

**قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج التحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.**

إن وزير التجارة،

- بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04-138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق 26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

- وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدل و المتمم،

- و بمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02-453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

- و بمقتضى القرار الوزاري المشترك المؤرخ في 29 صفر عام 1414 الموافق 18 غشت سنة 1993 و المتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك و عرضه،

- و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدل و المتمم،

- و بمقتضى القرار المؤرخ في 21 شعبان 1419 الموافق 10 ديسمبر سنة 1998 و المتعلق بالمواصفات التقنية للزبدة و كفاءات وضعها للاستهلاك،

### يقرر ما يأتي :

**المادة الأولى :** تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90-39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير 1990، المعدل و المتمم و المذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج التحليل الميكروبيولوجي للزبدة إجباريا.

**المادة 2 :** من أجل التحليل الميكروبيولوجي للزبدة، فإن مخابر رقابة الجودة و قمع الغش و تلك المعتمدة لهذا الغرض ملزمة باستعمال منهج التحليل الميكروبيولوجي المبين في الملحق.

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

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

حرر بالجزائر، في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005

نور الدين بوكروح

### مخطط لطريقة العمل

العينة المأخوذة للتجربة 25 غ أو ملل

وسط مغذي مسبقا : ماء ببتوني مثبت أو ماء مقطر + محلول الأخضر اللامع 225 ملل

التحضين في 37°م لمدة 16-18 ساعة

الاغتناء في وسط  
سائل اختياري

10 ملل من الزرع  
أو 25 ملل من عينة التجريب  
في حالة الحليب

وسط برباعي التيونات  
على مرحلتين من 18 إلى 24 ساعة  
من التحضين في 37°م

العزل على أوساط انتقائية  
داخل علب بيتري

أول وسط (هلام بالأحمر  
الفينول والأخضر اللامع)  
ثاني وسط  
(هلام بسلفيت البسيمث)

التحضين في 37°م لمدة 20 - 24 ساعة  
(40 - 48 ساعة إذا اقتضى الأمر)

5 مستعمرات مميزة (لكل علبة)

تزرع فوق هلام مغذي  
التحضين في 37°م لمدة 18 - 24 ساعة

الإثبات البيوكيميائي  
الإثبات المصلي

تفسير النتائج

**3 - تحضير المرحلة السائلة، التخفيف الأولي****1.3 - الزبدة الطازجة و الزبدة المبسترة :**

داخل أنبوب الطرد المركزي المحتوي على 50 غ من الزبدة، نضيف 42 ملل من محلول ذو تركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم، العامل الهيدروجيني (pH)  $0,1 \pm 7,5$  معقم (4).

إجراء عملية الذوبان داخل حمام مائي لا يتعدى  $45^{\circ}\text{C}$ .

عند ذوبان الزبدة، إنجاز عملية الطرد المركزي بسرعة دورا نية تبلغ 1000 - 2000 دورة/د لمدة دقيقة أو دقيقتين . نضع أنبوب الطرد المركزي على حامل .

تنزع المادة الدسمة عن طريق الامتصاص بواسطة ماصة قصيرة أو قمع من مادة اصطناعية معقم مثبتت على حافة أنبوب مطاطي متصل بكرة ذات أنبوبين متصلين بقنينة فارغة (فخ) وهي بدورها متصلة بمضخة مائية .

تغير الماصة أو القمع بعد كل عينة . يجرى التحليل البكتيريولوجي في الحين .

**2.3 جسم دسم ذو قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة :**

طريقة تحضير التخفيف الأولى مماثلة لما جاء في (1.3) إلا أنه يتم حساب كمية المحلول ذي تركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم و العامل الهيدروجيني  $0,1 \pm 7,5$  (pH) حسب كمية الدهون التي يحويها المنتج و على سبيل المثال:

- منتج يحتوي على كمية دهون تتراوح بين 38 غ % و 41 غ % ، استعمال 20 ملل من المخفف .

- منتج يحتوي على كمية من الدهون أكبر أو أقل من 38 غ % و 41 غ % . لكمية من المنتج تقدر بـ 50 غ ، استعمال حجم من المخفف يساوي نصف كمية الدهون الموجودة في 100 غ من المنتج .

