

**BESCHIKKING**  
**van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie**  
**ter vervanging van Beschikking M (75) 2 van 7 mei 1975 inzake**  
**voorschriften voor het intra-Benelux-verkeer en de invoer van**  
**melen van dierlijke oorsprong**  
**M (85) 2**

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,

Gelet op artikel 1 van het Protocol van 29 april 1969 inzake de afschaffing van controles en formaliteiten aan de binnengrenzen van de Benelux en inzake de opheffing van de belemmeringen van het vrije verkeer,

Overwegende dat de controles en formaliteiten aan de intragrenzen van de Benelux dienen te worden afgeschaft en dat derhalve aan de buitengrenzen gecoördineerde maatregelen moeten worden vastgesteld ter bevordering van de bacteriologische kwaliteit van melen van dierlijke oorsprong en ter voorkoming van eventuele insleep van besmettelijke dierziekten door deze melen,

Overwegende dat de bestaande veterinairerechtelijke voorschriften voor het intra-Beneluxverkeer en de invoer van melen van dierlijke oorsprong aan de huidige situatie omtrent de wijze van invoer van melen van dierlijke oorsprong aangepast dienen te worden en dat Beschikking M (75) 2 van 7 mei 1975 van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie dient te worden vervangen,

Heeft het volgende beslist :

*Artikel 1*

In de zin van de onderhavige beschikking wordt verstaan onder :

- a. invoer : invoer uit een derde land op het grondgebied van één der Beneluxlanden ;
- b. bevoegde dienst : de in een Beneluxland met de uitvoering en controle van de wettelijke bepalingen omtrent melen van dierlijke oorsprong belaste dienst ;
- c. melen van dierlijke oorsprong : melen, al dan niet geperst, van dierlijke oorsprong, welke geheel of hoofdzakelijk bestaan uit dier-, vlees-, beender-, vleesbeender-, bloed-, lever- en kanenmeel, meel van zeezoogdieren, vismeel, verenmeel, hoef-, klauw- en hoornmeel en dergelijke melen, alsmede mengsels van deze melen ;
- d. decontaminatiebedrijf : bedrijf in het land van bestemming dat door de bevoegde dienst aldaar is erkend om ingevoerde melen van dierlijke oorsprong te decontamineren ;
- e. verwerkingsbedrijf : bedrijf in het land van bestemming dat door de bevoegde dienst aldaar is erkend om ingevoerde melen van dierlijke oorsprong te ver- of bewerken, die bestemd zijn om te worden uitgevoerd buiten de Benelux ;

- f. zending : de totale hoeveelheid meel van dierlijke oorsprong waarvoor een individuele of algemene machtiging is afgegeven en die als één geheel ten invoer wordt aangegeven.

*Artikel 2*

Het intra-Beneluxverkeer van melen van dierlijke oorsprong is vrij, mits deze melen zijn :

- a. van oorsprong uit een Beneluxland, danwel
- b. van herkomst uit een Beneluxland, onverminderd het bepaalde in deze beschikking.

*Artikel 3*

1. De invoer van melen van dierlijke oorsprong is alleen toegestaan wanneer de betreffende zending vergezeld gaat van :
  - a. een ingevuld en ondertekend gezondheids- en oorsprongscertificaat overeenkomstig het model in bijlage I, afgegeven door de bevoegde dienst van het land van oorsprong, én
  - b. een individuele of algemene machtiging verleend door de bevoegde dienst van het land van bestemming.
2. Tevens gelden bij invoer van melen van dierlijke oorsprong de volgende voorwaarden :
  - a. in de desbetreffende zendingen mogen geen salmonellae kunnen worden aangetoond, én
  - b. de invoer moet tenminste twee werkdagen en ten hoogste vijf werkdagen vóór aankomst in het land van invoer de bevoegde dienst van het desbetreffende land worden gemeld.

