قرار مؤرخ في 26 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 23 فبراير سنة 2017، يجعل منهج إحصاء الوحدات المشكلة لمستعمرة الخمائر و/ أو العفنيات في الحليب ومنتجات الحليب عن طريق تقنية حساب المستعمرات في 25° م، إجباريا.

إنّ وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدل،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 17–25 المؤرخ في 19 ربيع الثاني عام 1438 الموافق 18 يناير سنة 2017 والمتضمن تكليف وزير السكن والعمران والمدينة بمهام وزير التجارة بالنيابة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق برقابة الجودة وقمع الغش، المعدل والمتمم، لاسيما المادة 19 منه،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02–453 المؤرخ في17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي 13–328 المؤرخ في20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– 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 والمحلول 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 إحصاء الوحدات المشكلة لمستعمرة الخمائر و/ أو العفنيات في الحليب ومنتجات الحليب عن طريق تقنية حساب المستعمرات في 25° م، إجباريا.

المادة 2 : من أجل إحصاء الوحدات المشكلة لمستعمرة (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات في الحليب ومنتجات الحليب عن طريق تقنية حساب المستعمرات في 25° م، تلزم مخابر قمع الغش و المخابر المعتمدة لهذا الغرض، باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

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 بالجزائرفي 26 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 23 فبراير سنة 2017.

عبد المجيد تبون

الملحق

منهج إحصاء الوحدات المشكلة لمستعمرة (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات في الحليب ومنتجات الحليب عن طريق تقنية حساب المستعمرات في 25 °م.

1. الهدف ومجال التطبيق :

يحدد هذا المنهج تقنية إحصاء الوحدات المشكلة لمستعمرة (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات في الحليب ومنتجات الحليب عن طريق تقنية حساب المستعمرات في 25° م.

يطبق هذا المنهج على المنتجات الآتية :

– الحليب ومنتجات الحليب السائلة،

– الحليب الجاف ومسحوق مصل الحليب غير الحامض ومسحوق مستخرج الزبدة واللاكتوز،

– الأجبان والزبدة والكازيين الحامض والكازيين اللبنيوالكازيين – الروبة والكازينات ومسحوق مصل الحليب حامض،

–منتجات الحليب المجمدة (بما فيها المثلجات المعدة للاستهلاك)،

– فلان ومحلّيات وحليب مخمر والكريمة.

ملاحظة 1 :

لا يطبق هذا المنهج على تحديد عدد كبير من الخمائر العطوبة بالحرارة (في الجبن الطازج). في هذه الحالة، من الأفضل استعمال تقنية الزرع على السطح.

2. مصطلحات وتعاريف :

يستعمل لتطبيق هذا المنهج التعريف الآتي :

– خمائر وعفنيات : أجسام دقيقة تشكل مستعمرات في وسط انتقائي في 25 °م حسب طريقة العمل المحدد في هذا المنهج.

3. المبدأ :

1.3 يزرع في عمق وسط الزرع الانتقائي المحدد، المصب في علب بيتري :

– كمية مخصصة من عيّنة التجربة، عندما يكون المنتوج المراد فحصه سائلا،

– كمية محددة من المحلول الأم في حالة منتجات أخرى.

تحضير علب أخرى في نفس الشروط، باستعمال تخفيفات عشرية لعينة التجربة أو المحلول الأم.

2.3 تحضين العلب في وسط هوائي في 25 °م لمدة خمسة (5) أيام.

3.3 يحسب عدد الوحدات المشكلة لمستعمرة (و.م.م) الخمائر و / أو العفنيات بالغرام أي بالميلمتر لعيّنة التجربة بالاعتماد على عدد من المستعمرات المتحصل عليها في علب مختارة من درجات التخفيف التي تسمح بالحصول على نتيجة ممثلة.

4. المخففات :

يجب أن تحضر المخففات طبقا لمناهج التحاليل المحددة في التنظيم المعمول به والمتعلق بتحضير العيّنات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية من أجل الفحص الميكروبيولوجي .

5. أوساط الزرع :

1.5 وسط بمستخلص الخميرة وديكستروز وأكسي تيترا سيكلين وأغار– أغار:

1.1.5 الوسط الأساسي :

1.1.1.5 التركيب :

مسحوق مستخلص الخميرة 5غ
غلوكوز ($C_6H_{12}O_6$).....20غ
أغار-أغار .....10غ إلى 15غ[1]
ماء .....900 ملل
(1) حسب قدرة تهلّم الأغار- أغار.

2.1.1.5 التحضير :

تذّوب، إذا اقتضى الأمر، مركبات الوسط الأساسي أو الوسط المجفف مع التسخين.

