

Sven Gard Agar

Catalog #	Description
3553430	Sven Gard , ready-to-use, 25 ml x 25 tubes

For laboratory use only.

Intended Use

Medium for demonstrating the inapparent H antigen phase of biphasic *Salmonella* spp. (Sven Gard method).

Principle

Over than 2500 different *Salmonella* serotypes or serovars have been identified to date. The determination of O (somatic) and H (flagellar) antigens enables identification and thus differentiation of the main serotypes.

The H antigens of *Salmonella* are either monophasic (the flagella of bacteria making up the culture all have the same specificity, e.g.: S. Typhi = O:9, H:12 [Vi] d) or biphasic (the bacteria can alternatively express two different specificities; changes in specificity generally occur with a frequency of the order of 10^{-5} . e.g.: S. Paratyphi B = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

If a culture of a strain of *Salmonella* with a biphasic H antigen is composed of bacteria with antigens in phase 1 and bacteria with antigens in phase 2 in roughly equal proportions, it can be agglutinated by anti-H phase 1 and anti-H phase 2 sera for immediate identification. On the other hand, if one of the two phases is markedly predominant over the other, only the major phase can be identified. The immobilizing properties of the anti-H serum are used to detect the second phase. If the anti-H serum corresponding to the specificity of the phase already identified is added to the soft agar, and if this agar is inoculated at one point, all the bacteria with a flagellate antigen corresponding to the specificity of the added serum will be immobilized.

The others, however, can invade the agar and the H factors corresponding to the second specificity can be identified. This method of selection by immobilization is currently referred to as phase inversion. For example, S. Paratyphi B and S. Typhimurium both belong to Group B of the Kauffmann White (0:4) scheme. Phase 2 of the H antigen 1,2 is identical in both these serotypes. Their cultures, mainly in phase 2, cannot be distinguished. Bacteria with H antigen 1,2 must be immobilized to obtain a bacterial culture with the H antigen below the other phase. This will be agglutinated by the anti-b serum in the case of S. Paratyphi B, and by the anti-i serum in the case of S. Typhimurium.

Theoretical Composition

Peptones	12.7 g
Yeast extract	1.2 g
Glucose	3.5 g
Sodium chloride	5 g
Agar	4.6 g
Distilled water	1,000 ml
Final pH at 25°C	= 7.4 ± 0.2

Shelf Life and Storage

Store ready-to-use medium at 2–8°C in a dark place.

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.

Required Materials Not Supplied

This is a non-exhaustive list.

Equipment

- All usual laboratory equipment
- Water-bath, precise to $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Thermostatically-controlled incubator or incubation room, precise to $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Supplies

- Distilled water
- Microscope slides
- Inoculating loop or sterile Pasteur pipettes
- Sterile Petri dishes
- *Salmonella* phase inversion SG1 antiserum [a + b + c + z10], 3 ml (catalog #3561011B)
- *Salmonella* phase inversion SG2 antiserum [d + i + e, h], 3 ml (catalog #3561021B)
- *Salmonella* phase inversion SG3 antiserum [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (catalog #3561031B)
- *Salmonella* phase inversion SG4 antiserum [r + z], 3 ml (catalog #3561041B)
- *Salmonella* phase inversion SG5 antiserum [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (catalog #3561051B)
- *Salmonella* phase inversion SG6 antiserum [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (catalog #3561061B)

Precautions

- Respect Good Laboratory Practice (EN ISO 7218). Appropriate protection, such as gloves and lab coats, should be worn when working with potentially infectious live bacteria
- Media that have come in contact with food samples should be considered contaminated and should be disposed of in accordance with local rules and regulations
- For SDS product safety information and certificate of analysis, visit bio-rad.com

Quality Control

Every product manufactured and marketed by Bio-Rad is subject to a quality assurance procedure at all stages, from reception of raw materials through to marketing of the finished products. Each batch of finished product undergoes quality control according to EN ISO 11133 and is marketed only if it satisfies the acceptability criteria. Documentation relative to the production and quality control of each batch is kept on file.

Protocol

Inoculation and incubation

- Melt the read-to-use medium (25 ml) and cool to 44–47°C
- Add 1 drop of one of the 6 anti-H salmonella serums for phase inversion, corresponding to the previously-determined phase (the composition of the 6 SGI serums having been previously identified)
- Mix with circular movements and pour into Petri dishes
- After solidification, check that there is no condensation on the surface
- Using an inoculating loop, pick an isolated colony from the isolation agar and inoculate the center of the Sven Gard agar plate
- Cover the plate and incubate for 18 hr at 34–38°C

Reading and Interpretation

The H antigen is identified by slide agglutination, by collecting the culture from the periphery of the medium invasion zone.