*Artikel 4*

1. Het oorsprongs- en gezondheidscertificaat als bedoeld in artikel 3 eerste lid moet tenminste vermelden :
  - a. dat het meel afkomstig is van een in het land van oorsprong gevestigde fabriek of inrichting, welke onder toezicht staat van de bevoegde dienst van het land ;
  - b. de maximale verhitings temperatuur en de tijdsduur gedurende welke het produkt die temperatuur heeft ondergaan. Deze verhitingsintensiteit moet, al naar gelang het soort produkt, minimaal overeenkomen met het bepaalde in het tweede lid ;
  - c. dat het meel na de verhitting op een dusdanige wijze is verwerkt en bewaard dat herbesmetting met salmonellae uitgesloten mag worden geacht.

2. Dier-, vlees-, beender-, vleesbeender-, bloed-, lever-, kanenmeel en dergelijke melen van landdieren dienen bereid te zijn door een vochtige verhitting gedurende tenminste 1 uur op een temperatuur van tenminste 115°C of door een droge verhitting gedurende tenminste 3 uur op een temperatuur van tenminste 140°C.
3. Vismeel, meel van zeezoogdieren, verenmeel en dergelijke melen dienen te zijn bereid door een vochtige verhitting gedurende tenminste 5 minuten op een temperatuur van 90°C of gedurende tenminste 30 minuten op een temperatuur van tenminste 80°C.

#### *Artikel 5*

1. Bij invoer van meel van dierlijke oorsprong dient met uitzondering van de zendingen als bedoeld in artikel 6, 7 en 8, door of vanwege de bevoegde dienst van het land van bestemming de zending te worden bemonsterd overeenkomstig het bepaalde in bijlage II en bacteriologisch te worden onderzocht overeenkomstig het bepaalde in bijlage III.
2. Een ingevoerde zending meel van dierlijke oorsprong dient na de bemonstering als bedoeld in het eerste lid ter beschikking te blijven van de bevoegde dienst totdat het bacteriologisch onderzoek heeft uitgewezen dat in de zending geen salmonellae zijn aangetoond.
3. Indien ingevolge het bacteriologisch onderzoek als bedoeld in het eerste lid in de desbetreffende zending salmonellae worden aangetoond, moet de importeur worden verplicht deze zending :
  - a. onverwijld uit het Benelux-gebied te verwijderen, of
  - b. op eigen kosten, onder toezicht van of vanwege de officiële instantie, bij een erkende installatie een decontaminatie behandeling te doen ondergaan als bedoeld in artikel 7, onder a.
4. Indien de bestemming van een zending meel van dierlijke oorsprong in een ander Beneluxland is dan het land waar de zending aan de buitengrens wordt aangeboden, wordt de bevoegde dienst van het land van bestemming door de bevoegde dienst van het land waar de zending aan de buitengrens wordt aangeboden, over de aankomst van de zending ingelicht door middel van toezending van het duplicaat van het begeleidings- en waarschuwingsformulier waarvan het model is vastgesteld bij beschikking van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie, M (71) 36, van 9 juni 1971.  
Het origineel van dat formulier vergezelt de zending over het grondgebied der Beneluxlanden.

#### *Artikel 6*

1. Indien ingevolge het in artikel 5 bedoelde onderzoek in drie achtereenvolgens in één Beneluxland ingevoerde zendingen meel van dierlijke oorsprong van één en dezelfde fabrikant geen salmonellae zijn aangetoond, kan de bevoegde dienst van het desbetreffende land de desbetreffende fabrikant vrijstelling verlenen van de ter beschikkinghoudingsplicht ingeval van bemonstering als bedoeld in artikel 5, 2de lid.

2. De bevoegde dienst van het land van bestemming draagt er zorg voor dat bij invoer van vrijgestelde melen van dierlijke oorsprong als bedoeld in het eerste lid steekproefsgewijs controle wordt uitgeoefend op de bacteriologische kwaliteit overeenkomstig het bepaalde in bijlage II en bijlage III.
3. De in het eerste lid bedoelde bevoegde dienst gaat tot intrekking van de in dat lid bedoelde vrijstelling over, indien bij de in het tweede lid bedoelde steekproefsgewijze controle in een zending meel van dierlijke oorsprong van de desbetreffende fabrikant salmonellae worden aangetoond.

