قرار مؤرخ في 13 ذي الحجة عام 1425 الموافق 23 يناير سنة 2005، يجعل منهج اقتطاع العينات والتحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

إن وزير التجارة ،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 04–138 المؤرخ في 6 ربيع الأول عام 1425 الموافق26 أبريل سنة 2004 و المتضمن تعيين أعضاء الحكومة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90 – 39 المؤرخ في3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 و المتعلق بمراقبة الجودة و قمع الغش، المعدّل و المتمّم،

– 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 والمتعلق بمواصفات بعض أنواع الحليب المعد للاستهلاك وعرضه،

– و بمقتضى القرار المؤرخ في 14 صفر عام 1415 الموافق 23 يوليو سنة 1994 و المتعلق بالمواصفات الميكروبيولوجية لبعض المواد الغذائية، المعدّل والمتمّم،

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، المعدّل و المتمّم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة إجباريا.

المادة 2 : من أجل اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات و القشدة المثلجة ، فإن مخابر مراقبة الجودة و قمع الغش والمخابر 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

الملحق

منهج اقتطاع العينات و التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – اقتطاع المثلجات والقشدة المثلجة

أ – الأدوات المستعملة

1 – قارورات زجاجية سعتها 350 ملل، عريضة الفتحة محاطة بالسلكات من نوع (بيراكس) مسدودة بواسطة غطاء معدني ملولب، يحتوي على غطاء وسطي الذي يتم استبداله بعد كل تعقيم. تحتوي هذه القارورات على كريات زجاجية من نوع بيراكس. تحضر و تعقم بالمخبر.

2 – خزينة الجليد

3 – أدوات الاقتطاع

ملاعق معدنية معقمة ذات قبضة طويلة، أنابيب معدنية معقمة من نوع مسبار خاصة بالجبن المثقوب يشكل مكبس يتوغل داخل الأنبوب .

4 – مصباح من البوتان (من نوع مصباح التلحيم)

5 – ثلج كربوني أو خليط من الجليد مكدس والملح

هذا الخليط من الجليد المكدس والملح يعبأ في أكياس بلاستيكية مغلقة بإحكام .

ب . تقنيات الاقتطاع

1 – كمية المنتوج المراد اقتطاعها : حوالي 100 غرام .

2 – تقنيات الاقتطاع

يجب أن تنجز عملية اقتطاع المثلجات و القشدة المثلجة بأخذ كل احتياطات النظافة اللازمة خاصة فيما يتعلق بفتح و غلق القارورات .

أ) المثلجات والقشدة المثلجة الموضبة

– الموجودة داخل رزم من الورق

يمدد الورق و تسرب المثلجات داخل القارورة دون اللمس باليد. إذا تعلق الأمر بمثلجات من نوع مصاصة، تقطع العصية بصفة نظيفة إلى حافة المثلجات .

– الموجودة داخل رزم من الورق المقوى (الكارطون)

توضع في المساء، قارورات الاقتطاع داخل خزينة الجليد مع أكياس محتواة على جليد للتبريد . عند الاقتطاع ، يتم إخراج القشدة المثلجة بصفة نظيفة من رزم ورق المقوى ووضعها مباشرة داخل قارورات . تعوض الأكياس بالجليد الكربوني أو بأكياس أخرى محتواة على خليط جليد+ ملح.

ب) المثلجات والقشدة المثلجة المقدمة من طرف البائع بالملعقة

– تستعمل أجهزة البائع دون تمريرها على اللهب.

ج) المثلجات و القشدة المثلجة المباعة بنصف لتر أو لتر واحد.

نستعمل ملعقة حديدية مشتعلة.

د) المثلجات و القشدة المثلجة المبيعة عن طريق جهاز التوزيع.

– تؤخذ العينة مباشرة من فوهة الجهاز .

و) المثلجات والقشدة المثلجة المجمدة

– يستعمل أنبوب معدني مكونا مجرافا والذي يتم إخضاعه إلى إلهاب جد خفيف أثناء الاقتطاع (لا يتعدى 50°م). بواسطة مصبار مكونا لمكبس يدفع بالمثلجات لوضعها داخل القارورة.

