعول.

2.4 مخففات للاستعمال العام :

1.2.4 محلول بيتون- ملح (Peptone- Sel) :

1.1.2.4 التركيب :

عصارة أنزيمية للكازين	1 غ
كلورور الصوديوم (NaCl).....	8,5 غ
ماء	1000 ملل

2.1.2.4 التحضير:

تذوّب المكونات في الماء مع تسخين خفيف، إذا اقتضى الأمر، فوق صفيحة تسخين (6.5).

3.1.3.4 التطبيق :

يستعمل هذا المحلول للجبن ومسحوق الحليب هاتماكر (Hatmaker) وبعض الكازيينات.

2.3.4 محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي**البوتاسيوم :****1.2.3.4 التركيب :**

هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم
(K₂HPO₄) 20 غ
ماء 1000 ملل.

2.2.3.4 التحضير :

يذوّب الملح في الماء بالتسخين ، إذا اقتضى الأمر ،
فوق صفيحة التسخين (6.5) في درجة حرارة محصورة
بين 45 م° و 50 م°.

بالنسبة لمسحوق مصّل الحليب الحامض، يضبط
العامل الهيدروجيني (PH)، بحيث يساوي عند
التخفيف الأول 0,2 ± 8,4 في 25 م° بعد التعقيم.
بالنسبة للجبن ومسحوق الحليب هاتماكر (Hatmaker)
والحليب المخمر والكازيينات والكريمة الحامضة، يضبط
العامل الهيدروجيني (PH)، بحيث يساوي 0,2 ± 7,5
في 25 م° بعد التعقيم.

3.2.3.4 التطبيق :

يستعمل هذا المحلول للجبن ومسحوق الحليب
Hatmaker والحليب المخمر وبعض أملاح الكازيين ومصّل
الحليب والقشدة الحامضة.

3.3.4 محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي**البوتاسيوم مع عامل مضاد للطفولة :****1.3.3.4 محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي****البوتاسيوم :****1.1.3.3.4 التركيب :**

هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم
(K₂HPO₄) 20 غ
ماء 1000 ملل

2.1.3.3.4 التحضير :

يذوّب هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم في
الماء بالتسخين، إذا اقتضى الأمر، فوق صفيحة
التسخين (6.5) في درجة حرارة محصورة بين 45 م°
و 50 م°.

يحفظ المحلول الأم في المبرد.

5.2.4 ماء ببتوني مثبت :**1.5.2.4 التركيب :**

عصارة أنزيمية لأنسجة الحيوان 10 غ
كلورور الصوديوم (NaCl) 5 غ
هيدروجينوفوسفات ثنائي الصوديوم
دوديكاهايدراتي (Na₂HPO₄ · 12H₂O) 9 غ (*)
ثنائي هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم
(KH₂PO₄) 1,5 غ
ماء 1000 ملل

(*) يستعمل 3,56 غ من هيدروجينوفوسفات ثنائي
الصوديوم (Na₂HPO₄) منزوع الماء كبديل.

2.5.2.4 التحضير :

تذوّب المكونات في الماء بتسخين خفيف، إذا
اقتضى الأمر، وفوق صفيحة تسخين (6.5).

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

3.5.2.4 التطبيق :

ينصح بهذا المخفف بالأخص للبحث عن سالمونيلا
(Salmonella spp) أو إحصاء لبيستيرييا
مونوسيتوجيناس (Listeria monocytogenes)، ولكن يمكن
كذلك استعماله لتحضير المحاليل الأم لتحاليل أخرى.

3.4 مخففات للاستعمالات الخاصة :

يجب ألا تستعمل هذه المخففات إلا لتحضير
المحاليل الأم.

1.3.4 محلول سيترات الصوديوم :**1.1.3.4 التركيب :**

سيترات ثلاثي الصوديوم ثنائي التميه
(Na₃C₆H₅O₇ · 2H₂O) 20 غ
ماء 1000 ملل

2.1.3.4 التحضير :

يذوّب، إذا اقتضى الأمر، الملح في الماء بالتسخين
فوق صفيحة تسخين (6.5) في درجة حرارة محصورة
بين 45 م° و 50 م°.

