قرار مؤرخ في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014، يجعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

إن وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 14–154 المؤرّخ في 5 رجب عام 1435 الموافق 5مايو سنة 2014 والمتضمّن تعيين 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 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 والمتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية 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، المعدّل والمتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا.

المادة 2 : من أجل تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي، فإن مخابر مراقبة الجودة وقمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض، ملزمة باستعمال المنهج المبين في الملحق 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 بالجزائر في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014.

عمارة بن يونس

الملحق

منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي

يحدد هذا المنهج القواعد العامة لتحضير المحلول الأم والتخفيفات العشرية المنجزة في وسط هوائي قصد الفحوصات الميكروبيولوجية للمواد الموجهة للاستهلاك البشري أو التغذية الحيوانية.

1. مصطلحات وتعاريف :

من أجل متطلبات هذا المنهج تطبق المصطلحات والتعاريف الآتية :

1 . 1 المحلول الأم (التخفيف الأول)

معلق أو محلول أو مستحلب متحصل عليه بعد وزن أو قياس المادة المراد تحليلها (أو من عينة التجربة المحضرة من هذه المادة) ممزوجة مع كمية تساوي 9 مرات كمية المخفف مع ترك الجزيئات الكبيرة تترسب إذا وجدت. (3 والملاحظات 1 و2 في 1.6)

2 . 1 التخفيفات العشرية التي تلي :

معلقات أو محاليل متحصل عليها بخلط حجم موزون من المحلول الأم (1.1) مع كمية تساوي 9 مرات كمية المخفف مع إعادة هذه العملية على التخفيفات العشرية التي تلي حتى الحصول على مجموعة من التخفيفات العشرية المناسبة لتطعيم أوساط الزرع.

2 . المبدأ

تحضير المحلول الأم (1.1) بحيث نحصل قدر الإمكان، على توزيع موحد للأحياء الدقيقة الموجودة في عينة التجربة.

تحضير تخفيفات عشرية (2.1)، إذا اقتضى الأمر، لتقليص عدد الأحياء الدقيقة بوحدة الحجم من أجل السماح بملاحظة نموها المحتمل بعد التحضين (حالة الأنابيب) أو لإجراء إحصاء مستعمرات (حالة العلب)، كما هو محدد في كل منهج خاص.

ملاحظة : للتقليص من مجال الإحصاء إلى حد معين أو إذا كان عدد الأحياء الدقيقة المرتقبة كبيرا جدا، يمكن زرع التخفيفات العشرية الضرورية فقط (تخفيفين متتاليين على الأقل).

3 . المخففات

1 . 3 التركيبات الأساسية :

لتحسين تكرارية النتائج، ينصح لتحضير المخفف باستعمال مركبات أساسية مجففة أو تحضير كامل مجفف. يجب اتباع تعليمات المصنّع بدقة.

يجب أن تكون المواد الكيميائية ذات نوعية تحليلية معروفة ومناسبة للتحليل الميكروبيولوجي.

يجب أن يكون الماء المستعمل، ماءا مقطرا أو ذا نوعية مكافئة.

2 . 3 مخففات لاستعمالات عامة

1 . 2 . 3 محلول بيبتون – ملح

1 . 1 . 2 . 3 التركيب

مستحضر هضم إنزيمي للكازيين.....1غ

كلورور الصوديوم (NaCl).....8,5غ

الماء.....1000ملل

2 . 1 . 2 . 3 التحضير :

تذوب المركبات في الماء مع التسخين إذا كان ضروريا.

يعدل الـ pH إذا كان ضروريا، بحيث يصبح بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25° م.

2 . 2 . 3 ماء بيبتوني ذو pH مثبت

1 . 2 . 2 . 3 التركيب :

مستحضر هضم إنزيمي لأنسجة حيوانية.....10غ

كلورور الصوديوم (NaCl).....5غ

هيدروجينو – فوسفات ثنائي الصوديوم إثنا عشرة هيدراتي ($Na_2HPO_4, 12H_2O$).....9غ

ثنائي هيدروجينو – فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4).....1,5غ

الماء.....1000ملل

2 . 2 . 2 . 3 التحضير :

تذوب المركبات في الماء مع التسخين إذا كان ضروريا.

يعدل الـ pH إذا كان ضروريا، بحيث يصبح بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25° م.

3 . 3 توزيع وتعقيم المخفف

يوزع المخفف (2.3) بالأحجام اللازمة لتحضير المعلقات الأم في حوجلات (4.4) ذات سعة مناسبة.

يوزع المخفف (2.3) بالأحجام اللازمة لتحضير تخفيفات عشرية في أنابيب اختبار (5.4) أو حوجلات (4.4) بحيث يحتوي كل أنبوب أو حوجلة على 9 ملل بعد

التعقيم. يجب ألا يتجاوز ارتياب القياس لهذا الحجم النهائي، بعد التعقيم ± 2%.

ملاحظة : إذا كان مقرر حساب عدة مجموعات من الأحياء الدقيقة بواسطة أوساط زرع مختلفة، يمكن أن يصبح ضروريا توزيع كل المخففات (أو البعض منها فقط) بكميات أكبر من 9 ملل فيجب إذا الأخذ بعين الاعتبار أبعاد الحوجلات (4.4) وأنابيب الاختبار (5.4).

تسد الأنابيب أو الحوجلات.

تعقم بجهاز التعقيم في 121° م لمدة 15 دقيقة.