– تؤخذ جميع احتياطات العمل في المجال البكتيريولوجي بالنسبة لفتح و غلق قارورات الاقتطاع خاصة في فتح القارورة في آخر المطاف.

تمرير اللهب على ثقب القارورة و الجهة السفلى من الغطاء قبل إدخال المقتطع بقليل و كذلك عند غلق القارورة .

II – التحليل البكتيريولوجي للمثلجات والقشدة المثلجة

1 – تحضير العينات

أ) الإجراء الأول

توضع القارورات المستخرجة من الجليد الكربوني أو من الثلج داخل المجفف أوفي الحمام المائي في37°م لمدة ساعة واحدة على الأكثر. يتعين عدم تجاوز هذه المدة و إلا وصلنا إلى بداية مرحلة اللوغاريتمية للنمو . في المجال العملي يتم مراقبة هذا التسخين في37°م و إيقافه في أقرب أجال ممكنة .

إذا تم تحضير المثلجات في الجليد الكربوني، يتعين على أعوان المخبر أن يتخلصوا من هذا الجليد الكربوني مباشرة خارج المخبر .

تجرى التخفيفات عند1/100.000 بواسطة محلول تريبتون– الملح.

و لكن انطلاقا من التخفيف1/100، ننجز تخفيفا عند 200 /1 و كذلك تخفيف عند1/1000.

ب) الإجراء الثاني

توضع المثلجات داخل الثلاجة في+4° م / +6°م إلى غاية مرحلة الذوبان.

تعتبر هذه الطريقة أفضل من الإنجاز الأول بالنسبة للعينات الصغرى (100 إلى 200 غ) ، لأن الذوبان سريع و لا يلائم تضاعف البكتيريا التي تعيش في الأوساط الباردة (بسيكروتروف).

– بعد ذوبانها، تتجانس المثلجات بواسطة رج حراري داخل قارورة الاقتطاع لمدة دقيقتين إلى 3 دقائق حتى و لو تعلق الأمر بمثلجات بالفواكه واللوز.

– بالنسبة للمثلجات و القشدة المثلجة المغلفة بالشكولاطة، تنزع الشكولاطة بالملقاط أو بسكينة معقمة و لا نختبر إلا الثلج.

– بالنسبة للمثلجات والقشدة المثلجة الفائضة، تخرب الرغوة منزوعة الهواء وفق التقنية المذكورة أدناه :

وصف الجهاز : قارورة بها سداد مخرق بثقبين وإحدى الثقبين مجهز بماصة باستور .الثقب الخارجي للماصة مسدود بمثبت من القطن .و بالثقب الآخر، أنبوب من الزجاج ثقبه الخارجي مقفل بمثبت من القطن و ملحق بالفراغ .

يستعمل الأنبوب أين يتم وضع الإصبع، لتخفيض أو رفع الفراغ (الهواء) لمنع تسرب القشدة المثلجة داخل الأنبوب الموصل بأنبوب خرطومي أو بمضخة الفراغ .

– طريقة الاستعمال : تسد ماصة باستور بالإصبع. إنجاز الفراغ . و من حين لآخر، يترك الهواء يمر . ترج القارورة في آن واحد.لا يتم نزع كل الرغوة و إنما يتم إنقاصها .

2 – تقنية الفحص البكتيريولوجي

أ) تحضير التخفيفات

القيام بتخفيفات إلى غاية 1/100.000 بمحلول تريبتون– ملح .

لكن انطلاقا من التخفيف 100 /1، نجري التخفيف 200 / 1 و كذا تخفيف 1/1000.

يستعمل التخفيف 200 /1 لإحصاء 200 بكتيريا الكوليفورم في 1 ملل .

الصيغة

تريبتون..... 1غ

كلورور الصوديوم..... 8غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني(pH) : 7 – 2 ,7.

يوزع الوسط في أنابيب أو قارورات . و يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. التحقق من تعقم الوسط قبل استعماله.

يرج كل تخفيف إما يدويا 30 مرة على الأقل، أو من الأفضل بواسطة رجاج ميكانيكي لمدة دقيقتين على الأقل و ذلك قبل المرور إلى التخفيف الموالي. ينجز كل تخفيف بواسطة ماصة مدرجة معقمة .