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.

References

- Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. (2007) Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris.
- ISO/TR 6579-3:2014. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp.
- NF U47-100 July 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of *Salmonella* or search for particular serovar's in the animal production sector.
- NF U47-101 November 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among birds.
- NF U47-102 January 2008. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among mammals.
- World Health Organization, Salmonella fact sheet. 2018, February. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typoidal)).

Revision History

Release date	Document number	Change
October 2022	5119 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Major change- New document design- Document number change – previous version: V4_12/08/11

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.

Sven Gard Agar

Référence Description

3553430 **Sven Gard**, prêt à l'emploi, 25 ml x 25 tubes

Uniquement pour une utilisation en laboratoire.

Usage prévu

Milieu destiné à la mise en évidence de la phase inapparente des *Salmonella* spp. biphasiques pour l'antigène H (méthode Sven Gard).

Principe

À ce jour, plus de 2 500 sérotypes ou sérovars différents de *Salmonella* ont été identifiés. La détermination des antigènes O (somatique) et H (flagellaire) permet l'identification et par conséquent, la différenciation des principaux sérotypes.

Les antigènes H de *Salmonella* sont soit monophasiques (les flagelles des bactéries composant la culture ont toutes la même spécificité, par exemple : *S. Typhi* = O:9, H:12 [Vi] d), soit biphasiques (les bactéries peuvent exprimer alternativement deux spécificités différentes ; les changements de spécificité se produisent généralement selon une fréquence de l'ordre de 10⁻⁵, par exemple : *S. Paratyphi B* = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

Si une culture de souche de *Salmonella*, ayant un antigène H biphasique, se compose de bactéries avec des antigènes en phase 1 et de bactéries avec des antigènes en phase 2 selon des proportions approximativement égales, elle sera agglutinable par des sérums anti-H phase 1 et anti-H phase 2 et l'identification sera immédiate. Par contre, si l'une des deux phases est largement prédominante par rapport à l'autre, seule la phase majoritaire pourra être identifiée. Les propriétés immobilisantes du sérum anti-H permettent de détecter la seconde phase. Si le sérum anti-H correspondant à la spécificité de la phase déjà identifiée est ajouté à la gélose molle, et si cette gélose estensemée en un point, toutes les bactéries ayant un antigène flagellé correspondant à la spécificité du sérum ajouté seront immobilisées.

Les autres pourront alors envahir la gélose et les facteurs H correspondant à la seconde spécificité pourront être identifiés. Cette méthode de sélection par immobilisation est couramment appelée « inversion de phase ». Par exemple, *S. Paratyphi B* et *S. Typhimurium* appartiennent toutes deux au groupe B du schéma de Kauffmann-White (0:4). La phase 2 de l'antigène H 1,2 est identique chez ces deux sérotypes. Leurs cultures, principalement en phase 2, ne peuvent pas être distinguées. Il est nécessaire d'immobiliser les bactéries ayant l'antigène H 1,2 pour obtenir une culture de bactéries ayant l'antigène H sous l'autre phase. Celle-ci sera agglutinée par le sérum anti-b dans le cas de *S. Paratyphi B*, et par le sérum anti-i dans le cas de *S. Typhimurium*.

Formule théorique

Peptones	12,7 g
Extrait de levure	1,2 g
Glucose	3,5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	4,6 g
Eau distillée	1 000 ml

pH final à 25 °C = 7,4 ± 0,2

Durée de conservation et stockage

Milieu prêt à l'emploi : 2–8 °C à l'abri de la lumière.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.

Matériel requis non fourni

Liste non exhaustive.