**3.3 الزبدة المركزة :**

طريقة تحضير التخفيف الأولي مماثلة لتلك المبينة في (1.3) وإنما يستعمل كمخفف محلول تريبتون- ملح (الرجوع إلى 4) بمقدار 50 ملل .

بالاستناد إلى التركيبة النموذجية لكل منتج ، يقبل بصفة متفق عليها بأن 1 ملل من المرحلة السائلة، تخفيف أولي، يمثل 1 غ من المنتج .

**الملحق****منهج للتحليل الميكروبيولوجي للزبدة****1- المعايير :**

يجب أن تتم الرقابة على خمسة وحدات جاهزة التعبئة تنتمي لحصة من نفس الإنتاج .

يتكون الاقتطاع حسب الكتلة الموضبة داخل التغليف، مما يأتي :

- وزن الوحدة أقل من 1 كلغ : 5 وحدات جاهزة التعبئة سليمة يبلغ وزنها من 125 غ إلى 250 غ.

- وزن الوحدة أكبر من 1 كلغ : انطلاقا من 5 وحدات جاهزة التعبئة، تقتطع 5 قطع، وزن القطعة الواحدة يبلغ حوالي 200 غ. يتم الاقتطاع بواسطة أخذة الزبدة (sonde à beurre) أو الاقتطاع من الوحدات الجاهزة التعبئة بطهارة، قطعة من المنتج هرمية الشكل يبلغ وزنها من 300 غ إلى 400 غ .

يخص هذا العدد من الوحدات جاهزة التعبئة المراد فحصها الزبدة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة مكونة من مادة دسمة من الزبدة .

بالنسبة للزبدة المركزة، تتم الرقابة على عينة تمثل الوحدة المصنعة ، ينجز الاقتطاع حسب الطرق المبينة .

تنقل الاقتطاعات و تحفظ إلى حين إجراء التحليل في درجة حرارة موجبة لا تتعدى  $6^{\circ}\text{C}$ .

**2 - تحضير العينة للتجربة****1.2 - وحدة جاهزة التعبئة :**

نزع ورق التغليف بعناية دون نزع الطبقة السطحية، تنقل 50 غ من المنتج في أنبوب الطرد المركزي معقم ومجهز بسدادة لولبية .

**2.2 الاقتطاع المنجز بواسطة أخذة الزبدة**

ينقل بطهارة 50 غ من المنتج إلى أنبوب الطرد المركزي .

**3.2 الاقتطاع على شكل كتلة هرمية**

بواسطة سكين منظف بالكحول و ممرر على اللهب، يتم نزع الطبقة السطحية على عمق اسم تقريبا و يدخل 50 غ من المنتج بطهارة، داخل أنبوب الطرد المركزي.

يحفظ داخل الثلاجة بين  $0^{\circ}\text{C}$  و  $5^{\circ}\text{C}$  إلى حين تحضير المرحلة السائلة .

#### 1.5 - الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية في م<sup>30</sup> المسماة الملوثة :

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المبسترة و يتعلق بالأعضاء المجهرية الدقيقة الناجمة من مختلف التلوثات التي يمكن أن تحدث خلال صنع الزبدة. يجب استبعاد جراثيم اللبن (الحليب) التي تم زرعها داخل القشدة وفق التكنولوجيا المستعملة من هذا الإحصاء .

#### 1.1.5 - الوسط المستعمل :

##### التركيب :

جليزات .....7,5غ  
تريبتيكاز أو تريبتون .....7,5غ  
كلورور الصوديوم.....5غ  
هلام ( خالية من هيدرات الكربون ) .....4غ  
ماء مقطر .....1000 ملل.  
يعدل العامل الهيدروجيني (pH) بحيث يكون بعد التعقيم يساوي  $7,6 \pm 0,1$  في م<sup>25</sup>.  
يعقم في جهاز التعقيم في م<sup>121</sup> لمدة 15 دقيقة .  
يحفظ في الثلاجة لمدة شهر على الأكثر .

#### 2.1.5 الزرع :

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1ملل من التخفيف 10<sup>-1</sup>، 1ملل من التخفيف 10<sup>-2</sup> مع احتمال إضافة 1ملل من التخفيف 10<sup>-3</sup> صب من 12 إلى 15ملل من الوسط ثم يخلط الإينوكولوم جيدا مع الوسط .