يعدّل، إذا اقتضى الأمر، العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يساوي 6,6 في 25 °م بعد التعقيم.

يعقم بجهاز التعقيم (1.6) في درجة حرارة 121°م ± 1° م لمدة 15 دقيقة.

2.1.5 محلول كلورهيدرات أوكسي تيترا سيكلين:

1.2.1.5 التركيب :

محلول كلورهيدرات أوكسي تيترا سيكلين :
($C_{22}H_{30}O_{11}$,HCl).....50غ
ماء.....50 ملل

2.2.1.5 التحضير :

يذوّب كلورهيدرات أوكسي تيترا سيكلين في الماء. يجب أن يحضّر المحلول مباشرة قبل الاستعمال. يعقم هذا المحلول عن طريق الترشيح.

3.1.5 وسط كامل :

1.3.1.5 التركيب :

محلول كلورهيدرات أوكسي تيترا سيكلين.....10 ملل
وسط أساسي.....90 ملل

2.3.1.5 التحضير :

يبرد الوسط الأساسي المعقم (1.1.5) في 45° م. يضبط محلول كلورهيدرات أوكسي تيترا سيكلين (2.1.5) في درجة حرارة 45° م. مباشرة قبل الاستعمال.يضاف 10 ملل من هذا المحلول إلى 90 ملل من المحلول الأساسي بطريقة معقمة.

2.5 وسط بمستخلص الخميرة، غلوكوز، كلورومفينيكول والآغار – أغار :

1.2.5 التركيب :

مستخلص الخميرة.....5غ
غلوكوز ($C_6H_{12}O_6$).....20 غ
كلورومفينيكول ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$).....0,1غ[1]
أغار-أغار .....12غ إلى15غ[2]
ماء.....1000 ملل
1: قصدالحصول على تركيز نهائي 100ميكروغرام/ ملل من الوسط .
2 : حسب القدرة تهلّم الأغار-أغار.

2.2.5 التحضير :

تذّوب، إذا اقتضى الأمر، المركبات في الماء مع التسخين.

يعّدل، إذا اقتضى الأمر، العامل الهيدوجيني (pH) بحيث يساوي 6,6 في 25°م بعد التعقيم.

يوزع الوسط الهلامي في حوجلات أو قارورات (8.6) ذات سعة مناسبة .

تعقم بجهاز التعقيم (1.6) في درجة حرارة 121° م ± 1° م لمدة 15 دقيقة.

يمكن أيضا استعمال تحضيرات متوفرة في السوق، جاهزة للاستخدام. يجب اتباع تعليمات المصنّع بدقة.

6. الأجهزة والأدوات الزجاجية :

الأجهزة المتداولة في المخبر الميكروبيولوجي وتلك اللازمة لتحضير العيّنات للتجربة والتخفيفات لا سيما ما يأتي :

1.6 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (الفرن) أو بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم).

2.6 جهاز التحضين مضبوط في درجة حرارة 25° م ± 1° م.

3.6 علب بيتري قطرها يتراوح من 90 مم إلى 100 مم.

4.6 ماصات مدرجة مسدودة بقطن، معيّرة لتوزيع 1 ملل ± 0,02 ملل أو 10 ملل ± 0,2 ملل أو 11 ملل ± 0,2 ملل.

5.6 حمام مائي مضبوط في درجة حرارة 45° م ± 1° م.

6.6 جهاز لحساب المستعمرات يحتوي على نظام للإضاءة ذي قعر أسود مجهز بعدسة بتكبير X1,5، وعدد رقمي أو ميكانيكي أو إلكتروني.

7.6 جهاز لقياس العامل الهيدروجيني (pH) في درجة حرارة معدلة ودقة القياس ± 0,1 وحدة العامل الهيدروجيني (pH) في 25° م.

8.6 حوجلات أو قارورات الزرع مزودة بغطاء ذي برغي.

ملاحظة 2 :

يقبل استخدام الأدوات ذات الاستعمال الوحيد وكذا الأدوات الزجاجية معادة الاستعمال بشرط أن تكون لها الخصائص المناسبة.

7. اقتطاع العيّنات :

يجب أن تكون العيّنة الموجهة للمخبر ممثّلة وغير متلفة أو تغيرت خلال النقل أو التخزين.

يجب إجراء اقتطاع العيّنات وفقا للمناهج المحددة في التنظيم الساري المفعول، أو، إذا اقتضى الأمر، وفقا للمواصفات المعترف بها.

ملاحظة 3 :

في حالة الأجبان الناضجة التي لها قشرة من خمائر أو عفنيات، ويستحسن إزالتها من عيّنة التحليل. في هذه الحالة الخاصة، يمكن نزع القشرة بواسطة مشرط أو سكين معقم قبل إجراء عمليات الاقتطاع.