ب) الأبحاث التي ستنجز

في وسط صلب من تريبتون ، مستخلص الخميرة و أغار لمدة 72 ± 2 ساعة.

صيغة تريبتون، مستخلص الخميرة و أغار

تريبتون..... 6غ

مستخلص خميرة..... 3غ

مسحوق أغار 15غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7

يوزع الوسط في أنابيب قدرها 20 200x مم بمقدار20 ملل في كل أنبوب . يعقم في جهاز التعقيم في 115°م لمدة 20 دقيقة .

يزرع

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

1 ملل من التخفيف عند 1/10.000

1 ملل من التخفيف عند 1/100.000

0,1 ملل من التخفيف عند1/100.000.

من أجل تسهيل الإحصاء و تفادي نمو بعض المستعمرات المحتلة في الوسط، تستعمل التقنية المعروفة بـ (تقنية مضاعفة الطبقة) : تزرع 1 ملل من المادة أو من مختلف التخفيفات في علب بيتري .

يسكب الوسط المذوب مبدئيا و المرجع إلى45°م 50°م داخل علب بيتري . لا يمكن الانتظار أكثر من 5 دقائق لزرع الوسط . يخلط ثم يترك ليتصلب على سطح بارد و أفقي تام .

عندما يصبح التحضير صلبا، تسكب على سطحه طبقة رقيقة من الهلام الأبيض (سمكه 2 مم تقريبا) المذوب مبدئيا و المرجع إلى 45° م.

يترك ليتجمد قبل وضعه داخل المجفف .

صيغة الهلام الأبيض

الهلام..... 20غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 7.

يوزع الوسط داخل أنابيب و يعقم في جهاز التعقيم في120°م لمدة 20 دقيقة .

3 – إحصاء بكتيريات الكوليفورم والتعرف على إيشريشيا كولي

مرق اللاكتوز– الصفراء و الأخضر اللامع

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 10غ

لاكتوز.....10غ

ماء مقطر ..... 786 ملل

صفراء البقرة طازجة أو محلول به 10% من الصفراء منزوعة الماء..... 200 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) : 2 ,7.

يضاف عندئذ، 13,3 ملل من محلول مائي عند 1/ 1000 من الأخضر اللامع . يوزع في أنابيب مجهزة بأجراس (10 ملل لكل أنبوب لـ 160 x 16مم). يعقم في120°م لمدة 20 دقيقة.

يزرع على مرتين

1 ملل من التخفيف عند 1/10

1 ملل من التخفيف عند1/100

1 ملل من التخفيف عند1/200

1 ملل من التخفيف عند 1/1000

توضع الأوساط المزروعة داخل جهاز التجفيف في30°م لمدة 48 ساعة . تعتبر الأنابيب التي تحتوى أوساطها على غازات، محتوية على بكتيريا الكوليفورم. يتم التعرف على إيشيريشيا كولي بإجراء اختبار ماك كنزي .

اختبار ماك كنزي

لكل أنبوب لمرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع يحتوي على الغاز في 30°م، نستعمل :

- أنبوب مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع (نفس الصيغة المذكورة أعلاه).

- أنبوب به ماء ببتوني بسيط و الطريقة تكون كما يلي :

ببتون..... 10غ

كلورور الصوديوم..... 5غ

ماء مقطر..... 1000ملل

(pH) : 7, 2.

- يعقم في جهاز التعقيم في _ 121م لمدة 20 دقيقة.

- بواسطة سلك الزرع تؤخذ قطرة من كل أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء و الأخضر اللامع و الغاز وتزرع في أنبوب به مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع وهذا بعد الخلط بعناية .

بواسطة سلك الزرع، تؤخذ قطرة أخرى من نفس الأنبوب المحتوي على مرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع و الغاز و تزرع في أنبوب به ماء بيبتوني بسيط، بعد الخلط بعناية.

يوضع الأنبوبان داخل حمام مائي في 44°م ± 0,5 م لمدة 48 ساعة . للتأكد من وجود إيشيريشيا كولي، يجب أن يكون أنبوب المرق اللاكتوز- الصفراء والأخضر اللامع الموضوع في الحمام المائي في44°م يحتوي على الغاز و أن البحث عن الأندول يكون موجب في أنبوب الماء البيبتوني البسيط في 44°م. يتم البحث عن الأندول بواسطة حمض النتريك النيتري بوجود كحول الأميلي . يكشف عن الأندول بعد 24 ساعة و 48 ساعة .