يضبط العامل الهيدروجيني (PH)، بحيث يصبح
0,2 ± 7,5 في 25 م° بعد التعقيم.

1.5.3.4 التحضير:

تضاف 12,5 ملغ من α - أميلاز ذات فعالية خاصة بتقريب 400 وحدة (*) في المليغرام لـ 225 ملل من المخفف للاستعمال العام (2.4). يستعمل هذا المخفف لـ 25 غ من عينة التجربة.

تستعمل كميات بنفس النسب لتحضير عينات أخرى للتجربة (على سبيل المثال لعينة تجربة تزن 10 غ، تضاف 5 ملغ من α - أميلاز لـ 90 ملل من مخفف للاستعمال العام).

ملاحظة: (*) تعرف هذه الوحدة الدولية على أنها كمية الأنزيم الذي يحفز تحويل 1 ميكرو مول (μmol) من المادة في الدقيقة في الشروط العادية.

2.5.3.4 التطبيق:

يستعمل هذا المحلول للأغذية التي تحتوي على النشاء.

6.3.4 ماء بيبتوني مثبت بالبروموكريزول**الأرجواني:****1.6.3.4 التركيب:**

ماء بيبتوني مثبت (5.2.4) 1000 ملل
بروموكريزول الأرجواني (ب 4 % في محلول من الكحول، على سبيل المثال محلول من الإيثانول)..... 0,1 ملل

2.6.3.4 التحضير:

تضاف 0,1 ملل من محلول البروموكريزول الأرجواني لـ 1000 ملل من الماء البيبتوني المثبت (5.2.4).

3.6.3.4 التطبيق:

يمكن أن يستعمل هذا المحلول في بعض المنتجات الحامضة (3.7) بحيث يمكن أن يضبط العامل الهيدروجيني (PH)، بدون استعمال مسبار العامل الهيدروجيني معقم.

يكون البروموكريزول الأرجواني أصفرا عند عامل هيدروجيني (PH)، حامضي، ويميل إلى البنفسجي عندما يكون العامل الهيدروجيني أكبر من 6,8.

4.4 توزيع وتعقيم المخفف:

لتحضير وتعقيم المخفف، يستند إلى منهج التحليل المتعلق بتحضير العينات والمحلول الأم

2.3.3.4 محلول مركز من عامل مضاد للرقوة:**1.2.3.3.4 التركيب:**

متعدد الإيثان غليكول 2000.....1 غ
ماء 100 ملل

2.2.3.3.4 التحضير:

يذوّب متعدد الإيثان غليكول 2000 في الماء مع الخلط.

3.3.3.4 تحضير محلول هيدروجينوفوسفات**ثنائي البوتاسيوم مع عامل مضاد للرقوة:**

يضاف 1 ملل من محلول مركّز من عامل مضاد للرقوة (2.3.3.4) لـ 1 لتر من محلول (K_2HPO_4) (1.3.3.4).

يُضبط العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يساوي $8,4 \pm 0,2$ في 25°C بعد التعقيم بالنسبة للتخفيف الأول للكازيين الحامضي والكازيين اللبني، ويساوي $7,5 \pm 0,2$ في 25°C بالنسبة لروبة الكازيين بعد التعقيم.

4.3.3.4 التطبيق:

يستعمل هذا المحلول للكازيين الحامضي وللكازيين اللبني ولروبة الكازيين.

4.3.4 محلول ثلاثي متعدد الفوسفات:**1.4.3.4 التركيب:**

ثلاثي متعدد فوسفات الصوديوم ($\text{Na}_3\text{O}_{10}\text{P}_3$).....20 غ
ماء 1000 ملل

2.4.3.4 التحضير:

يذوّب الملح في الماء بالتسخين الخفيف فوق صفيحة التسخين (6.5) إذا اقتضى الأمر، يسكب محلول ثلاثي متعدد الفوسفات في قارورات بكمية 90 ملل، وتعقم.

