

DECISION
du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
remplaçant la Décision M (75) 2 du 7 mai 1975
concernant les prescriptions relatives au échanges intra-Benelux et à
l'importation de farines d'origine animale
M (85) 2

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu l'article 1er du Protocole du 29 avril 1969 relatif à la suppression des contrôles et formalités aux frontières intérieures du Benelux et à la suppression des entraves à la libre circulation,

Considérant qu'il convient de supprimer les contrôles et formalités aux frontières intérieures du Benelux et qu'il convient, dès lors, d'adopter des mesures coordonnées aux frontières extérieures, en vue d'assurer la qualité bactériologique des farines d'origine animale et de prévenir l'introduction éventuelle de maladies animales contagieuses provoquées par les farines,

Considérant que les prescriptions de police sanitaire vétérinaire relatives aux échanges intra-Benelux et à l'importation de farines d'origine animale doivent être adaptées à la situation actuelle en matière de procédure d'importation de farines d'origine animale et que la Décision M (75) 2 du 7 mai 1975 du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux doit être remplacée,

A pris la présente décision :

Article 1er

Au sens de la présente décision, on entend par :

- a. importation : l'importation d'un pays tiers sur le territoire d'un des pays du Benelux ;
- b. service compétent : le service chargé dans un pays du Benelux de l'exécution et du contrôle des dispositions légales concernant les farines d'origine animale ;
- c. farines d'origine animale : farines comprimées ou non se composant entièrement ou principalement de farines d'animaux, de viande, d'os, d'os-viande, de sang, de foie, de cretons, de mammifères marins, de poissons, de plumes, de cornes, de sabots et de cornillons et les farines apparentées ainsi que les mélanges de ces produits ;
- d. entreprises de décontamination : entreprise dans le pays de destination qui est agréée par le service compétent dudit pays pour la décontamination des farines d'origine animale importées ;
- e. entreprise de traitement : entreprise dans le pays de destination qui est agréée par le service compétent dudit pays pour la transformation ou le traitement de farines d'origine animale importées qui sont destinées à être exportées en dehors du Benelux ;

- f. envoi : la quantité totale de farine d'origine animale pour laquelle une autorisation individuelle ou générale a été délivrée et qui est déclarée comme un tout à l'importation.

Article 2

Les échanges intra-Benelux des farines d'origine animale sont libres si celles-ci sont :

- a. originaires d'un des pays du Benelux ;
- b. en provenance d'un pays Benelux, sans préjudice des dispositions reprises dans cette décision.

Article 3

1. Les farines d'origine animale ne peuvent être importées que si elles sont accompagnées :
 - a. d'un certificat d'origine et de santé conforme au modèle de l'annexe I, délivré par le service compétent du pays d'origine, complété et signé, et
 - b. d'une autorisation individuelle ou générale délivrée par le service compétent du pays de destination.
2. Les dispositions suivantes sont également d'application à l'importation de farines d'origine animale :
 - a. l'absence de salmonelles dans les envois concernés doit pouvoir être démontrée, et
 - b. l'importation doit être signalée au moins deux jours ouvrables et au plus cinq jours ouvrables avant l'arrivée dans le pays d'importation au service compétent du pays concerné.

Article 4

1. Le certificat d'origine et de santé visé à l'article 3 alinéa premier doit mentionner :
 - a. que la farine provient d'une usine ou exploitation établie dans le pays d'origine et contrôlée par le service compétent dudit pays !
 - b. la température maximale du traitement thermique et la durée pendant laquelle le produit a été soumis à cette température. Cette intensité du traitement thermique doit, selon le type de produit, satisfaire au moins aux dispositions du second alinéa ;
 - c. qu'après le traitement thermique la farine a été traitée et conservée de telle façon qu'une recontamination par salmonelles peut être considérée comme exclue.