4 - البحث وإحصاء الستافيلوكوك الممرضة

التقنية الأولى : على وسط شابمان مانيتي

صيغة الوسط

باكتو بيبتون..... 2غ

مستخلص اللحم..... 1غ

بروتيوز بيبتون..... 9غ

كلورور الصوديوم 75غ

مانيتول..... 10غ

باكتو أغار 15غ

أحمر الفينول..... 0,025غ

ماء مقطر..... 1000 ملل

العامل الهيدروجيني (pH) النهائي : 7,4-7,5

يوزع الوسط داخل أنابيب ذات أبعاد 22 x 200 مم بمقدار25 ملل لكل أنبوب. يعقم في جهاز التعقيم في 120°م لمدة 20 دقيقة . يسكب الوسط داخل علب بيتري عند الاستعمال. يترك ليتجمد .

يجفف داخل المجفف في 37°م.

يزرع فوق علبتين مختلفتين :

0,1 ملل من منتوج غير مخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 1/10

يوزع على سطح الوسط بشكل منتظم، يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. تفحص العلب بعد 24 و48 ساعة.

نحتفظ بالمستعمرات البيضاء أو الصفراء المحاطة بحلقة صفراء(مانيتول +).

يتم التعرف على مستعمرات ستافيلوكوك الممرضة بواسطة اختبار الكواقولاس الحر و كذا اختبار الفوسفاتاز مكملة بالبحث عن الهواء اللاهواء. فعلا، يمكن أن نتحصل على :

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض

فوسفاتاز +

كواقولاس + ستافيلوكوك ممرض (6% من الحالات)

فوسفاتاز -

كواقولاس - ستافيلوكوك ممرض (4% من الحالات)

فوسفاتاز + أو ميكروكوكيس.

في هذه الحالة الأخيرة، يجب إكمال البحث بالتعرف عن هوائية لا هوائية، لأن بعض الميكروكوكيس تحتوي على الفوسفاتاز إلا أنها هوائية إجبارية بينما الستافيلوكوك هي هوائية لاهوائية.

أ) إظهار الكواقولاس الحر

تؤخذ بعض المستعمرات المشتبه فيها و تزرع كل واحدة منها داخل أنبوب مرق مخالف ثم يجفف في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة .

انطلاقا من هذا الزرع من المرق :

يتم البحث عن الكواقولاس مع ترك أنبوب كشاهد .

تجرى المراقبة كل ساعة. في حالة عدم إيجابية الكواقولاس بعد 24 ساعة ، يجرى فحص من جديد على مستعمرات أخرى.

إذا كان الكواقولاس سالبا : يجرى البحث عن الهوائية و اللا هوائية.

البحث عن الفوسفاتاز

البحث عن الهوائية و اللا هوائية :

يقتطع من الزرع المرقي عينة عالقة بواسطة ماصة باستور مغلقة و يزرع على مرتفع أنبوب به وسط من لحم – خميرة المذوب مبدئيا و المنعش والمرجع إلى48° م – 50°م.

يوضع في جهاز التجفيف في 37°م لمدة 24 ساعة وذلك بعد التبريد .

صيغة الوسط لحم – خميرة : وسط لمستخلص اللحم والخميرة

بيبتون تربسيك..... 10غ
كلورور الصوديوم..... 5غ
مستخلص اللحم..... 4غ
مستخلص الخميرة..... 5غ
كلوريدرات السيستين.....0,30غ
غلوكوز.....2غ
مسحوق أغار..... 6غ
ماء مقطر 1000ملل

يغلى الوسط إلى غاية الذوبان .

يعدالعامل الهيدروجيني (pH) إلى 7,2 -7,4 بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم عند 1/10 . يغلى الوسط.

يرشح و يوزع داخل أنابيب أبعادها 8 أو 9 x 180 مم، على ارتفاع 8 سم . تعقيم في 115°م. على الأكثر لمدة 30 دقيقة .