8. طريقة العمل :

1.8 عموميات :

العوامل المؤثرة على الثقة هي كالآتي :

- نوع الأجهزة للمجانسة،
- زمن المجانسة،
- المخفف،
- زمن ترسب العناصر الكبيرة،
- زمن الرج أثناء تحضير التخفيفات العشرية.

ملاحظة 4 :

تؤخذ الاحتياطات العادية لعملية التعقيم. يجب ألاّ تجرى العمليات المذكورة في (1.8) و(2.8) مباشرة في ضوء الشمس.

2.8 تحضير عيّنة التجربة والمحلول الأم والتخفيفات العشرية :

يجري تحضير عيّنة التجربة والمحلول الأم والتخفيفات العشرية طبقا لمناهج التحاليل المحددة في التنظيم الساري المفعول .

بالنسبة لمدة العمليات المتعلقة بتحضير العيّنات، يرجع إلى الفقرة (3.6) من منهج التحليل محددة في القرار المؤرخ في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014 الذي يجعل منهج تحضير العيّنات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي، إجباريا.

3.8 الزرع والتحضين :

1.3.8 تؤخذ علبتا بيتري معقمتين (3.6) ينقل 1 ملل بواسطة ماصة معقمة (4.6) من عينة التجربة إلى كل علبة إذا كان المنتوج سائلا، أو 1 ملل من المحلول الأم في حالة المنتجات الأخرى.

2.3.8 تؤخذ علبتا بيتري أخريان معقمتين. ينقل بواسطة ماصة جديدة معقمة 1 ملل من التخفيف 10^{-1} في كل علبة في حالة المنتوج السائل، أو 1 ملل من التخفيف 10^{-2} بالنسبة للمنتجات الأخرى.

3.3.8 تعاد، إذا اقتضى الأمر، هذه العملية مع التخفيفات العشرية التي تتبع.

4.3.8 يصبّ في كل علبة بيتري حوالي 15 ملل من الهلام بالكلورهيدرات أوكسي تيتراسيكلين (chlorhydrate d'oxytètracycline) (1.5) أو هلام بالكلورامفينيكول (chloramphénicol) (2.5) في 45° م، مذوّب مسبقا ومثبت في حمام مائي (5.6).

5.3.8 يخلط بعناية الاينوكيلوم (Inoculum) بوسط الزرع ويترك ليتجمد مع وضع علب بيتري على مساحة باردة وأفقية.

6.3.8 يجب ألاّ تتجاوز المدة بين تحضير التخفيف الأول وخليط الإينوكيلوم (Inoculum) بوسط الزرع، 15 دقيقة.

7.3.8 يحضّر عدد كاف من العلب الشاهدة للتحقق من عملية التعقيم.

8.3.8 بعد قلب علب بيتري المحضّرة مسبقا (5.3.8)، توضع في جهاز التحضين (2.6) مضبوط في 25° م لمدة 5 أيام.

ينصح باتخاذ كل الاحتياطات اللازمة لتجنب خطر اجتياح الخمائر والعفنيات، مثل :

– وضع الغطاء على كل علبة زرع بعد التجمّد،

– أو إضافة قطرة من الغليسرول على ورق – غشاء في غطاء العلبة.

9.3.8 لا ترصّ أكثر من ست علب فوق بعضها البعض، كما يجب ألاّ تلامس جدران جهاز التحضين والقسم العلوي منه.

4.8 التفسير :

1.4.8 تحسب المستعمرات في كل علبة باستثناء المستعمرات البكتيرية المحتمل نموها. يميّز، إذا اقتضى الأمر، بين مستعمرات الخمائر ومستعمرات العفنيات بالاعتماد على الخصائص المرفولوجية (5.8).

2.4.8 لا يحتفظ إلاّ بالعلب التي تحتوي من 10 إلى 150 مستعمرة كحد أقصى. إذا اجتاحت العفنيات أقسام من العلب أو، إذا صعب حساب المستعمرات الأكثر عزلة، تحسب المستعمرات في العلب ذات التخفيف الموالي الأكثر ارتفاعا حتى ولو كان عدد المستعمرات أصغر من 10. في هذه الحالة الأخيرة، تجرى العملية كما هو مبين في (2.9).

5.8 التأكد :

يجب البحث عن هوية المستعمرات التي لها حجم على شكل دبوس أو مشكوك فيها عن طريق الفحص المجهري.

التأكد من العدد **n** للمستعمرات حيث يمثل العدد **n** المستعمرات التي تم إحصاؤها عن طريق الفحص المجهري.