Matériel

- Tout le matériel de laboratoire habituel
- Bain-marie, précision ± 1 °C
- Incubateur ou salle d'incubation thermostaté(e), précision ± 1 °C

Produits

- Eau distillée
- Lames de microscope
- Anse d'inoculation ou pipettes Pasteur stériles
- Boîtes de Petri stériles
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG1 [a + b + c + z10], 3 ml (n° de référence 3561011B)
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG2 [d + i + e, h], 3 ml (n° de référence 3561021B)
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG3 [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (n° de référence 3561031B)
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG4 [r + z], 3 ml (n° de référence 3561041B)
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG5 [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (n° de référence 3561051B)
- Antisérum d'inversion de phase *Salmonella* SG6 [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (n° de référence 3561061B)

Précautions

- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire (EN ISO 7218). Porter un équipement de protection approprié, par exemple des gants et une blouse de laboratoire, pour travailler avec des bactéries vivantes potentiellement infectieuses
- Les milieux qui sont entrés en contact avec des échantillons alimentaires doivent être considérés comme contaminés et doivent être éliminés conformément aux règles et réglementations locales
- Pour obtenir les informations sur la sécurité du produit (fiche de données de sécurité, FDS) et le certificat d'analyse, visiter bio-rad.com

Contrôle qualité

Chaque produit fabriqué et commercialisé par Bio-Rad est soumis à une procédure d'assurance qualité à toutes les étapes, de la réception des matières premières jusqu'à la mise sur le marché du produit fini. Chaque lot de produits finis subit un contrôle qualité conforme à EN ISO 11133 et est mis sur le marché uniquement s'il satisfait aux critères d'acceptabilité. La documentation relative à la production et au contrôle qualité de chaque lot est archivée.

Protocole

Inoculation et incubation

- Faire fondre le milieu prêt à l'emploi (25 ml) et refroidir à 44–47 °C
- Ajouter une goutte de l'un des 6 sérum anti-H *Salmonella* pour inversion de phase, correspondant à la phase déjà déterminée (la composition des sérum SG1 à 6 étant indiquée précédemment)
- Mélanger par mouvements circulaires et verser en boîtes de Petri
- Après solidification, vérifier que la surface ne présente pas de condensation
- Avec une anse d'inoculation, prélever une colonie isolée sur milieu gélosé d'isolement et inoculer le centre de la boîte Sven Gard
- Sceller la boîte et incuber pendant 18 hr à 34–38 °C

Lecture et interprétation

L'antigène H est identifié par agglutination sur lame, au moyen de la collecte de la culture à la périphérie de la zone d'envahissement du milieu.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.

Références

Patrick A.D. Grimont & François-Xavier Weill (2007) Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella*. 9ème édition, Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur les *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris.

ISO/TR 6579-3:2014. Microbiologie de la chaîne alimentaire — Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* — Partie 3 : Lignes directrices pour le sérotypage des *Salmonella* spp.

NF U47-100 juillet 2007. Méthodes d'analyse en santé animale — Recherche par l'isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles dans l'environnement des productions animales.

NF U47-101 novembre 2007. Méthodes d'analyse en santé animale — Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les oiseaux.

NF U47-102 janvier 2008. Méthodes d'analyse en santé animale — Isolement et identification de tout sérovar ou de sérovar(s) spécifié(s) de salmonelles chez les mammifères.

Organisation mondiale de la Santé — Principaux repères, *Salmonella*. Février 2018. [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typoidal\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typoidal)).

Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Octobre 2022	5119 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Modification importante- Nouvelle conception de document- Modification du numéro de document — version précédente : V4_12/08/11

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.

Sven Gard Agar

Katalog-Nr. Beschreibung

3553430 **Sven Gard**, gebrauchsfertig, 25 Röhrchen x 25 ml

Nur für die Verwendung im Labor.

Verwendungszweck

Medium zum Nachweis der inapparenten H-Antigen Phase von diphasigen *Salmonella* spp. (Sven Gard Methode).

Prinzip

Bislang sind mehr als 2500 verschiedene Serotypen oder Serovare von *Salmonella* bekannt. Die Bestimmung von (somatischen) O-Antigenen und (flagellären) H-Antigenen ermöglicht die Identifizierung und damit Differenzierung der wichtigsten Serotypen.

Die H-Antigene von *Salmonella* sind entweder monophasisch (die Flagellen der Bakterien, aus denen die Kultur besteht, haben alle die gleiche Spezifität, z. B.: S. Typhi = O:9, H:12 [Vi] d) oder diphasisch (die Bakterien können alternativ zwei verschiedene Spezifitäten exprimieren; Änderungen der Spezifität treten im Allgemeinen mit einer Häufigkeit in der Größenordnung von 10^{-5} auf. z. B.: S. Paratyphi B = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