#### *Artikel 7*

De bevoegde dienst kan een importeur algehele vrijstelling verlenen van de benoederings- én ter beschikkinghoudingsplicht als bedoeld in artikel 5, eerste en tweede lid, onder voorwaarde dat :

- a. de importeur zich ertoe verplicht de desbetreffende zendingen meel van dierlijke oorsprong onverwijld na invoer bij een :
  1. officieel erkend decontaminatiebedrijf een dusdanige behandeling te doen ondergaan dat eventueel aanwezige salmonellae worden gedood, of
  2. officieel erkend verwerkingsbedrijf te doen be- of verwerken en het daarna onverwijld uit het Benelux-gebied te verwijderen. De desbetreffende zendingen meel van dierlijke oorsprong en de mengsels waarin deze zendingen zijn verwerkt mogen binnen de Benelux aan geen andere dan officieel erkende verwerkingsbedrijven worden geleverd.
- b. door de importeur een dagelijkse administratie wordt bijgehouden aan de hand waarvan de gang van zaken is te volgen en te controleren.

#### *Artikel 8*

1. De bevoegde dienst kan een decontaminatiebedrijf als bedoeld in artikel 7 onder a.1. officieel erkennen. Aan een erkenning kunnen voorwaarden worden verbonden.
2. Een decontaminatiebedrijf wordt erkend indien :
  - a. de melen zodanig kunnen worden behandeld dat er voldoende garantie bestaat dat eventueel aanwezige salmonellae worden gedood ;
  - b. tijdens de behandeling van de melen van dierlijke oorsprong de verhittingstemperatuur en -duur automatisch worden geregistreerd ;
  - c. een administratie wordt bijgehouden van procesgegevens en behandelde zendingen ;
  - d. de bewaring en afvoer van de melen van dierlijke oorsprong op dusdanige hygiënische wijze geschiedt, dat herbesmetting met salmonellae uitgesloten wordt.

3. Tot het verstrekken van een erkenning wordt pas overgegaan na een positief advies van een door de bevoegde dienst in te stellen deskundigencommissie.
4. De erkenning wordt ingetrokken wanneer niet meer aan de vorengenoemde voorwaarden wordt voldaan.

*Artikel 9*

1. De bevoegde dienst kan een verwerkingsbedrijf als bedoeld in artikel 7, onder a.2. officieel erkennen. Aan een erkenning kunnen voorwaarden worden verbonden.
2. Een verwerkingsbedrijf wordt erkend indien een dagelijkse administratie wordt bijgehouden van de ontvangen en afgeleverde zendingen meel van dierlijke oorsprong.

*Artikel 10*

1. De bevoegde dienst stelt de officiële instanties in de andere Beneluxlanden in kennis van de in artikel 6 eerste en derde lid, en in artikel 7 bedoelde besluiten.
2. Indien de bevoegde dienst besluit tot het verlenen van een in artikel 6 eerste lid bedoelde vrijstelling kunnen de bevoegde diensten in de andere Beneluxlanden op grond hiervan bij invoer op hun grondgebied, ook deze vrijstelling voor de invoer van melen van dierlijke oorsprong afkomstig van de desbetreffende fabrikant verlenen.

*Artikel 11*

De beschikking van het Comité van Ministers inzake veterinairerechtelijke voorschriften voor het intra-verkeer en de invoer van melen van dierlijke oorsprong, M (75) 2 van 7 mei 1975 komt te vervallen.

*Artikel 12*

1. De onderhavige beschikking treedt in werking op de dag van ondertekening.
2. Binnen drie maanden te rekenen vanaf die datum treft ieder der drie Regeringen de nodige maatregelen ter uitvoering van onderhavige beschikking.
3. Binnen zes maanden na afloop van de onder punt 2. bedoelde termijn, brengt ieder der drie Regeringen verslag uit aan het Comité van Ministers over de maatregelen die zijn getroffen ter uitvoering van onderhavige beschikking. Bij dit verslag zal de tekst van de nationale uitvoeringsmaatregelen worden gevoegd.

GEDAAN te Brussel, op 26 maart 1985.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

Jacques F. POOS

M (85) 2, Bijlage I

**(Model) Benelux oorsprongs- en gezondheidscertificaat voor invoer van dierlijke melen.**

(dier-, vlees-, vleesbeender-, bloed-, lever-, kanenmeel, meel van zeezoogdieren, vismeel, verenmeel, hoef-, klauw- en hoornmeel en dergelijke melen, al dan niet geperst, alsmede mengsels van deze produkten) <sup>1)</sup>.