ب) إظهار الفوسفاتاز

ينجز زرع على هلام مائل انطلاقا من زرع من مرق و تنشر على سطح الهلام. توضع في جهاز التجفيف في 37°م. لمدة 24 ساعة.

1) بواسطة الزرع المتحصل عليه.

ننجز مستحضر جرثومي و ذلك بإضافة 20 قطرة من ماء مملح داخل أنبوب خاص بالانحلال . تنقل المستعمرات المتحصل عليها من الهلام إلى الماء الفيزيولوجي إلى غاية الحصول على مستحلب كثيف.

في أنبوب آخر انحلالي يحتوي على 0,25 ملل من محلول برانيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم، يضاف 0,25 ملل من محلول أسيتات الصوديوم . يخلط محتوى الأنبوبان و يحضنان في 37°م لمدة 20 دقيقة. إذا تحصلنا على لون اصفر واضح : وجود الفوسفاتاز

ينجز بالموازاة شاهد لا يحتوي على محلول من ستافيلوكوك .

(محلول بارانتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم تركيز 4 % في الماء المقطر).

(محلول آسيتات الصوديوم بتركيز2,025غ في250 ملل من الماء المقطر).

يمكن لبعض الستافيلوكوك الممرضة أن تفقد الكواقولاس، لكن إذا كان بحوزتنا فوسفاتاز + وبكتيريا هوائية لا هوائية نستنتج أنها ستافلوكوك ممرضة.

2) تقنية أخرى لإظهار الفوسفاتاز.

التقنية الأولى : يوضع 0,50 ملل من ماء مقطر في أنبوب إنحلالي، يرش بواسطة رجاج من الزجاج قرص من ركيزة oc – نافتيل فوسفات حمض الصوديوم .

ينجز في هذا المحلول، معلق من خلال الزرع المتحصل عليه فوق الهلام .

يحضن في 37° م لمدة 30 دقيقة.

إدخال في الأنبوب قرص من أورتو ديامين بيس أزوتي المرش مسبقا.

بوجود الفوسفاتاز، نتحصل على تلوين أحمر عاتم منتج من طرف oc – نافيتول المحررة.

في حالة التفاعل السلبي، يبقى اللون الأصفر الأولي سائدا.

للتعرف على الخاصية الممرضة، يجب أن تتم على عدد كاف من المستعمرات : 5 مستعمرات و أكثر، إذا كان هناك 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة ، 10 مستعمرات و أكثر إذا كان هناك أكثر من 50 مستعمرة مشتبه فيها على العلبة.

التقنية الثانية : للبحث عن بكتيريا الستافيلوكوك الممرضة وإحصاءها.

استعمال وسط بيرد باركر به السيلفاميزاتين.

صيغة الوسط

أ) الوسط الأساسي

تريبتون.....10غ
مستخلص لحم البقرة.....5غ
مستخلص الخميرة..... 1غ
كلورور الليثيوم.. .....5غ
أغار..... 20غ
محلول السلفاميزاتين 0,2 %..... 25 ملل
ماء مقطر.....،..... 1000ملل

تحضير محلول السلفاميزاتين

يذوب 0،5 غ من السلفاميزاتين في 25 ملل من هيدروكسيد الصوديوم ن /10 و يكمل إلى 250 ملل بالماء المقطر.

يمكن إضافة هذا المحلول إلى الوسط قبل أو بعد التعقيم.

يعقم الوسط الأساسي لمدة 20 دقيقة في 120°م .

يعدّل العامل الهيدروجيني pH النهائي إلى 7,2.

يوزع الوسط داخل أنابيب 20 x 200 مم بمقدار 20 ملل.

عند الاستعمال، يذوب الوسط الأساسي في حمام مائي يغلي ثم يبرد إلى 45°م – 48°م.

تضاف بعدها المحاليل التالية مرشحة و ساخنة في 20 ملل من الوسط الأساسي.

ب) غليسين بتركيز 20%..... 1,2 ملل

ج) تلوريت البوتاسيوم بتركيز1%.....0,2 ملل

د) بيروفات الصوديوم بتركيز 20%..... 1ملل

و) مستحلب أصفر البيض 1ملل

تحضر المحاليل ب و ج و د في ماء مقطر ثم تعقم بتمريرها على راشح ساتز Seitz أو بواسطة شمعة شامبرلاند ل3 .