2. Les farines d'animaux, de viande, d'os, d'os-viande, de sang, de foie, de cretons et les farines apparentées d'animaux terrestres doivent avoir été préparées par un traitement thermique humide pendant au moins une heure à une température minimale de 115°C ou par un traitement thermique à sec pendant au moins trois heures à une température minimale de 140°C.
3. Les farines de poisson, les farines de mammifères marins, les farines de plumes et les farines apparentées doivent avoir été préparées par un traitement thermique humide pendant au moins 5 minutes à une température de 90°C ou pendant au moins 30 minutes à une température minimale de 80°C.

Article 5

1. A l'importation de farines d'origine animale, les envois, à l'exception de ceux visés aux articles 6, 7 et 8, doivent faire l'objet d'un prélèvement conforme aux dispositions de l'annexe II et d'un examen bactériologique conforme aux dispositions de l'annexe III, par les soins ou par délégation du service compétent du pays de destination.
2. Tout envoi importé de farine d'origine animale doit, après le prélèvement visé au premier alinéa, rester à la disposition du service compétent jusqu'à ce que l'examen bactériologique ait démontré que les salmonelles n'ont pas été mises en évidence dans l'envoi.
3. Si l'examen bactériologique visé au premier alinéa indique la présence de salmonelles dans l'envoi concerné, l'importateur est tenu :
 - a. de le refouler sans délai du territoire Benelux, ou
 - b. à ses propres frais, sous contrôle ou par délégation du service compétent, de lui faire subir un traitement de décontamination visé à l'article 7, a. dans une installation agréée.
4. Si l'envoi de farine d'origine animale est destiné à un autre pays du Benelux que le pays aux frontières extérieures duquel il est présenté, le service compétent du pays aux frontières extérieures duquel l'envoi est présenté avise le service compétent du pays de destination de l'arrivée de l'envoi par l'expédition du duplicata du certificat d'accompagnement et d'avertissement dont le modèle est fixé par la décision du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux du 9 juin 1971, M (71) 36.

L'original dudit formulaire accompagne l'envoi sur le territoire des pays du Benelux.

Article 6

1. Lorsque l'examen visé à l'article 5 n'a pas mis de salmonelles en évidence dans trois envois de farine d'origine animale d'un seul et même fabricant importés successivement dans un pays du Benelux, le service compétent du pays concerné peut dispenser ledit fabricant de l'obligation de mise à disposition en vue du prélèvement visé à l'article 5, deuxième alinéa.

2. Le service compétent du pays de destination veille à ce qu'à l'importation de farines d'origine animale exemptées au sens du premier alinéa, la qualité bactériologique fasse l'objet d'un contrôle par sondage conformément aux dispositions de l'annexe II et de l'annexe III.
3. Le service compétent visé au premier alinéa procède au retrait de la dispense visée audit alinéa si le contrôle par sondage visé au deuxième alinéa indique la présence de salmonelles dans un envoi de farine d'origine animale du fabricant concerné.

Article 7

Le service compétent peut accorder à l'importateur une dispense générale du droit de prélèvement et de la mise à disposition, tels que visés à l'article 5, premier et deuxième alinéas, à la condition que :

- a. l'importateur s'engage immédiatement après l'importation des envois de farine d'origine animale concernés :
 1. à leur faire subir auprès d'une entreprise de décontamination officiellement agréée un traitement assurant l'éradication des salmonelles éventuellement présentes, ou
 2. à les faire traiter ou transformer auprès d'une entreprise de transformation officiellement agréée et ensuite à les refouler sans délai du territoire Benelux. Les envois de farine d'origine animale concernés et les mélanges auxquels ces envois sont incorporés ne peuvent pas être livrés dans le Benelux à d'autres entreprises que les entreprises de transformation officiellement agréées.
- b. l'importateur tient un registre journalier permettant de suivre et de contrôler les opérations.