Wenn eine Kultur eines *Salmonella*-Stammes mit diphasischem H-Antigen zu etwa gleichen Anteilen aus Bakterien mit Antigenen der Phase 1 und Bakterien mit Antigenen der Phase 2 besteht, kann sie mit Anti-H Phase 1- und Anti-H Phase 2 Seren agglutiniert und damit sofort identifiziert werden. Überwiegt hingegen eine der beiden Phasen die andere deutlich, so kann nur die Hauptphase identifiziert werden. Die immobilisierenden Eigenschaften des Anti-H Serums werden zum Nachweis der zweiten Phase genutzt. Wird dem Weichagar das der Spezifität der bereits identifizierten Phase entsprechende Anti-H Serum zugesetzt und dieser Agar an einer bestimmten Stelle inkuliert, werden dort alle Bakterien mit einem Flagellaten-Antigen entsprechend der Spezifität des zugesetzten Serums immobilisiert.

Die Anderen können jedoch in den Agar eindringen und die der zweiten Spezifität entsprechenden H-Faktoren können identifiziert werden. Dieses Selektionsverfahren durch Immobilisierung wird derzeit als Phasenumkehr bezeichnet. Zum Beispiel gehören S. Paratyphi B und S. Typhimurium beide zur Gruppe B der Kauffmann-White-Klassifizierung (0:4). Phase 2 des H-Antigens 1,2 ist bei diesen beiden Serotypen identisch. Ihre Kulturen sind hauptsächlich in Phase 2 nicht unterscheidbar. Bakterien mit H-Antigen 1,2 müssen immobilisiert werden, um eine Bakterienkultur mit dem H-Antigen unter der anderen Phase zu erhalten. Diese wird im Fall von S. Paratyphi B mit dem Anti-b-Serum und im Fall von S. Typhimurium mit dem Anti-i-Serum agglutiniert.

Theoretische Zusammensetzung

Peptone	12,7 g
Hefeextrakt	1,2 g
Glukose	3,5 g
Natriumchlorid	5 g
Agar	4,6 g
Destilliertes Wasser	1.000 ml
Finaler pH-Wert bei 25°C	= 7,4 ± 0,2

Haltbarkeit und Lagerung

Das gebrauchsfertige Medium bei 2 – 8°C vor Licht geschützt lagern.

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.

Zusätzlich benötigtes Material

Diese Liste ist nicht vollständig.

Geräte

- Alle üblichen Laborgeräte
- Wasserbad, Genauigkeit bis $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Thermostatisch regulierter Inkubator oder Inkubationsraum, Genauigkeit bis $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Zubehör

- Destilliertes Wasser
- Mikroskopobjektträger
- Impföse oder sterile Pasteur-Pipetten
- Sterile Petrischalen
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG1-Antiserum [a + b + c + z10], 3 ml (Katalog-Nr. 3561011B)
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG2-Antiserum [d + i + e, h], 3 ml (Katalog-Nr. 3561021B)
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG3-Antiserum [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (Katalog-Nr. 3561031B)
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG4-Antiserum [r + z], 3 ml (Katalog-Nr. 3561041B)
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG5-Antiserum [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (Katalog-Nr. 3561051B)
- *Salmonella*-Phasenumkehr SG6-Antiserum [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (Katalog-Nr. 3561061B)

Vorsichtsmaßnahmen

- Es sind die Richtlinien der guten Laborpraxis zu beachten (EN ISO 7218). Bei der Arbeit mit potenziell infektiösen lebenden Bakterien sollte angemessene Schutzkleidung wie Handschuhe und Laborkittel getragen werden
- Medien, die mit Lebensmittelproben in Kontakt gekommen sind, sind als kontaminiert zu betrachten und gemäß den vor Ort geltenden Vorschriften und Bestimmungen zu entsorgen
- Das Sicherheitsdatenblatt (SDS) und das Analysezertifikat für das Produkt sind auf **bio-rad.com** erhältlich

Qualitätskontrolle

Jedes von der Firma Bio-Rad hergestellte und verkaufte Produkt unterliegt vom Rohstoffeingang bis zur Vermarktung der Fertigprodukte einer umfassenden Qualitätssicherung. Jede Charge des fertigen Produkts wird einer Qualitätskontrolle gemäß EN ISO 11133 unterzogen und gelangt nur dann in den Vertrieb, wenn sie die Akzeptanzkriterien erfüllt. Die Unterlagen zur Produktion und Qualitätskontrolle jeder Charge werden archiviert.