يترك ليبرد و بعد التصلب يوضع للتحضين في م<sup>30</sup> لمدة 48 ساعة ثم في م<sup>1</sup>  $\pm 20$  لمدة 48 ساعة.

#### 3.1.5 قراءة العلب :

يحفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي ما بين 10 و 300 مستعمرة . إحصاء كل المستعمرات مع تفادي حساب المستعمرات على شكل « قمة إبرة» و التي تمثل مستعمرة لبنية (حليب) .

إلا أنه، يمكن لبعض السلالات لأنواع اللبن (الحليب) أن تنمو بصفة منسجمة، لذلك يجب الانتباه إلى المظهر المرفولوجي المنتظم، مستعمرات عدسية أو دائرية وعليه فإنه ينصح بإجراء اختبار الكاPLAN الذي يجب أن يكون سلبيا بالنسبة لأنواع الحليب .

#### 4.1.5 التعبير عن النتائج :

حساب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الملوثة في ميليلتر من التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة وفق طريقة الحساب الآتية :

#### 4-المخففات و تحضير التخفيفات العشرية 1.4 المخففات :

يستعمل مخففان، ولأسباب عملية، يوزع محلول بتركيز 2% من فوسفات ثنائي البوتاسيوم والعامل الهيدروجيني (pH)  $7,5 \pm 0,1$  ومحلول تربتون - ملح (أو محلول رينجر) بحيث يكون الحجم بعد التعقيم يساوي 50 ملل .

#### 2.4 التخفيفات العشرية :

عند الاستعمال، يوزع محلول تريبتون - ملح (أو محلول رينجر) بمقدار 9 ملل في أنابيب معقمة ذات أبعاد 20 مم x 200 مم.

يمزج التخفيف الأولي كما يجب عن طريق الامتصاص و الدفع 10مرات بواسطة ماصة معقمة تبلغ سعتها 1 ملل ثم يدخل 1ملل في أنبوب يحتوي على 9 ملل من محلول معقم من تريبتون ملح و ذلك من أجل الحصول على تخفيف 1/10.

يمزج جيدا لمدة 5 إلى 10 ثوان بواسطة جهاز الرج الدوراني خارج دائرة المركز.

و بنفس الطريقة يتم تحضير التخفيف إلى 1/100 والتخفيف إلى 1/1000.

#### 5 - التعبير عن النتائج:

لكي تسمح التحاليل البكتيريولوجية بتقييم أمثل لنوعية النظافة في صناعة الزبدة النيئة، و الزبدة المبسترة، والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة و الزبدة المركزة ، يستوجب الامتثال إلى طريقة العمل هذه و ذلك لتفادي حدوث فروقات ذات طابع تقني .

- مدة الفحص البكتيريولوجي: يجب أن لا تتعدى الفترة الزمنية الفاصلة بين نهاية تحضير التخفيف الأولي ومزج التخفيفات مع وسط الزرع، مدة 15 دقيقة.

- درجة حرارة التحضين و تبريد الأوساط : يجب مراقبة كل الأجهزة المستعملة، المجفف والحمام المائي، بصفة دورية ( مرتين في الشهر على الأقل)

- قراءة النتائج : حسب البيانات الواردة . إلا أنه عندما لا يمكن التعبير عن النتائج بشكل صحيح، يتعين إعادة التحليل بفحص مجموعة أوسع من التخفيفات . إذا وقع الفحص ما بعد أجال الاستهلاك (تاريخ نهاية أو الأمثل للاستهلاك)، ينبغي تدوين ذلك على كشف التحليل .

- نوعية أوساط الزرع : بصفة عامة ، يوصى باستعمال أوساط كاملة منزوعة الماء .

**3.5 بكتيريا الكوليفورم في 30م:**

1.3.5 الوسط :

وسط هلام بددي أوكسي كولات :

التركيب :

بروتيووز بيبتون ..... 10غ  
 لاكتوز ..... 10غ  
 دي أوكسي كولات الصوديوم ..... 0,5غ  
 كلورور الصوديوم ..... 5غ  
 سيترات الصوديوم ..... 2غ  
 أغار ..... 15غ  
 أحمر معتدل ..... 0,03غ  
 ماء مقطر ..... 1000ملل  
 يحضر الوسط مباشرة قبل الاستعمال ولا يعقم .