Article 8

1. Le service compétent peut agréer officiellement une entreprise de décontamination telle que visée à l'article 7, a.1. L'agrément peut être assorti de conditions.
2. L'entreprise de décontamination est agréée si :
 - a. le traitement administré est tel qu'il offre suffisamment de garanties pour l'éradication des salmonelles éventuellement présentées ;
 - b. la température et la durée du traitement thermique des farines d'origine animale peuvent être enregistrées automatiquement ;
 - c. elle tient un relevé des données relatives au processus appliqué et des envois traités ;
 - d. la conservation et l'acheminement des farines d'origine animale s'opèrent dans des conditions d'hygiène telles que la recontamination par salmonelles est exclue.

3. L'agrération n'est accordée qu'après avis favorable d'une commission d'experts instituée par le service compétent.
4. L'agrération est retirée lorsque les conditions précitées ne sont plus remplies.

Article 9

1. Le service compétent peut agréer officiellement une entreprise de transformation telle que visée à l'article 7, a.2. L'agrération peut être assortie de conditions.
2. L'entreprise de transformation est agréé si elle tient un registre journalier des envois reçus et livrés de farine d'origine animale.

Article 10

1. Le service compétent informe les instances officielles des autres pays du Benelux des décisions visées à l'article 6 premier et troisième alinéas, et à l'article 7.
2. Si le service compétent décide d'accorder une dispense visée à l'article 6 premier alinéa, les services compétents des autres pays du Benelux peuvent également accorder sur cette base cette dispense à l'importation sur leur territoire, de farines d'origine animale provenant du fabricant concerné.

Article 11

La Décision du Comité de Ministres du 7 mai 1975 concernant les prescriptions de police sanitaire vétérinaire relatives aux échanges et à l'importation de farines d'origine animale, M (75) 2, est abrogée.

Article 12

1. La présente décision entre en vigueur le jour de sa signature.
2. Dans les trois mois à compter de cette date, chacun des trois Gouvernements prend les mesures nécessaires pour l'exécution de cette décision.
3. Dans les six mois qui suivent l'expiration du délai visé au point 2. chacun des trois Gouvernements fera rapport au Comité de Ministres sur les mesures qui ont été prises pour l'exécution de cette décision. Le texte des mesures d'exécution nationales sera joint à ce rapport.

FAIT à Bruxelles, le 26 mars 1985.

Le Président du Comité de Ministres,

Jacques F. POOS

M (85) 2, Annexe I

(Modèle) Certificat Benelux d'origine et de santé à l'importation de farines animales.

(farines d'animaux, de viande, d'os-viande, de sang, de foie, de cretons, de mammi-fères marins, de poissons, de plumes, de cornes, de sabots et de cornillons et des farines apparentées, comprimées ou non, ainsi que les mélanges de ces produits)¹⁾.

Pays d'origine : _____

Service compétent : _____

Nom et adresse du producteur : _____

Nom et adresse du destinataire : _____

Poids net de l'envoi en kg

--

Dénomination du produit : _____

Mode de transport : wagon

camion

navire

2) n° d'immatriculation _____

n° d'immatriculation _____

nom _____

Renseignements sanitaires

Le soussigné 3), _____ certifie que :

- a. le présent envoi de farine d'origine animale provient du producteur susmentionné et que ce producteur est soumis à un contrôle officiel ;
- b. le présent envoi de farine d'origine animale a subi un traitement thermique à une température maximale de _____°C pendant _____ minutes 4) dont résulte l'éradication des salmonelles et autres organismes pathogènes présents ;
- c. le présent envoi, après stérilisation, a été conservé dans des conditions d'hygiène telles que la recontamination par salmonelles peut être considérée comme exclue.

Fait à : _____ Date : _____

Signature : _____ Cachet nominatif et de service de la personne désignée par le service compétent :

1) Ce certificat doit accompagner l'envoi à l'importation.

2) Mettre une croix dans la case utile et indiquer le n° d'immatriculation du wagon ou du camion ou le nom du navire.