ملاحظة: يمكن أن يحفظ هذا المحلول في درجة حرارة $5^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$ لمدة شهر واحد، على الأكثر.

3.4.3.4 التطبيق:

يستعمل هذا المحلول كمخفف آخر لروبة الكازيين التي تكون صعبة الذوبان.

5.3.4 مخفف للاستعمال العام مع محلول **α -أميلاز:**

بالنسبة للمنتوجات الجافة والصلبة أو غير المتجانسة، يمكن أن يكون ضروريا سحق عينة المخبر. في هذه الحالة، يجب ألا تتعدى عملية السحق أكثر من دقيقة، لتجنب التسخين المفرط.

3.6 المنتجات السائلة و غير اللزجة :

ترجّ العيّنة يدويا (1.8) أو بواسطة وسائل ميكانيكية بطريقة يضمن فيها توزيع موحد للأجسام الدقيقة قبل التحليل.

4.6 منتجات غير المتجانسة :

بالنسبة للمنتوجات غير المتجانسة، من الأحسن اقتطاع أقسام ممثلة لكل مكون حسب نسبها في المنتج الأولي.

يمكن أيضا مجانسة عيّنة المخبر بأكملها للسماح باقتطاع عينة للتجربة متجانسة.

يمكن أن يكون ضروريا سحق عيّنة المخبر. في هذه الحالة ولتجنب التسخين المفرط، يجب ألا تتعدى مدة السحق أكثر من دقيقة واحدة.

7. طرق العمل العامة :

1.7 عموميات :

من الأحسن أن تجري جميع التحضيرات والعمليات حسب تقنيات مطهرة مناسبة وبواسطة تجهيزات معقمة لتجنب جميع التلوثات الجرثومية للعينات من مصادر خارجية.

2.7 اقتطاع العينات :

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

3.7 الحالة العامة للمنتوجات الحمضية :

من المهم التأكد من تعديل العامل الهيدروجيني (PH)، خلال استعمال محلول المنتجات الحمضية. إن استعمال المخفف المضاف إليه مؤشر العامل الهيدروجيني (6.3.4) يمكن أن يسمح بتجنب استعمال وتعقيم مسابر العامل الهيدروجيني (PH)، يضاف هيدروكسيد الصوديوم (NaOH) حتى يبدأ المؤشر بتغيير اللون.

في حالة استعمال مخففات مثبتة، يكون من الضروري غالبا إضافة NaOH لرفع أثر المثبت للمكون القاعدي. يتعلق تركيز الـ NaOH المضاف بحموضة المنتج. إن التركيز الأكثر ملاءمة هو ذلك الذي يسمح بالابتعاد قدر الإمكان من النسبة 1 لـ 9 من المخفف (على سبيل المثال 0,1 مول/ل أو 1 مول/ل).

والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي والمحدد في التنظيم المعمول به.

5. التجهيزات:

الأجهزة المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا، و لا سيما ما يأتي :

1.5 خلاط دوراني أو خلاط ذو حركة لولبية.

2.5 محراك فورتاكس (vortex).

3.5 كريات زجاجية قطرها حوالي 6 ملم.

4.5 حمامات مائية قادرة على ضبط درجات الحرارة في 37 م° ± 1 م° و 45 م° ± 1 م°.

5.5 ملائق أو قضبان من الزجاج .

6.5 صفيحة التسخين أو جهاز آخر يسمح بتسخين خفيف (عدم استعمال الموقد بالغاز) ويمكن تشغيله في درجة الحرارة اللازمة .

6 . تحضير العينات :

1.6 المنتجات المجمدة:

من الأحسن إعادة المنتجات المجمدة إلى الحالة التي تسمح باقتطاع العينات، أي بتخزينها بين 18 م° و 27 م° (درجة حرارة المخبر) لمدة أقصاها 3 سا ، أو في 3 م° ± 2 م° لمدة أقصاها 24 سا.