– مستحلب لصفار البيض .

– يذوب 5 ملل من صفار البيض معقم و مقتطع بصفة نظيفة في 95 ملل من ماء مالح معقم .

– التحقق من تعقم الوسط بواسطة مرق غذائي عادي ومحضن في 30°م لمدة ثلاثة أيام على الأقل .

يسكب الوسط الكامل المتحصل عليه في علب بيتري .

عندما يبرد الوسط و يجفف يزرع مع :

0,1 ملل من المنتوج غير المخفف .

0,1 ملل من التخفيف عند 10 /1.

تحضن العلب المزروعة في37°م و تفحص بعد 24 و 48 ساعة .

تكون مستعمرات الستافيلوكوك الممرضة سوداء ومحاطة بمنطقة فاتحة لصفار البيض.

يعتبر هذا المظهر خاص و مميز .

يعطى البرتيوس هوساري مستعمرات مماثلة ولكن السلفاميزاتين تعيق نموها .

يحتفظ بالوسط الكامل لمدة 24 ساعة فقط.

التحقق من الخاصية الممرضة للستافيلوكوك بالبحث عن الفوسفاتاز

يستعمل الكاشف نيتروفينيل فوسفات ثنائي الصوديوم بمعدل 20غ/ ملل في محلول مثبت pH تريس8 :

المحلول المثبت تريس : ثلاثي فوسفات الصوديوم نقي : 121غ/ل.

يسكب الكاشف على سطح وسط بيرد باركر الذي نمت عليه المستعمرات المميزة.

يحضن لمدة 30 دقيقة في30°م

تعطي الستافيلوكوك الممرضة ، فوسفتاز+، اللون الأصفر الموجود داخل المنطقة الفاتحة حول المستعمرة.

نتفادى بالتالي البحث عن الكواقولاس.

5 . البحث عن السالمونيلا

يجرى البحث على 25 ملل من المنتوج .

أ) الاغتناء المسبق للوسط

تضاف 25 ملل من المنتوج في 75 ملل من مرق عادي (مضاعف التركيز) .

صيغة المرق العادي (مضاعف التركيز)

مستخلص لحم البقرة 2غ

بروتيوز بيبتون..... 20غ

كلورور الصوديوم 10غ

ماء مقطر..... 1000ملل

يوزع الوسط المضاعف التركيز في قارورات سعتها 150ملل بمقدار75 ملل .

يعقم في 120°م لمدة 20 دقيقة. العامل الهيدروجيني 7,2 pH.

يوضع 25 ملل من المثلجات أو القشدة المثلجة، في قارورة تحتوي على 75 ملل من المرق العادي . يحضن في37°م لمدة 18 إلى 24 ساعة.

يجب أن يستعمل الاغتناء المسبق للوسط في المرق العادي لكل المنتوجات الخاضعة للتجمد المعمق .

ب) إغتناء الوسط

يلقح 1ملل من محتوى هذه القارورة في أنبوب به وسط سيلينيت زائد سيستين .

يحضن في 37°م أومن الأحسن في 40°م لمدة 24 ساعة.

صيغة وسط السلينيت زائد السيستين

تريبتون..... 5غ

لاكتوز..... 4غ

فوسفات ثنائي الصوديوم 10غ

سيلينيت حمض الصوديوم..... 4غ

سيستين..... 0,01 غ

ماء مقطر..... 1000ملل

العامل الهيدروجيني (pH) النهائي7.

لا يعقم . يوزع في أنابيب 20 X 200 مم بمقدار 20 ملل لكل أنبوب.

يسخن في بخار متدفق لمدة 30 دقيقة ، يحفظ في الثلاجة.

ج) العـــزل

يتم العزل على هلام من ديزوكسيكولات السترات، لاكتوز، تركيبة ليفسون، معدلة من طرف هينس.

– يحضن في المجفف في 37°م لمدة24 إلى 48 ساعة.

بعد أن يتم عزل المستعمرات المشتبه فيها بصفة تامة ، تزرع في وسط كليقلر.

– يتم بعدها التعرف على وجود السالمونيلا.