Land van oorsprong : \_\_\_\_\_

Bevoegde dienst : \_\_\_\_\_

Naam en adres van de producent : \_\_\_\_\_

Naam en adres van de ontvanger : \_\_\_\_\_

Netto gewicht van de zending in kg

Naam van het produkt : \_\_\_\_\_

Wijze van vervoer : spoorwagon  2) kentekenr. \_\_\_\_\_  
vrachtwagen  kentekenr. \_\_\_\_\_  
schip  naam \_\_\_\_\_

**Sanitaire gegevens**

Ondergetekende 3), \_\_\_\_\_ verklaart dat :

- a. de onderhavige zending meel van dierlijke oorsprong afkomstig is van de bovengenoemde producent én dat die producent onder officieel toezicht staat ;
- b. de onderhavige zending meel van dierlijke oorsprong een maximale verhitting van \_\_\_\_\_°C gedurende \_\_\_\_\_ minuten 4) heeft ondergaan waardoor voorkomende salmonellae en andere pathogene organismen zijn gedood ;
- c. de onderhavige zending na sterilisatie op dusdanige hygiënische wijze is bewaard zodat herbesmetting met salmonellae uitgesloten mag worden geacht.

Gedaan te : \_\_\_\_\_ Datum : \_\_\_\_\_

Handtekening : \_\_\_\_\_ Naam én dienststempel van de door de bevoegde dienst aangewezen persoon :

1) Dit certificaat dient bij invoer de zending te begeleiden.  
2) Aankruisen wat van toepassing is en invullen het kentekenr. van de spoorwagon of de vrachtwagen of de naam van het schip.  
3) Naam en functie van de door de bevoegde dienst aangewezen persoon.  
4) Hoogste verhittingstemperatuur en de verhittingsduur daarvan invullen.

## M (85) 2, Bijlage II

### Bemonsteringsmethode voor melen van dierlijke oorsprong.

#### 1. Doel en toepassingsgebied

Het bemonsteringsvoorschrift beschrijft de modaliteiten van de bemonstering van zendingen van dierlijke oorsprong, al dan niet geperst in het kader van de officiële controle van de bacteriologische kwaliteit (m.n. Salmonellae) ervan.

De op deze wijze verkregen monsters worden representatief geacht voor de desbetreffende zending.

#### 2. Monsternemers

De monsterneming wordt verricht door of vanwege de bevoegde dienst.

#### 3. Definities

- a. Partij : een hoeveelheid van een produkt die een bemonsteringseenheid vormt en waarvan wordt aangenomen dat ze uniforme kenmerken bezit.
- b. Ondermonsters : een hoeveelheid van een produkt die op een bepaald punt uit de partij is genomen.
- c. Verzamelmonster : het geheel van de ondermonsters van dezelfde partij.
- d. Verzendmonster : een gedeelte van het verzamelmonster dat representatief is voor het verzamelmonster of het gehele verzamelmonster welke bestemd is voor bacteriologisch onderzoek.

#### 4. Bemonsteringsmateriaal

Het bemonsteringsmateriaal waarmee de bemonstering wordt verricht en waarin de verzendmonsters worden verpakt, moeten steriel zijn en vervaardigd uit materiaal dat de te bemonsteren produkten materieel niet beïnvloed.

#### 5. Kwantitatieve vereisten

##### 5.1. Partij

*maximale hoeveelheid*

150 ton  
ingeval van lichters 1/10 deel van  
een lichter

##### 5.2. Ondermonsters

*minimaal aantal ondermonsters per partij*

- a) losgestorte vorm :  
- partijen tot 5 ton  
- partijen meer dan 5 ton

$\sqrt{\frac{5}{5 \times \text{aantal ton van de partij}}}$



## 7. Bemonsteringsrapport

Voor elke monsterneming moet een bemonsteringsrapport worden opgesteld, waarin tenminste de volgende zaken zijn vermeld :