**2.3.5 الزرع :**

وضع بشكل مضاعف في علب بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولي و مع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10<sup>-1</sup> . يصب الوسط بمقدار 15ملل تقريبا يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد ثم تصب طبقة ثانية حجمها 4 إلى 5 ملل من الوسط غير المزروع . بعد التصلب ، توضع العلب للتحضين في 30م لمدة 22 إلى 24 ساعة .

**3.3.5 قراءة العلب :**

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر و حساب المستعمرات الحمراء المميزة النموذجية التي يبلغ قطرها 0,5 مم على الأقل، عندما يكون القطر صعب التقدير، يعاد زرع المستعمرة داخل أنبوب به مرق لاكتوزي و به حمض الصفراء و الأخضر اللامع و يوضع في المجفف في 30م لمدة 24 إلى 48 ساعة لملاحظة تخمر اللاكتوز .

**4.3.5 قراءة النتائج :**

يحسب عدد بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل من التخفيف الأولى ، أي في غرام من المنتج وفق طريقة الحساب المبينة في (4.1.5) .

الحد التحليلي المسموح به : 3 م بالنسبة للزبدة المبسترة و الأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة أي 30 : غياب السماح بالنسبة للزبدة المركزة، مخطط ذو رتبتين .

- الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيف واحد :

إجراء حساب المعدل الجبري .

- الحالة التي لا يؤخذ فيها سوى بتعداد تخفيفين متتاليين :

نطبق القاعدة الآتية :

Σ م

(ع + 0,1ع) ت

حيث : م : هو المجموع الكلي للمستعمرات المحسوبة .

ع : 1 عدد العلب المحسوبة في التخفيف الأول .

ع : 2 عدد العلب المحسوبة في التخفيف الثاني.

ت : عامل التخفيف الذي تم من خلاله الحصول على تعداد أولى.

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي 3 x 10<sup>3</sup>.**2.5 الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية في 30م:**

يطبق هذا الإحصاء على الزبدة المركزة .

**1.2.5 الوسط :** استعمال الوسط المسمى بـ ( بلات

كونت أغار) المضاف إليه الحليب .

**2.2.5 الزرع :** يوضع بشكل مضاعف في علب

بيتري 1 ملل من المرحلة السائلة التخفيف الأولى ومع احتمال إضافة 1 ملل من التخفيف 10<sup>-1</sup> . يصب من 12 إلى 15 ملل من الوسط ثم يمزج الإينوكولوم جيدا مع الوسط. يترك ليبرد و بعد التصلب، يوضع للتحضين في 30م لمدة 72 ساعة .

**3.2.5 قراءة العلب :**

يحتفظ من أجل العد بالعلب التي تحتوي على 10 إلى 300 مستعمرة. يتم إحصاء كل المستعمرات، باستعمال عدسة مكبرة 1,5 على الأكثر إذا اقتضى الأمر.

**4.2.5 التعبير عن النتائج :**

يحسب عدد الأعضاء المجهرية الدقيقة الهوائية لميليلتر واحد من التخفيف الأولى، أي في غرام من الزبدة المركزة حسب ما جاء في (4.1.5)

الحد التحليلي المسموح به : 3 م أي 1,5 x 10<sup>3</sup>.

من أجل إجراء اختبار الكواكلاس (مع احتمال إجراء اختبار الترمونكلواز) يقتطع عدد من المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة يساوي الجذر التربيعي للعدد الإجمالي للمستعمرات الموجودة في علب أو ثلاث علب بيتري و يؤخذ بعين الاعتبار عددها على التوالي .

عندما يتم توزيع الحجم في علب بيتري قطرها 140 مم، يجب فحص 5 مستعمرات على الأقل و إذا كان العدد أقل من خمسة فإنه يتم اقتطاعها كلها، في حالة توزيع الحجم على ثلاثة تجزئات ، 10 مستعمرات على الأقل يتم فحصها، وعندما يكون العدد أقل، تقتطع كل المستعمرات .