ينبغي إخضاع العينات إلى التجربة في أسرع وقت.

فيما يخص مدة العمليات المتعلقة بتحضير العينات، يستند إلى منهج التحليل المتعلق بتحضير العينات و المحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي والمحدد في التنظيم الساري المفعول.

إذا بقي المنتج مجمدا أثناء اقتطاع العينة، يمكن إضافة المخفف (4) في درجة حرارة المخبر وذلك لتسهيل إزالة تجمده.

2.6 المنتجات الصلبة والجافة:

لمزج المنتجات الصلبة في الخلاط (الدوراني) (1.5) توضع العينة والمخفف في كيسان معقّمين أو أكثر لاجتناب ثقبها والفيضان المحتمل للعينة.

لا تجانس المنتجات الصلبة أو الجافة في جهاز المجانسة الدوراني أكثر من 2,5 دقيقة بدون انقطاع.

(2.4) بالنسبة لمسحوق مصال الحليب الحامض، يستعمل محلول من هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.4) عند عامل هيدروجيني يساوي $8,4 \pm 0,2$ أو، إذا اقتضى الأمر، يستعمل بالنسبة لمسحوق الحليب هاتماكر (Hatmaker) محلول سترات الصوديوم (1.3.4) أو محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.4) عند عامل هيدروجيني يساوي $7,5 \pm 0,2$.

أو توزن 10 غ من عينة التجربة وتسكب مباشرة في قارورة تحتوي على المخفف اللزج.

لتذويب عينة التجربة، يدور الوعاء ببطء لتمييه المسحوق، ثم يرج الوعاء 25 مرة على سبيل المثال، على ارتفاع حوالي 300 ملم لمدة تقارب 7 ثوان. يمكن استعمال خلاط ذي حركة لولبية (1.5) عوض الخلط اليدوي.

يترك ليرتاح لمدة خمس (5) دقائق ويرج أحيانا. يمكن أن يسخن المخفف مسبقا في 45°C إذا لم يتمكن من الحصول على محلول معلق متجانس ولو حتى بعد السحق.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

ملاحظة - لإعادة تشكيل أفضل وبالأخص مع مسحوق الحليب هاتماكر (Hatmaker) من المناسب استعمال كريات زجاجية (3.5). في هذه الحالة، من الأحسن وضعها داخل قارورة قبل التعقيم.

3.8 الجبن والجبن الطري :

توزن 10 غ من عينة التجربة في كوب صغير وتنقل إلى وعاء الخلاط الدوراني أو خلاط ذي حركة لولبية (1.5) أو توزن 10 غ من عينة التجربة مباشرة داخل الوعاء.

يضاف 90 ملل من المخفف للاستعمال العام (2.4) أو مخفف للجبن، أي : 90 ملل من محلول سترات الصوديوم (1.3.4) أو محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.4) عند عامل هيدروجيني (PH)، يساوي $7,5 \pm 0,2$.

يمزج بطريقة تسمح بتوزيع كامل للجبن .

تترك الرغوة لتتشتت.

يمكن أن يسخن المخفف مسبقا في 45°C إذا لم يُتمكّن من الحصول على محلول معلق متجانس ولو حتى بعد السحق.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

4.7 أفذية ذات نسبة عالية من المواد الدسمة (أكثر من 20 % من المادة الدسمة على الكتلة الإجمالية (كسر كتلي)) :

إن استعمال المخفف المضاف إليه 1 غ/ل إلى 10 غ/ل من أحادي أوليات السوربيتول (متعدد السوربات 80) : على سبيل المثال توين 80 (TWEEN 80) والذي يتطابق بالتقريب مع نسبة المادة الدسمة (على سبيل المثال إضافة 4 غ/ل لنسبة من المواد الدسمة بـ 40%) يمكن أن يحسن الاستحلاب أثناء وضعها كمحلول معلق.