1. Naam van de monsternemer en van de dienst waartoe hij behoort.
2. Merktekens door de monsternemer op de monsters aangebracht.
3. Plaats en datum van bemonstering.
4. Benaming van het bemonsterde produkt.
5. Naam, firma en adres van degene die de zending in voorraad of voorhanden heeft.
6. Naam en adres van de importeur en de fabrikant.
7. Het nummer of de code van de invoermachtiging.
8. Juiste aanduiding van de plaats waar de zending zich bevindt (nummer van de wagon of vrachtwagen, naam van het schip en nummer van het ruim, aanduiding van het pakhuis of magazijn).
9. Gewicht van de zending en, indien het om verpakte produkten gaat, het aantal en de aard van de verpakkingen.
10. Invoerdatum.
11. Verklaring van de monsternemer dat de bemonstering werd uitgevoerd overeenkomstig het bepaalde in deze bijlage.
12. Handtekening van de monsternemer.
13. Afdruk van de stempel.

## 8. Bestemming van de verzendmonsters

De verzendmonsters moeten zo spoeding mogelijk voor bacteriologisch onderzoek worden opgestuurd naar het daartoe aangewezen laboratorium. De tijd tussen het bemonsteren en het bacteriologisch onderzoek dient zo kort mogelijk te zijn.

## 9. Beoordeling van de resultaten van het bacteriologisch onderzoek

- 9.1. Indien in één verzamelmonster van een bepaalde partij (bemonsterings-eenheid) volgens de in bijlage III vermelde methode methode salmonellae worden aangetoond, is deze **partij** salmonella-positief.
- 9.2. Het salmonella-positief zijn van een **zending** is afhankelijk van de grootte van de zending en van het aantal salmonella-positieve partijen c.q. bemonsteringseenheden. Een zending meel van dierlijke oorsprong is salmonella-positief indien bij een zending :
  - a. tot 500 ton, één of méér van de verzamelmonsters c.q. partijen salmonella-positief is (zijn) ;
  - b. van 500 tot 1000 ton, méér dan twee van de verzamelmonsters c.q. salmonella-positief zijn ;
  - c. 1000 ton en meer, méér dan drie van de verzamelmonsters c.q. partijen salmonella-positief zijn.

Indien een zending duidelijk in gedeelten is gesepareerd, is het mogelijk de bovenstaande beoordelingscriteria op de afzonderlijke gedeelten van de zending toe te passen.

**M (85) 2, Bijlage III**

**Salmonella-bepalingsmethodiek voor melen van dierlijke oorsprong**

**1. Definitie**

Onder isolatie van salmonella uit meel van dierlijke oorsprong wordt verstaan het verrichten van al die handelingen, die nodig zijn voor het verkrijgen van reïncultures met voor salmonella kenmerkende eigenschappen.

**2. Voorbehandeling van het monster**

De tijd tussen het bemonsteren en het bacteriologisch onderzoek dient zo kort mogelijk te zijn. Tussen het moment van ontvangst op het laboratorium en het bacteriologisch onderzoek dient het monster op passende wijze te worden bewaard, zodat de resultaten van het onderzoek de bacteriologische omstandigheden van de bemonsterde partij weerspiegelen.

**3. Werkwijze voor de salmonella-isolatie**

Deze werkwijze bestaat uit drie stadia :

- 3.1. *Eerste stadium* : Breng 25 g van het monster in 200 ml van het vloeibare niet selectieve medium (voorophopingsmedium) en zet het in een broedstoomoven gedurende 16 à 18 uur bij 37°C.
- 3.2. *Tweede stadium* : Breng 10 ml van bovenstaand bebroed medium in 100 ml van het vloeibare selectieve medium (ophopingsmedium). Plaats het hierin in een waterbad van 45°C gedurende 15 minuten en vervolgens in een broedstoomoven bij 43°C gedurende 48 uur.
- 3.3. *Derde stadium* : Strijk na 18 à 24 uur en na 48 uur bebroeding van het ophopingsmedium uit op selectieve agarplaten. Deze selectieve platen worden 18 à 24 uur bebroed bij 37°C.

*Opmerking* : Teneinde afzonderlijke kolonies op de isolatieplaten te verkrijgen, wordt aangeraden het ophopingsmedium met behulp van een entoog met een doorsnede van 2,5 à 3 mm uit te strijken, hetzij op één Petrischaal van 14-15 cm doorsnede, hetzij op 2 kleine Petrischalen van 9-10 cm doorsnede, waarbij de tweede plaat wordt beënt zonder de entoog opnieuw in het ophopingsmedium te dopen.