#### 4.4.5 التعبير عن النتائج :

يتم حساب عدد ستافيلوكوكوس اوريوس في مليلتر من التخفيف الأولي، أي في غرام من المنتج مع ترجمة النتائج المتحصل عليها كما يأتي:

تعتبر النتائج المشكوك فيها بالنسبة لاختبار الكوقولاس موجبة، إذا كان اختبار الترمونيكلوياز موجب.

إذا كان 80% على الأقل من المستعمرات المفحوصة ذات كواكولاس إيجابي، يعتبر العدد المفترض الحصول عليه من خلال العد، ممثلاً لعدد ستافيلوكوكوس أوريوس.

و إلا يعبر عن النتيجة الإجمالية بأخذ بعين الاعتبار نسب المستعمرات المميزة و غير المميزة، التي هي كواكولاس أو الترمونيكلوياز موجب .

إذا تم فحص عدة تخفيفات، تطبق طريقة الحساب الموضحة في (4.1.5.)

الحد التحليلي المسموح به :

3 - بالنسبة للزبدة النيئة، الزبدة المبسترة والأجسام الدسمة ذات قاعدة من مادة دسمة مصنوعة من الزبدة .

- لا يوجد الحد المسموح به بالنسبة للزبدة المركزة ، مخطط ذو رتبتين .

#### 5.5 البحث عن السالمونيليا :

##### 1.5.5 الاغتناء الأولي :

مرق لاكتوزي بالأرجوان بروموكريزول :  
يوزع المرق بمقدار 1125 ملل في أوعية سعتها 2 لتر وفتحة واسعة .

يعقم في جهاز التعقيم في 121°م لمدة 15 دقيقة .

#### 4.5 ستافيلوكوكوس أوريوس :

##### 1.4.5 الوسط : هلام بيرد باركر، (E.T.G.P.A)

يصب الوسط الكامل بمقدار 15 إلى 20 ملل في علب بيتري قطرها 90 أو 100 مم على التوالي .

بعد التصليب، تجفف العلب مقلوبة، بأغطية مفتوحة قليلاً في جهاز التجفيف مضبوط في 45°م و 55°م لمدة 30 دقيقة ( أو في درجة محيطية لمدة ساعتين (2) .

بالنسبة لعلب بيتري قطرها 140 مم يصب 28 ملل من هلام بيرد باركر .

في حالة الشك في وجود بكتيريا بروتايوس، ينصح بإضافة محلول السالفاميزاتين .

سالفاميزاتين.....0,2 غ  
محلول هيدروكسيد الصوديوم (0,1 مول). 10 ملل  
ماء (كمية كافية لـ) .....100 ملل  
قبل توزيع و تعقيم هلام بيرد باركر، يضاف لكل لتر من الوسط 27,5 ملل من محلول سالفاميزاتين.

#### 2.4.5 الزرع :

يوزع 1 ملل من المرحلة السائلة على سطح هلام بيرد باركر في علب بيتري قطرها 140 مم، أو ثلاثة علب بيتري قطرها 90 إلى 100 مم على شكل ثلاثة تجزئات متساوية إلى أقصى حد، ثم توزع على السطح بواسطة ناشر زجاجي معقم . يترك الوسط يتبلل لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة محيطية. يحضن في 37°م لمدة 24 إلى 48 ساعة.

#### 3.4.5 قراءة العلب و اختيار المستعمرات :

بعد 24 و 48 ساعة من التحضين، يؤشر عمق العلب، على المستعمرات المميزة و/ أو غير المميزة .

**المستعمرات المميزة :** مستعمرات سوداء، لماعة ومحدبة، محاطة بمنطقة شفافة يمكن أن تكون شبه شفافة . بعد 24 ساعة، يمكن أن يظهر في هذه المنطقة الشفافة حلقة عاتمة ملامسة مباشرة للمستعمرات .

**المستعمرات غير المميزة :** مستعمرات سوداء ولماعة محدبة، أو رمادية مسودة، تتصف أحياناً بمظهر شاحب ونسيج جاف، لا تحيط بها منطقة شفافة ( ما عدا بعض المستعمرات الرمادية المسودة ) .