8. طرق العمل الخاصة :

1.8 الحليب ومشتقاته السائلة :

تمزج عينة التجربة بعناية لضمان توزيع متجانس قدر الإمكان للأجسام الدقيقة بتدوير الوعاء الذي يحتوي على العينة 25 مرة. يجب تجنب تشكل الرغوة وترك هذه الأخيرة تتبعثر في حالة تشكلها. يجب ألا تتعدى المدة الزمنية بين المزج واقتطاع العينة ثلاث (3) دقائق.

تقتطع 1 ملل، على الأقل، من عينة التجربة بواسطة ماصة معقمة وتضاف كمية من المخفف ذي الاستعمال العام (2.4) تساوي 9 مرات كمية العينة المقتطعة، يرج التخفيف الأول للحصول على التخفيف 10^{-1} على سبيل المثال 25 مرة بحركة يدوية بتقريب 300 ملم لمدة 7 ثوان أو يستعمل الخلاط VORTEX (2.5) لمدة خمس (5) ثوان إلى عشر (10) ثوان].

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

2.8 الحليب الجاف و مسحوق مصال الحليب الحلو و مسحوق مصال الحليب الحامض و مسحوق مخيض الحليب واللاكتوز :

يمزج محتوى الوعاء المغلق بعناية بتحريكه وتدويره بصفة متكررة.

إذا كانت عينة التجربة داخل وعائها الأصلي غير مفتوح وممتلئ جدا بحيث لا يسمح بالخلط الكامل، ينقل إلى وعاء آخر أكبر معقم ثم يخلط. تقتطع عينة التجربة اللازمة بواسطة ملعقة وتجري العملية كما هو مبين أدناه. يغلق الوعاء مباشرة .

توزن 10 غ من عينة التجربة في وعاء زجاجي معقم (على سبيل المثال بيشر) ويسكب المسحوق بعد ذلك في قارورة تحتوي على مخفف للاستعمال العام

ترك القارورة فوق جهاز الخلط لمدة 15 دقيقة ثم توضع داخل حمام مائي (4.5) مضبوط في درجة حرارة 37 °م لمدة 15 دقيقة مع الرج من حين إلى آخر.

تحضّر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

5.8 الزبدة :

إذا كان من الضروري استبعاد سطح عينة الزبدة من التحليل ، فمن الأحسن استعمال ملعقة ذات شفرة عريضة لنزع الطبقة العليا للمنتوج في منطقة الاقتطاع على سمك 5 ملم، على الأقل.

توزن 10 غ من عينة التجربة في وعاء للعينة . يوضع الوعاء في حمام مائي (4.5) مضبوط في 45 °م. يترك في الحمام المائي حتى تذوب عينة التجربة . يضاف 90 ملل من المخفف للاستعمال العام (2.4) موضوع في 45 °م ويمزج .

يسهل تطبيق هذه العملية في خلاط ذي حركة لولبية (1.5) أو يستعمل فقط الطور المائي للتخفيف كما يأتي :

تقتطع 50 غ من عينة التجربة تحتوي على حجم/ كتلة للماء w % . تضاف كمية من المخفف للاستعمال العام (2.4) المسخن مسبقا في حمام مائي (4.5) في 45 °م تقدر بـ $(-50) - [100 / w \times 59]$ ملل.

في هذه الشروط، 1 ملل من الطور المائي يوافق 1 غ من الزبدة.

مثال : لـ 50 غ من الزبدة تحتوي على كتلة حجمية للماء بحوالي 16 % يمثل الطور المائي 8 ملل من السائل. تضاف $(-50) - [100 / 16 \times 50]$ = 42 ملل من المخفف للاستعمال العام (2.4) مسخن مسبقا في حمام مائي (4.5) في 45 °م .

يوضع الوعاء في حمام مائي (4.5) مضبوط في 45 °م حتى ذوبان الزبدة. يخرج من الحمام المائي، يرج جيدا، وتترك الأطوار لمدة أقصاها 15 دقيقة لتنفصل عن بعضها البعض. إذا اقتضى الأمر، ينزع طور المادة الدسمة بواسطة ملعقة أو قضيب زجاجي (5.5).