**4. Voorophopings-, ophopings- en isolatiemedium**

Ter informatie worden in deze rubriek door een werkgroep van de E.G.-landen en Zwitserland als referentie aanvaarde media opgesomd, die in de handel verkrijgbaar zijn.

4.1. *Niet selectieve medium. Voorophopingsmedium*  
*Samenstelling en bereiding*

Pepton	10 g
NaCl	5 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	9 g
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,5 g
Gedestilleerd water	1000 ml

Los de verschillende bestanddelen op in water. Stel de pH zodanig in dat deze na verhitting  $7,2 \pm 0,1$  bedraagt. Steriliseer gedurende 15 minuten bij 120°C.

4.2. *Tetrathionaat bouillon volgens Muller-Kauffmann. Ophopingsmedium*  
4.2.1. *Basismedium*

Tryptone	7 g
Pepton	2,3 g
NaCl	2,3 g
CaCO <sub>3</sub>	25 g
Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> · 5 H <sub>2</sub> O	40,7 g
Gedroogde rundergal	4,75 g
Gedestilleerd water	1000 ml

Los de verschillende bestanddelen op in water door verhitting. Breng aan de kook. Meng en vul af in kolpjes.

4.2.2. *Jodiumoplossing*

Jodium	20 g
Kaliumjodide	25 g
Gedestilleerd water	1000 ml

Los het kaliumjodide op in ca. 50 ml water. Voeg daarna het jodium toe en los op. Vul aan met water tot 100 ml. Koel en in het donker bewaren.

4.2.3. *Briljantgroenoplossing*

Briljantgroen	100 mg
Gedestilleerd water	100 ml

Verhit de oplossing gedurende een half uur in een kokens waterbad. Koel en in het donker bewaren maximaal 2 maanden.

4.2.4. *Uiteindelijke bereiding*

Het medium moet op dezelfde dag waarop het wordt bereid worden gebruikt.

Basismedium	4.2.1.	1000 ml
Jodiumoplossing	4.2.2.	19,0 ml
Briljantgroenoplossing	4.2.3.	9,5 ml

#### 4.3. *Isolatiemedium. Briljantgroenagar*

Vleesextract (poeder)	5 g
Gistextract (poeder)	3 g
Pepton	10 g
Lactose	10 g
Sucrose	10 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12 H <sub>2</sub> O	1 g
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,6 g
Fenolrood	0,09 g
Briljantgroen (B D H)	4,7 mg
Agar n° 1 (*)	12 g
Gedestilleerd water	1000 ml

Los de bestanddelen op in het water door verhitting. Breng aan de kook tot de eerste kookbellen verschijnen. Laten afkoelen tot 50°C. Giet dan uit in Petrischalen. De pH moet  $6,9 \pm 0,1$  zijn.

### 5. Identificatie

De identificatie moet verricht worden op volledig geïsoleerde kolonies. Ver-richt, zonodig, een tweede isolering op een vast medium. De verdachte kolonies worden geïdentificeerd door biochemische en serologische reacties.

#### 5.1. *Biochemische reacties*

Een klein aantal biochemische reacties maakt het in het algemeen mogelijk aan te tonen, dat de verdachte kolonie waarschijnlijk een salmonella is.

Reactie op agar van Kligler of op T S I-agar

Lysinedecarboxylasereactie

Omzettingsreactie van het ureum in ammoniak

De salmonellae beantwoorden aan de onderstaande kenmerken :

Reactie op T S I-glucose (zuurvorming)	+ 100 %
glucose (gasvorming)	+ 91,9%
lactose	- 99,2%
saccharose	- 99,5%
vorming van H <sub>2</sub> S	+ 91,6%
Lysinedecarboxylase	+ 94,6%
Splitsing van ureum	- 100 %

---

(\*) Agar, zeer zuiver.