3) Nom et fonction de la personne désignée par le service compétent.

4) Indiquer la température maximale du traitement thermique et sa durée.

M (85) 2, Annexe II

Méthode de prélèvement des échantillons de farines d'origine animale**1. Objet et champ d'application**

La méthode décrit les modalités relatives aux prélèvements d'échantillons de farines d'origine animale, comprimées ou non, dans le cadre du contrôle officiel de la qualité bactériologique (notamment les salmonelles).

Les échantillons obtenus de cette manière sont jugés représentatifs de l'envoi concerné.

2. Echantillonneurs

Les échantillons sont prélevés par les soins ou par délégation du service compétent.

3. Définitions

- a. Lot : quantité d'un produit, qui constitue une unité de prélèvement d'échantillon et qui est censée posséder des caractéristiques uniformes.
- b. Prélèvement élémentaire : quantité d'un produit prélevée en un point donné du lot.
- c. Echantillon générique : l'ensemble des prélèvements élémentaires d'un même lot.
- d. Echantillon : une partie de l'échantillon générique qui est représentative de l'échantillon ou l'ensemble de l'échantillon générique destiné à l'examen bactériologique.

4. Matériel de prélèvement des échantillons

Le matériel destiné au prélèvement et au conditionnement des échantillons doit être stérile et constitué d'un matériau n'affectant pas matériellement les produits à échantillonner.

5. Exigences quantitatives**5.1. Lot***quantité maximale*

150 tonnes

ou pour les péniches, 1/10 de la péniche

5.2. Prélèvements élémentaires*Nombre minimum de prélèvements élémentaires par lot*

a) en vrac :

- lots jusqu'à 5 tonnes

- lots supérieurs à 5 tonnes

$$\sqrt{\frac{5}{5 \times \text{le nombre de tonnes du lot}}}$$

b) sous forme emballée :

- lots de 1 à 10 emballages
- lots de 11 à 100 emballages
- lots supérieurs à 100 emballages

5

au moins 5

 0,25 x le nombre d'emballages du lot

5.3. Echantillons génériques

Un seul échantillon générique par lot est requis.

5.4. Echantillon

Après réduction éventuelle, un échantillon est tiré de chaque échantillon générique. La quantité totale d'un échantillon ne peut être inférieure à 0,5 kg.

6. Instructions concernant le prélèvement, la préparation et l'emballage des échantillons.

6.1. Observations générales

Le prélèvement doit être effectué de façon à éviter la contamination par des salmonelles en raison de l'environnement, de l'appareillage ou des échantillons d'une autre partie de l'envoi.

Si un envoi est importé en vrac par navire contenant plus de 1.000 tonnes, cet envoi doit être transféré dans des péniches qui peuvent contenir environ 1.000 tonnes.

6.2. Prélèvements élémentaires

L'envoi doit être divisé fictivement en un nombre égal de parties correspondant au nombre d'échantillons génériques requis. Le nombre de prélèvements élémentaires requis, répartis à peu près également sur les différents lots, doit être pris au hasard. Au cas où un envoi en vrac est transféré d'un navire dans une péniche, chaque péniche doit être subdivisée en 10 unités de prélèvement.

6.3. Echantillons génériques

Les prélèvements élémentaires provenant de chaque partie du lot sont réunis de façon à constituer un échantillon générique tout en veillant à ce que la provenance de chaque échantillon générique soit mentionnée.

6.4. Echantillons

Les échantillons sont obtenus à partir des échantillons génériques. L'emballage de chaque échantillon est fermé aussitôt après le remplissage et est scellé et étiqueté (l'étiquette doit faire partie des scellés) en sorte qu'il est impossible de l'ouvrir sans endommager les scellés. L'étiquette porte au moins les indications figurant aux points 1, 2, 3, 4, 7 et 11 du rapport de prélèvement d'échantillon.