إذا اقتضى الأمر ومن أجل فصل الأطوار، تنقل عينة التجربة الذائبة في أنبوب للطررد المركزي معقم (أو تذوّب عينة التجربة مباشرة في الأنبوب) وتخضع لعملية الطرد المركزي بسرعة دوران تسمح بانفصال الأطوار. يمكن أن يكون ضروريا نزع الطور الدسم (العلوي) بطريقة معقّمة بواسطة أنبوب معقم مرتبط بمضخة هوائية. يمتص بواسطة ماصة انطلاقا من الطبقة السفلى.

تحضّر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

4.8 كازيين حامضي وكازيين لبنني وروبة الكازيين وكازيينات :

1.4.8 حالة عامة :

يمزج محتوى الوعاء المغلق بعناية بالرج وبالتدوير بطريقة مكررة.

توزن 10 غ من عينة التجربة في كيس بلاستيكي معقم للخلاط ذي حركة لولبية (1.5) . تضاف 90 ملل من المخفف الملائم في درجة حرارة المحيط ، كما يأتي:

أ) بالنسبة للكازيين الحامضي واللبنني، تخفف بمحلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم ومع عامل مضاد للـرغوة (3.3.4) عند عامل هيدروجيني $8,4 \pm 0,2$ ،

ب) بالنسبة للكازيينات، تخفف بمحلول سترات (1.3.4) أو محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.4) عند عامل هيدروجيني يساوي $7,5 \pm 0,2$ أو بمحلول بيبتون - ملح (1.2.4)،

ج) بالنسبة لروبة الكازيين، تخفف بمحلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم مع عامل مضاد للـرغوة (3.3.4) عند عامل هيدروجيني $7,5 \pm 0,2$.

يمزج يدويا جيدا ويترك ليرتاح في درجة حرارة المحيط لمدة 15 دقيقة. يمزج إذا اقتضى الأمر لمدة دقيقتين في الخلاط ذي حركة لولبية (1.5) باستعمال كيسين معقمين للمنتوجات التي تكون على شكل حبيبات ، يترك ليرتاح لمدة خمس (5) دقائق.

تحضّر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

2.4.8 حالة خاصة لروبة الكازيين :

يمكن أن يكون استعمال محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم مع عامل مضاد للـرغوة (3.3.4) كمخفف لروبة الكازيين غير فعال لتذويب حبيبات الكازيين.

تعرقل هذه الحبيبات إحصاء الأجسام الدقيقة في 30 °م وعليه، ينصح باستعمال التقنية الآتية :

تحول، إذا اقتضى الأمر، الكازيين الجافة إلى مسحوق قبل اقتطاع عينة التجربة . تنقل بتقريب 20 غ من عينة التجربة في وعاء ملائم يسحق باستعمال جهاز يحتوي على سكاكين قادرة على الدوران بتقريب 20.000 دورة /ثانية، مزود بنظام يمنع سخونة العينة أثناء السحق.

توزن 5 غ من عينة التجربة المحضّرة مسبقا في قارورة معقّمة سعتها 250 ملل . تضاف كريات زجاجية (3.5) للمزج و 95 ملل من محلول ثلاثي متعدد فوسفات الصوديوم (4.3.4) المسخن مسبقا في 37 °م. يمزج مع

الاستعمال العام (2.4) أو مخفف للاحتياجات الخاصة (5.3.4) بالنسبة للعينات التي لها نسبة عالية من النشاء.

أو توزن 10 غ من عينة التجربة مباشرة داخل قارورة مع المخفف اللازم.

يمكن أن يسخن المخفف مسبقا في 45 °م إذا كان من غير الممكن الحصول على محلول معلق متجانس ولو حتى بعد السحق.

لإعادة تشكيل أفضل، يستحسن استعمال كريات زجاجية (3.5). في هذه الحالة، تضاف داخل القارورة قبل التعقيم.