5.1.1. *T.S.I.-agar*

5.1.1.1. *Samenstelling en bereiding*

Pepton	20 g
Gistextract in poeder	3 g
Vleesextract in pasta	3 g
Glucose	1 g
Lactose	10 g
Saccharose	10 g
NaCl	5 g
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,3 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,2 g
Fenolrood	50 mg
Agar	12 g
Gedestilleerd water	1000 ml

Los de bestanddelen op in het water door verhitting. Breng de pH op  $7,4 \pm 0,1$  ; vul af in cultuurbuizen en steriliseer gedurende 20 minuten bij  $120^\circ\text{C}$ .

Houdbaarheid : één week

Los op het ogenblik van gebruik opnieuw op en plaats gedurende tenminste 20 minuten in een kokend waterbad, laat de buizen in schuine stand, zodat de bodem van de buis over een afstand van ongeveer 2,5 cm volledig gevuld is, afkoelen.

5.1.1.2. *Werkwijze en aflezing*

Neem een beetje van het bacteriemateriaal met behulp van een entdraad, smeet het uit over het oppervlak en ent met een diepe steek door de agar van de bodem. Laat gedurende 24 u bij  $37^\circ\text{C}$  bebroeden.

*Beoordeling*

Bodem	: geel	glucose omgezet
	rood of onveranderd	glucose niet omgezet
	zwart	vorming van $\text{H}_2\text{S}$
	bellen of gescheurd	gasvorming uit glucose
Oppervlakte	: geel	lactose en/of saccharose omgezet
	rood of onveranderd	noch glucose noch saccharose omgezet

### 5.1.2. *Lysine - decarboxylatie*

#### 5.1.2.1. *Medium*

L-lysine, HCl	5 g
Gistextract in poedervorm	3 g
Glucose	1 g
Broomeresolpurper	15 mg
Gedestilleerd water	1000 ml

Los de bestanddelen op in water. Breng de pH op  $7,2 \pm 0,1$ . Verdeel ongeveer 5 ml over de buizen en steriliseer gedurende 15 minuten bij  $120^{\circ}\text{C}$ .

#### 5.1.2.2. *Werkwijze en beoordeling*

Ent met het bacteriemateriaal en bebroed gedurende 24u bij  $37^{\circ}\text{C}$ . Het medium wordt vlot violet bij een positieve reactie en geel bij een negatieve reactie.

### 5.1.3. *Splitsing van het ureum*

#### 5.1.3.1. *Medium*

##### 5.1.3.1.1. *Ureumoplossing, voedingsstoffen en indicator*

Pepton	1 g
Glucose	1 g
NaCl	5 g
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	2 g
Ureum	20 g
Fenolrood	12 mg
Gedestilleerd water	1000 ml

Los eerst het fenolrood door verhitting op in het water. Laat daarna afkoelen en los de overige bestanddelen op. Breng de pH op  $6,8 \pm 0,1$  en steriliseer door filtratie (filter G.5.).

##### 5.1.3.1.2. *Agar*

Agar	15 g
Gedestilleerd water	900 ml

Los de agar door verhitting op in het water en steriliseer gedurende 20 minuten bij  $120^{\circ}\text{C}$ .

##### 5.1.3.1.3. *Bereiding*

Meng de agar onder aseptische voorwaarden met de ureumoplossing ; de temperatuur van beide is ongeveer  $50^{\circ}\text{C}$ . Vul ongeveer 7 ml af per buis en laat in schuine stand.

5.1.3.2. *Werkwijze en beoordeling*

Beënt het oppervlak van het medium met het bacteriemateriaal. Bebroed gedurende 1 of 2 dagen bij 37°C.

De splitsing van het ureum in ammoniak wordt aangetoond door de indicator die eerst rose en daarna rood wordt.

N.B.: Het ureummedium volgens STUART kan ook worden gebruikt.

5.2. *Serologische reacties*

De kolonies die beantwoorden aan de bio-chemische kenmerken van salmonella worden later geïdentificeerd door het onderzoek naar de aanwezigheid van antigenen O en H.

Dit onderzoek maakt het gebruik van een reeks specifieke monovalente sera nodig. Een voorafgaande identificatie kan door middel van polyvalent serum worden verricht.

De laboratoria die niet over dergelijke sera beschikken kunnen hun te identificeren stammen naar de nationale salmonella-centra ter type-ring sturen.