Protokoll

Beimpfung und Inkubation

- Das gebrauchsfertige Medium (25 ml) schmelzen und auf $44 - 47^{\circ}\text{C}$ abkühlen lassen
- Entsprechend der zuvor bestimmten Phase (die Zusammensetzung der 6 SGI-Seren wurde zuvor festgestellt) 1 Tropfen eines der 6 Anti-H Salmonellen-Seren zur Phasenumkehr hinzufügen
- Mit kreisenden Schwenkbewegungen mischen und in Petrischalen gießen
- Nach dem Erstarren prüfen, dass kein Kondenswasser auf der Oberfläche vorhanden ist
- Mit einer Impföse eine isolierte Kolonie aus dem Isolationsagar aufnehmen und die Mitte der Sven Gard Agarplatte damit beimpfen
- Die Platte abdecken und 18 hr bei $34 - 38^{\circ}\text{C}$ inkubieren

Ablesen und Auswerten der Ergebnisse

Das H-Antigen wird durch Agglutination auf dem Objektträger identifiziert, indem die Kultur von der Peripherie der Medium-Invasionszone gesammelt wird.

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.

Literatur

Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. (2007) Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9. Auflage, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris.

ISO/TR 6579-3:2014. Mikrobiologie der Lebensmittelkette – Horizontales Verfahren zum Nachweis, zur Zählung und zur Serotypisierung von Salmonellen – Teil 3: Leitfaden für die Serotypisierung von *Salmonella* spp.

NF U47-100 July 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of *Salmonella* or search for particular serovar's in the animal production sector.

NF U47-101 November 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among birds.

NF U47-102 January 2008. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among mammals.

World Health Organization, Salmonella fact sheet. 2018, February. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typoidal)).

Revisionshistorie

Versionsdatum	Dokumentnummer	Änderung
Oktober 2022	5119 Ver A	- Bedeutende Änderung - Neues Dokumentdesign - Änderung der Dokumentnummer – vorhergehende Version: V4_12/08/11

BIO-RAD ist eine Marke von Bio-Rad Laboratories, Inc. Alle hierin verwendeten Marken sind Eigentum der jeweiligen Firmen.

Sven Gard Agar

N. catalogo Descrizione

3553430 **Sven Gard**, pronto per l'uso, 25 ml x 25 provette

Esclusivamente per uso in laboratorio.

Uso previsto

Terreno per la dimostrazione della fase asintomatica dell'antigene H di *Salmonella* spp. bifasica (metodo Sven Gard).

Principio

Ad oggi sono stati identificati oltre 2500 diversi sierotipi di *Salmonella*. La determinazione di antigeni O (somatici) e H (flagellari) consente l'identificazione e quindi la differenziazione dei sierotipi principali.

Gli antigeni H di *Salmonella* sono monofasici (i flagelli dei batteri che formano la coltura hanno tutti la stessa specificità, ad es.: S. Typhi = O:9, H:12 [Vi] d) oppure bifasici (i batteri possono esprimere alternativamente due diverse specificità; modifiche nella specificità si verificano generalmente con una frequenza dell'ordine di 10^{-5} . ad es.: S. Paratyphi B = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

Se la coltura di un ceppo di *Salmonella* con un antigene H bifasico è composta da batteri con antigeni in fase 1 e batteri con antigeni in fase 2 in proporzioni circa uguali, è possibile agglutinarla tramite sieri anti-H di fase 1 e anti-H di fase 2 per un'immediata identificazione. Tuttavia, se una delle due fasi è marcatamente predominante sull'altra, è possibile identificare soltanto la fase principale. Le proprietà immobilizzanti del siero anti-H sono utilizzate per rilevare la seconda fase. Se il siero anti-H corrispondente alla specificità della fase già identificata è aggiunto all'agar morbido, e se questo agar è inoculato a un certo punto, tutti i batteri con un antigene flagellato corrispondenti alla specificità del siero aggiunto saranno immobilizzati.

Gli altri, tuttavia, possono invadere l'agar ed è possibile identificare i fattori H corrispondenti alla seconda specificità. Questo metodo di selezione tramite immobilizzazione si riferisce attualmente all'inversione delle fasi. Ad esempio, S. Paratyphi B e S. Typhimurium appartengono entrambi al Gruppo B dello schema Kauffmann White (O:4). La fase 2 dell'antigene H 1,2 è identica in entrambi questi sierotipi. Le loro colture, soprattutto nella fase 2, non possono essere distinte. I batteri con l'antigene H 1,2 devono essere immobilizzati per ottenere una coltura batterica con l'antigene H inferiore all'altra fase. Questa sarà agglutinata dal siero anti-b nel caso di S. Paratyphi B e dal siero anti-i nel caso di S. Typhimurium.