7. Rapport de prélèvement d'échantillons

Chaque prélèvement d'échantillon doit faire l'objet d'un rapport comportant au moins les points suivants :

1. Nom de l'échantillonneur ainsi que du service dont il relève.
2. Marques d'identifications-apposées par l'échantillonneur aux échantillons.
3. Lieu et date du prélèvement d'échantillon.
4. Dénomination du produit échantillonné.
5. Nom, raison sociale et adresse de l'entreposeur ou du détenteur de l'envoi.
6. Nom et adresse de l'importateur et du fabricant.
7. Le numéro ou le code de l'autorisation d'importation.
8. Désignation exacte de l'envoi (numéro du wagon ou du camion, nom du bateau, numéro de la cale, situation de l'entrepôt ou du magasin).
9. Poids de l'envoi ainsi que le nombre et la nature des emballages s'il s'agit de marchandises emballées.
10. Date de l'importation.
11. Déclaration de l'échantillonneur attestant que la prise d'échantillons a été effectuée conformément aux dispositions de la présente annexe.
12. Signature de l'échantillonneur.
13. Reproduction du cachet.

8. Destination des échantillons

Les échantillons doivent être envoyés dans les meilleurs délais au laboratoire agréé en vue de leur examen bactériologique. Le temps qui s'écoule entre le prélèvement d'échantillon et l'examen bactériologique doit être réduit au minimum.

9. Evaluation des résultats de l'examen bactériologique

- 9.1. Lorsque la méthode visée à l'annexe III met en évidence des salmonelles dans un seul échantillon d'un lot déterminé (unité d'échantillonnage), ce lot est déclaré positif.
- 9.2. La positivité d'un envoi dépend de la grandeur de l'envoi et du nombre de lots ou d'unités d'échantillonnage positifs. Un envoi de farine d'origine animale est déclaré positif si dans le cas d'un envoi :
 - a. de moins de 500 tonnes, un ou plusieurs des échantillons génériques ou lots sont positifs ;
 - b. de 500 à 1.000 tonnes, plus de deux des échantillons génériques ou lots sont positifs ;
 - c. de 1.000 tonnes et plus, plus de trois des échantillons génériques ou lots sont positifs.

Lorsqu'un envoi est manifestement séparé en fractions, il est possible d'appliquer les critères d'évaluation susvisés à chacune des fractions de l'envoi.

M (85) 2, Annexe III

Méthode de détermination des salmonelles dans les farines d'origine animale**1. Définition**

On entend par l'isolation des salmonelles dans les farines d'origine animale, l'ensemble des opérations nécessaires à l'obtention des cultures pures de germes qui répondent aux caractères des salmonelles.

2. Préparation de l'échantillon

Le temps qui s'écoule entre le prélèvement d'échantillon et l'examen bactériologique doit être réduit au minimum. Entre le moment de la réception au laboratoire et l'examen bactériologique, l'échantillon doit être conservé selon des modalités appropriées en sorte que les résultats de l'examen reflètent les conditions bactériologiques du lot échantillonné.

3. Mode opératoire pour l'isolation des salmonelles

Ce mode opératoire comporte trois stades :

- 3.1. *Premier stade* : Mettre 25 gr de l'échantillon dans 200 ml du milieu liquide non sélectif (milieu de récupération) et porter à l'incubateur à 37°C pendant 16 à 18 h.
- 3.2. *Deuxième stade* : Mettre 10 ml du milieu précédent incubé dans 100 ml du milieu liquide sélectif (bouillon d'enrichissement). Porter au bain marie à 45°C pendant 15 minutes, puis, à l'étuve à 43°C pendant 48 h.
- 3.3. *Troisième stade* : Etendre sur géloses sélectives après 18 à 24 h et après 48 h d'incubation des bouillons d'enrichissement. Ces géloses sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 h.