9. التعبير عن النتائج :

1.9 تؤخذ بعين الاعتبار الإحصاءات انطلاقا من العلب التي تحتوي على 10 إلى 150 مستعمرة على الأقصى .

يحسب العدد **N** من وحدات مشكلة لمستعمرة (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات بالغرام أوبالميليلتر من المنتوج بواسطة المعادلة الآتية :

$$N = \frac{\sum C}{V\left(n_1 + 0{,}1n_2\right) d}$$

حيث :

$\sum C$: هو مجموع المستعمرات التي تم إحصاؤها في العلب المحتفظ بها.

V : هو حجم الإينوكيلوم بالميليلتر.

n_1 : هو عدد العلب المحتفظ بها، حيث تكون المستعمرات فيها بين 10 و150 عند التخفيف الأول.

n_2 : هو عدد العلب المحتفظ بها حيث يكون عدد المستعمرات فيها بين 10 و150 عند التخفيف الثاني.

d : عامل التخفيف الموافق للتخفيف الأول.

إذا كان هناك أكثر من تخفيفين محتفظ بهما يعطيان نتيجة بين 10 و150 مستعمرة، يمكن تغيير المعادلة مع الأخذ بعين الاعتبار التخفيف الموالي. بالنسبة لثلاثة تخفيفات، تكون المعادلة كالآتي :

$$N = \frac{\sum C}{V\left(n_1 + 0{,}1n_2 + 0{,}01n_3\right) d}$$

حيث :

n_3 : هوعدد العلب المحتفظ بها، حيث يكون عدد المستعمرات فيها بين 10 و150 عند التخفيف الثالث.

تقرب النتيجة المتحصل عليها برقمين ممثلين. عندما يكون العدد المراد تقريبه هو العدد 5 دون أرقام ممثلة أخرى، تقرب النتيجة، بحيث يكون الرقم الموضوع مباشرة من اليسار زوجيا. مثلا العدد 28500 يقرب إلى العدد 28000 والعدد 11500 يقرب إلى 12000.

يؤخذ كنتيجة عدد (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات بالميليلتر أو بالغرام من المنتوج، ويعبر عنها بعدد يتراوح بين 1 و9,9 مضروب في 10^x، حيث x هي القوة المناسبة للعدد 10.

مثال : أعطى إحصاء وحدات مشكلة لمستعمرات (و.م.م) الخمائر و/ أو العفنيات (تم تحضين علبتي بيتري لكل تخفيف)، النتائج الآتية :

– عند التخفيف الأول المحتفظ به (10^{-2})، 83 و97 مستعمرة،

– عند التخفيف الثاني المحتفظ به (10^{-3})، 33 و28 مستعمرة،

$$N = \frac{\sum C}{V(n_1 + 0{,}1n_2)\, d}$$

$$= \frac{83+97+33+28}{1[2 + (0{,}1 \times 2)]10^{-2}} = \frac{241}{0{,}022} = 10954$$

تقرّب النتيجة كما هو محدد في (1.9)، بحيث نتحصل على 11000 أو $1{,}1 \times 10^4$ وحدة مشكلة لمستعمرات الخمائر والعفنيات بالغرام أو بالميليلتر من المنتوج.

2.9 إذا كانت علبتا بيتري الموافقتان لعيّنة التجربة (منتجات سائلة) أو للمحلول الأم (منتجات أخرى) تحتويان على أقل من 10 مستعمرات، يعبّر عن النتائج كما يأتي :

– أقل من 10 (و.م.م) الخمائر أو العفنيات بالميليلتر (منتجات سائلة)،

– أقل من $1/d \times 10$ (و.م.م) و/أو الخمائر والعفنيات بالغرام (منتجات أخرى)، حيث d هو عامل التخفيف الموافق للتخفيف الأول.

3.9 إذا لم توجد إلاّ الإحصاءات الأكبر من 150، يحسب عدد تقديري انطلاقا من العلب التي يكون فيها عدد المستعمرات قريبا من 150 ويضرب بعكس القيمة الموافقة للتخفيف الأكثر ارتفاعا، يعبّر عن هذه النتيجة " بعدد تقديري من (و.م.م) الخمائر و / أو العفنيات بالغرام أو بالميليلتر من المنتوج ".

10. التكرارية :

يجب ألاّ يتجاوز الفرق المطلق بين نتيجتي التجربة فرديتين مستقلتين متحصل عليهما عن طريق نفس المنهج، على نفس المادة الخاضعة للتجربة، في نفس المخبر، من طرف نفس المحلل مع استعمال نفس الأجهزة وفي مجال زمني قصير، 30% من النتيجة الأدنى في أكثر من 5% من الحالات.