لتذويب العينة، تدور القارورة ببطء لإمالة المسحوق ثم ترج يدويا، على سبيل المثال 25 مرة، على ارتفاع حوالي 300 ملم، لمدة حوالي 7 ثوان. أو يمكن استعمال خلاط ذي حركة لولبية (1.5). تتحرك لترتاح لمدة خمس (5) دقائق، مع الرج أحيانا.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

يمكن أن تحدث المنتوجات التي تحتوي على نسبة عالية من النشاء مشاكل بسبب اللزوجة العالية للتخفيف الأول.

يستعمل المخفف ذو الاستعمال العام (2.4) مع محلول α -أميلاز (5.3.4) لتخفيض لزوجة المحلول الأم أو استعمال كمية المخفف مرتين. يؤخذ هذا التخفيف الإضافي بعين الاعتبار أثناء التحاليل اللاحقة.

9. التخفيفات العشرية :

من الملائم اتباع التوصيات الواردة في المنهج المتعلق بتحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي المحدد عن طريق التنظيم الساري المفعول.

أثناء تحضير المحلول الأم للزج المحضر انطلاقا من الكازيين الحامض أو روبة الكازيين (4.8)، تشطف الماصة بالمخفف بعدة امتصاصات باللجوء إلى المخفف المستعمل لتحقيق التخفيف العشري.

عندما تقتطع 10 ملل زائد 90 ملل أو 11 ملل زائد 99 ملل، يرج يدويا كما هو مبين في (1.8).

ملاحظة : إذا أنجزت الخطوة المذكورة- سابقا بدون شطف الماصة أثناء نقل التخفيف الأول للزج، يكون حجم المحلول الأم المنقول غير صحيح.

6.8 الكريمة المثلبة :

توزن 10 غ من عينة التجربة في قارورة أو داخل كيس بلاستيكي معقم لخلاط ذي حركة لولبية (1.5) تضاف 90 ملل من المخفف في درجة حرارة المحيط وتمزج. يذوب المنتج أثناء المزج.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

7.8 الكريمة الإنجليزية والتعليقات والكريمة الحلوة (pH>5) :

توزن 10 غ من عينة التجربة داخل أنبوب يحتوي على كريات زجاجية (3.5) تضاف 90 ملل من المخفف للاستعمال العام (2.4) في درجة حرارة المحيط وترج حتى تتبعثر.

أو يمكن استعمال خلاط ذي حركة لولبية (1.5) مع اتباع توصيات المصنع. في هذه الحالة، من الأحسن ألا يحتوي الكيس على كريات زجاجية.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

8.8 الحليب المخمر و الكريمة الحامضة (pH<5) :

توزن 10 غ من عينة التجربة داخل قارورة تحتوي على كريات زجاجية (3.5). يضاف 90 ملل من الماء البيبتوني المثبت (5.2.4) كمخفف أو محلول هيدروجينوفوسفات ثنائي البوتاسيوم (2.3.4) عند عامل هيدروجيني (PH)، يساوي $7,5 \pm 0,2$ في درجة حرارة المحيط ويرج يدويا.

أو يمكن استعمال خلاط ذي حركة لولبية (1.5) مع اتباع توصيات المصنع. في هذه الحالة من الأحسن ألا يحتوي الكيس على كرات زجاجية.

تحضر التخفيفات التي تلي طبقا للنقطة (9).

9.8 منتوجات مكونة أساسا من حليب الأطفال :

يمزج محتوى الوعاء المغلق بعناية بالرج وبالتدوير بطريقة متكررة. إذا كانت عينة التجربة داخل وعائها الأصلي غير مفتوح وممتلئ جدا لا يسمح بخلط كامل، تنقل إلى وعاء آخر أكبر معقم، ثم تخلط.

تقتطع عينة التجربة اللازمة بواسطة ملعقة (5.5). وتجرى العملية كما هو مبين أدناه. يغلق الوعاء مباشرة.

توزن 10 غ من عينة التجربة في وعاء زجاجي معقم ملائم (على سبيل المثال بيشر)، ثم يضاف المسحوق داخل قارورة التخفيف تحتوي على المخفف ذي