Remarque : Pour obtenir des colonies séparées sur les géloses d'isolement, il est conseillé de prélever le bouillon d'enrichissement au moyen d'une ôse de 2,5 à 3 mm de diamètre, et d'utiliser soit une boîte de Pétri de 14-15 cm de diamètre, soit 2 petites boîtes de Pétri de 9-10 cm de diamètre, la seconde boîte étantensemencée sans avoir rechargé l'öse.

4. Milieux de récupération, d'enrichissement et d'isolation

A titre d'information sont mentionnés dans cette rubrique les milieux de référence acceptés par un groupe de travail des pays C.E. et de la Suisse qui sont disponibles dans le commerce.

4.1. *Bouillon de culture non sélectif. Milieu de récupération**Composition et préparation*

Peptone	10 g
NaCl	5 g
Na ₂ HPO ₄ . 12 H ₂ O	9 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les différents ingrédients dans l'eau. Ajuster le pH de manière qu'après chauffage, il soit à $7,2 \pm 0,1$. Stériliser à 120°C pendant 15 minutes.

4.2. *Bouillon au Tétrathionate selon Muller-Kauffmann. Milieu de récupération*4.2.1. *Milieu de base*

Tryptone	7 g
Peptone	2,3 g
NaCl	2,3 g
CaCO ₃	25 g
Na ₂ S ₂ O ₃ . 5 H ₂ O	40,7 g
Bile de bœuf desséchée	4,75 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les différents ingrédients dans l'eau en chauffant. Porter à ébullition. Homogénéiser et répartir en flacons.

4.2.2. *Solution d'iode*

Iode	20 g
Iodure de potassium	25 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre l'iodure de potassium dans environ 50 ml d'eau. Ajouter ensuite l'iode et le faire dissoudre. Compléter avec l'eau jusqu'à 100 ml. Conserver à l'obscurité et au frais.

4.2.3. *Solution de vert brillant*

Vert brillant	100 mg
Eau distillée	100 ml

Chauffer la solution pendant une demi heure au bain marie bouillant. Conserver maximum 2 mois à l'obscurité et au frais.

4.2.4. *Préparation finale*

Le milieu doit être utilisé le jour de sa préparation.

Milieu de base	4.2.1.	1000 ml
Solution d'iode	4.2.2.	19,0 ml
Solution de vert brillant	4.2.3.	9,5 ml

4.3. *Milieu d'isolation. Gélose au vert brillant*

Extrait de viande (poudre)	5 g
Extrait de levure (poudre)	3 g
Peptone	10 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Na ₂ HPO ₄ .12 H ₂ O	1 g
NaH ₂ PO ₄	0,6 g
Rouge de phénol	0,09 g
Vert brillant (B D H)	4,7 mg
Agar n° 1 (*)	12 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau en chauffant. Porter à ébullition jusqu'à l'apparition des premières bulles. Refroidir à 50°C et verser dans des boîtes de Pétri. Le pH doit être de $6,9 \pm 0,1$.

5. Identification

L'identification doit s'effectuer sur des colonies parfaitement isolées. Effectuer, si nécessaire, un second isolement sur milieu solide. Les colonies suspectes sont identifiées par les réactions biochimiques et sérologiques.

5.1. *Réactions biochimiques*

Un petit nombre de réactions biochimiques permettront généralement de s'assurer que la colonie suspecte est vraisemblablement une salmonelle.

Réactions sur gélose de Kligler ou sur gélose T S I

Réaction de décarboxylation de la lysine

Réaction de décomposition de l'urée en ammoniacque

Les salmonella répondent aux caractères suivants :

Réaction sur T S I-glucose (acidification)	+ 100 %
glucose (formation de gaz)	+ 91,9%
lactose	- 99,2%
saccharose	- 99,5%
formation de H ₂ S	+ 91,6%
Décarboxylation de la lysine	+ 94,6%
Décomposition de l'urée	- 100 %

(*) Agar, très pur.