4 . التجهيزات و الأدوات الزجاجية

الأدوات المستعملة في مخبر الميكروبيولوجيا ولا سيما ما يأتي :

4 . 1 أجهزة للتعقيم بحرارة جافة (فرن) وبحرارة رطبة (جهاز التعقيم).

4 . 2 أجهزة للمجانسة.

4 . 3 رجاج ميكانيكي

4 . 4 حوجلات، ذات سعات مناسبة.

4 . 5 أنابيب اختبار، ذات سعة مناسبة.

4 . 6 ماصات مدرجة ذات سيلان كامل، ذات سعة اسمية 1 ملل و10 ملل مدرجة على التوالي في 0,1 ملل و0,5 ملل.

4 . 7 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH)، له تدقيق بقراءة ± 0,1 وحدة pH في 25° م ويسمح بإجراء قياسات دقيقة في ± 0,1 وحدة pH.

4 . 8 ميزان، له القدرة على الوزن بتقريب 0,01غ.

5 . اقتطاع العينات

تجرى عملية اقتطاع العينات في شروط مناسبة.

6 . طريقة العمل

6 . 1 عينة التجربة و المحلول الأم (التخفيف الأول)

يوزن في قدح أو كيس بلاستيكي معقمين بارتياب قياسي ± 5%، كتلة ك (غ) أو يقاس بارتياب قياسي ± 5% حجم ح (ملل) (10 غ أو 10 ملل على الأقل إلا في حالة وجود تحديدات مخالفة) يمثلان عينة التجربة.

تضاف كمية من المخفف تساوي 9 x ك (غ) أو 9 x ح (ملل). من الأفضل قياس هذه الكمية بالكتلة وبارتياب قياسي يقدر بـ ± 5% أو بالحجم وبارتياب قياسي يقدر بـ ± 5%.

ملاحظة 1 :

في بعض الحالات يمكن أن يكون ضروريا إضافة المخفف بكثرة، خاصة بالنسبة للمواد التي تعطي محلول الأم 1 + 9 لزج جدا أو سميك، يجب إذا أخذه بعين الاعتبار في العمليات الموالية و / أو في التعبير عن النتائج.

ملاحظة 2 :

يشترط هذا التخفيف الأول جزئيا قيمة الحد الأدنى للإحصاء الذي يتعلق كذلك بالتقنية المستعملة (على سبيل المثال، الزرع في الكتلة بالاينوكيلوم ذو 1ملل في محلول 1 / 10 حيث يقدر هذا الحد بـ 10 أحياء دقيقة بالغرام).

إذا كان ضروريا التنزيل تحت هذا الحد بالنسبة لبعض الإحصاءات في بعض المواد، يمكن استعمال حجم أصغر من المخفف. يجدر الذكر بأن زرع هذا المحلول الأم يؤدي احتمال حدوث صعوبات مرتبطة بعدم توازن نسبة الاينوكيلوم / وسط (منع النمو البكتيري بتركيز كبير لمركبات المنتوج).

من أجل تجنب تضرر الأحياء الدقيقة بالتغيرات المفاجئة لدرجة الحرارة، يجب أن تكون درجة حرارة المخفف خلال العمليات المذكورة أعلاه قريبة من درجة حرارة الوسط ما عدا في المنتوجات الخاصة.

يجانس الخليط.

إذا لزم الأمر، تترك الجزيئات الكبيرة تترسب لمدة 15 دقيقة على الأكثر كما يمكن استعمال أجهزة التشريح المكافئة.

في حالة حساب الأبواغ، يجب أن يسخن مباشرة المحلول الأم (مثلا 80° م على الأقل لمدة 10 دقائق) بعد تحضيره ويتبع بتبريد سريع.

6 . 2 التخفيفات العشرية التي تلي :

ينقل، بواسطة ماصة معقمة (6.4) وبارتياب قياسي ± 5%، 1 ملل من المحلول الأم في أنبوب يحتوي على 9 ملل من المخفف في درجة حرارة مناسبة.

ملاحظة : إذا كان الأمر يستلزم حجما كبيرا، فيمكن أن يضاف حجم محدد من المحلول الأم (أكثر من 1ملل)، بارتياب قياسي ± 5%، في حوجلة (4.4) تحتوي على 9 مرات من حجم المخفف المعقم.

من أجل تدقيق أفضل، لا تدخل الماصة في المحلول الأم أكثر من 1 سم.

يجب تجنب كل اتصال بين الماصة (6.4) المحتوية على الاينوكيلوم والمخفف المعقم.

تخلط العينة المأخوذة للتجربة و المخفف بعناية باستعمال رجاج ميكانيكي (3.4) ومن الأفضل لمدة خمس إلى عشر ثوان للحصول على تخفيف 10-2.

إذا لزم الأمر، تعاد هذه العمليات على التخفيف 10-2 والتخفيفات العشرية الموالية باستعمال ماصة جديدة معقمة لكل تخفيف من أجل الحصول على التخفيفات 10^{-3}، 10^{-4} .....الخ وذلك إلى غاية الحصول على عدد مناسب من الأحياء الدقيقة.

3 . 6 مدة العمليات

يجب ألاّ يتجاوز الوقت الجاري بين نهاية تحضير المحلول الأم ولحظة اتصال الاينوكيلوم بوسط الزرع، 45 دقيقة مع تحديد 30 دقيقة كزمن فاصل بين تحضير المحلول الأم (1.6) وبداية تحضير التخفيفات العشرية الموالية.

ملاحظة : إذا كانت درجة حرارة وسط المخبر عالية جدا، يجب تقليص هاتين المدتين القصويين.