يحتفظ من أجل العد، بالعلب التي تحتوي على 150 مستعمرة على الأكثر، المميزة و/ أو غير المميزة .

يتم إحصاء المستعمرات بحسب مظهرها .

**الاغتناء**

بزرع 10 ملل من المزرعة المغتنية أوليا

في

100 ملل من الوسط رباعي

تيترا ثيونات الصوديوم

المحضن في حمام مائي

في 43°م لمدة 24 و 48 ساعة

اليوم أ + 48 ساعة العزل

بواسطة سلك حلقي على هلامين منتقيين :

1 - هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول أو هلام بسلفيت البيسميت.

2 - هلام (XLD) (كزيلوليزين دي كربوكسيلاز) أو هلام هيكتوان .

اليوم أ + 72 ساعة

إعادة عمليات العزل كما هو موضح في اليوم أ + 48 ساعة .

تحضن الهلامات الانتقائية في 37°م.

إجراء قراءة أولية بعد 18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد التحضين من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة .

**4.5.5 اختيار المستعمرات والتأكيد :**

الاستناد على البيانات المبينة في الطريقة المتعلقة بالبحث عن السالمونيلا .

**5.5.5 البحث المصلي :**

يتم إخضاع السلالات التي تستجيب إلى الخصائص البيوكيميائية للسالمونيلا ، أو مشكوك كونها سالمونيلا ، إلى التحقق عن طريق الاختبارات المصلية .

**6.5.5 التعبير عن النتائج :**

عندما تكون العينة المركبة عديمة السالمونيلا، فإن المنتج مطابق للمواصفات المطلوبة.

إذا كانت العينة المركبة تحتوي على السالمونيلا، فإنه ينصح بإعادة فحص الخمس وحدات كل واحدة على حدى.

بالنسبة للسالمونيلا، يطبق مخطط ذو رتبتين دون وجود الحد المسموح به في التحليل.

**- الاغتناء :**

يستعمل وسط يوزع بمقدار 100 ملل في أوعية ذات سعة مناسبة، يتم تحضيره مباشرة قبل الاستعمال.

- مرق بالرباعي ثيونات الصوديوم ( مولي وكوفمان) و مزود إذا اقتضى الأمر، بالنفوبوسين ذات تركيز نهائي 40 ميكروغرام / ملل من الوسط . لا يعقم الوسط.

**العزل :**

يوصى باستعمال الهلامات الانتقائية الآتية :

- هلام بالأخضر اللامع و أحمر الفينول ( إيدال وكومبل ماكر) .

- هلام بسلفيت البيسميت ( ويلسن بلار ) .

- هلام (كزيلوليزين دي كربوكسيلاز) (XLD) تستعمل الأوساط التي يسمح بغليانها.

- هلام هيكتوان .

لتفادي حدوث تفاعلات غير ملائمة لنمو السالمونيلا من طرف بعض الهلامات الانتقائية ، يوصى بمايأتي:

يجب استعمال الهلامات الانتقائية بعد 24 ساعة أو في اليوم الذي يلي تحضيرها على الأكثر.

- يجب تفادي تعقيم الأوساط .

- يجب تجفيف العلب المحضرة من الأفضل في درجة حرارة محيطية، مثلا ، حوالي ساعتين (2) في 25°م يحتفظ بالأوساط في الظلام في نفس درجة الحرارة أو داخل ثلاجة .

**2.5.5 الاغتناء الأولي ( اليوم أ) :**

للتخفيف من حجم العمل ، يقطع من كل أنبوب من الأنابيب الخمس لجهاز الطرد المركزي المحتوية على المرحلة السائلة، 25 ملل منها و تجمع داخل وعاء تبلغ سعته 2 لتر يحتوي على 1125 ملل من مرق لاكتوز بالأرجواني بروموكريزول .

- يمزج جيدا ، يترك ساعة واحدة في درجة حرارة محيطية.

- يحضن في 37°م لمدة 22 ± 2 ساعة .

تتم القراءة بعد مرور 18 إلى 20 ساعة، إذا كان النمو غير كاف، يعاد تحضينه من جديد لمدة 20 إلى 24 ساعة.

**3.5.5 تقنيات الاغتناء و العزل :**

العمل وفق المخطط الآتي:

اليوم أ + 24 ساعة