5.1.1. *Gélose T.S.I.*5.1.1.1. *Composition et préparation*

Peptone	20 g
Extrait de levure en poudre	3 g
Extrait de viande en pâte	3 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
NaCl	5 g
Na ₂ S ₂ O ₂ . 5 H ₂ O	0,3 g
FeSO ₄ . 7 H ₂ O	0,2 g
Rouge de phénol	50 mg
Agar	12 g
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau en chauffant. Ajuster le pH $7,4 \pm 0,1$; répartir en tubes à culture et stériliser à 120°C pendant 20 minutes.

Conservation : une semaine

Au moment de l'emploi, après nouvelle dissolution, pendant au moins 20 minutes au bain marie à l'ébullition, laisser refroidir les tubes en position inclinée de telle manière que le fond du tube reste entièrement rempli sur une longueur d'environ 2,5 cm.

5.1.1.2. *Mode opératoire et lecture*

Prélever un peu de matériel bactérien à éprouver au moyen d'un fil droit ; l'étendre en surface et ensemercer en profondeur par piqure à travers la gélose du culot. Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

Culot	: jaune	glucose fermenté
	rouge ou inchangé	glucose non fermenté
	noir	formation d'H ₂ S
	bulles ou déchiré	formation de gaz à partir du glucose
Surface	: jaune	lactose et/ou saccharose fermenté
	rouge ou inchangé	ni glucose, ni saccharose fermentés

5.1.2. *Décarboxylation de la lysine*5.1.2.1. *Milieu*

L-lysine, HCl	5 g
Extrait de levure en poudre	3 g
Glucose	1 g
Pourpre de bromocrésol	15 mg
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre les ingrédients dans l'eau. Ajuster le pH à $7,2 \pm 0,1$. Répartir en tubes environ 5 ml et stériliser à 120°C pendant 15 minutes.

5.1.2.2. *Mode opératoire et lecture*

Ensemencer avec le matériel bactérien à éprouver et incubé 37°C pendant 24 h.

Le milieu présente une couleur violette lors de réaction positive, et jaune lors de réaction négative.

5.1.3. *Décomposition de l'urée*5.1.3.1. *Milieu*5.1.3.1.1. *Solution d'urée, substances nutritives et indicateur*

Peptone	1 g
Glucose	1 g
NaCl	5 g
KH_2PO_4	2 g
Urée	20 g
Rouge de phénol	12 mg
Eau distillée	1000 ml

Dissoudre d'abord le rouge de phénol dans l'eau, à chaud. Refroidir ensuite et dissoudre les autres ingrédients. Ajuster le pH $6,8 \pm 0,1$ et stériliser par filtration (filtre G.5).

5.1.3.1.2. *Gélose*

Gélose	15 g
Eau distillée	900 ml

Dissoudre à chaud l'agar dans l'eau et stériliser à 120°C pendant 20 minutes.

5.1.3.1.3. *Préparation*

Mélanger aseptiquement la gélose et la solution d'urée amenés à une température d'environ 50°C . Répartir en tubes, environ 7 ml par tube et laisser solidifier en position inclinée.

5.1.3.2. *Mode opératoire et lecture*

Ensemencer la surface du milieu avec le matériel bactérien à éprouver. Incuber à 37°C pendant 1 ou 2 jours.

La décomposition de l'urée en ammoniaque se traduit par un virage de l'indicateur au rose puis au rouge.

N.B.: On peut aussi utiliser le milieu de l'urée selon STUART.

5.2. *Réactions sérologiques*

Les colonies qui répondent aux caractères biochimiques des salmonellas sont identifiées ultérieurement par la recherche des antigènes O et H. Cette recherche nécessite l'utilisation d'une gamme de sérums monovalents spécifiques. Une identification préliminaire peut être effectuée au moyen d'un sérum polyvalent. Les laboratoires qui ne disposent pas de tels sérums peuvent envoyer leurs souches à identifier aux centres nationaux de recherche de salmonelles.