Composizione teorica

Peptoni	12,7 g
Estratto di lievito	1,2 g
Glucosio	3,5 g
Cloruro di sodio	5 g
Terreno di coltura agar	4,6 g
Acqua distillata	1.000 ml
pH finale a 25°C	= 7,4 ± 0,2

Durata e conservazione

Conservare il terreno pronto per l'uso a 2-8°C in un luogo buio.

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.

Materiali richiesti non in dotazione

Elenco non completo.

Apparecchiatura

- Tutta la normale apparecchiatura di laboratorio
- Bagnomaria, con precisione di $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Incubatore o camera di incubazione con controllo termostatico, con precisione di $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Materiali

- Acqua distillata
- Vetrini per microscopio
- Ansa per inoculazione o pipette Pasteur sterili
- Piastre di Petri sterili
- Antisiero SG1 dell'inversione di fase di *Salmonella* [a + b + c + z10], 3 ml (catalogo n. 3561011B)
- Antisiero SG2 dell'inversione di fase di *Salmonella* [d + i + e, h], 3 ml (catalogo n. 3561021B)
- Antisiero SG3 dell'inversione di fase di *Salmonella* [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (catalogo n. 3561031B)
- Antisiero SG4 dell'inversione di fase di *Salmonella* [r + z], 3 ml (catalogo n. 3561041B)
- Antisiero SG5 dell'inversione di fase di *Salmonella* [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (catalogo n. 3561051B)
- Antisiero SG6 dell'inversione di fase di *Salmonella* [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (catalogo n. 3561061B)

Precauzioni

- Rispettare le buone pratiche di laboratorio (EN ISO 7218). Indossare protezioni adeguate, come guanti e camici da laboratorio, quando si manipolano batteri vivi potenzialmente infettivi
- I terreni entrati in contatto con campioni di alimenti devono essere considerati come contaminati e quindi smaltiti in conformità alle normative e direttive locali
- Per informazioni sulla sicurezza del prodotto (schede dati di sicurezza) e il certificato di analisi, visitare **bio-rad.com**

Controllo qualità

Tutti i prodotti fabbricati e commercializzati dalla società Bio-Rad sono sottoposti a un sistema di assicurazione qualità dal momento del ricevimento delle materie prime fino alla commercializzazione dei prodotti finiti. Ciascun lotto di prodotto finito è soggetto a un controllo di qualità conformemente alla norma EN ISO 11133 e viene messo in commercio soltanto se risulta conforme ai criteri di accettazione. La documentazione relativa alla produzione e al controllo di qualità di ciascun lotto è conservata a cura del fabbricante.

Protocollo

Inoculazione e incubazione

- Sciogliere il terreno pronto per l'uso (25 ml) e raffreddare a 44-47°C
- Aggiungere 1 goccia di uno dei 6 sieri anti-H della salmonella per l'inversione di fase, corrispondente alla fase determinata in precedenza (la composizione dei 6 sieri SGI è già stata identificata in precedenza)
- Miscelare con movimenti circolari e versare in piastre di Petri
- Dopo la solidificazione, verificare che non ci sia condensa sulla superficie
- Utilizzando un'ansa per inoculazione, selezionare una colonia isolata dall'agar di isolamento e inoculare il centro della piastra di agar Sven Gard
- Coprire la piastra e incubare per 18 hr a 34-38°C

Lettura e interpretazione

L'antigene H è identificato tramite l'agglutinazione del vetrino, con la raccolta della coltura dalla periferia dell'area di invasione del terreno.

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.

Riferimenti

Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. (2007) Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris.

ISO/TR 6579-3:2014. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp.

NF U47-100 July 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of *Salmonella* or search for particular serovar's in the animal production sector.

NF U47-101 November 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among birds.

NF U47-102 January 2008. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among mammals.

World Health Organization, Salmonella fact sheet. 2018, February. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

Cronologia delle revisioni

Data di pubblicazione	Numero di documento	Modifica
Ottobre 2022	5119 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Modifica importante- Nuova struttura del documento- Modifica al numero di documento – versione precedente: V4_12/08/11

BIO-RAD è un marchio registrato di Bio-Rad Laboratories, Inc. Tutti i marchi registrati qui utilizzati sono di proprietà del rispettivo proprietario.

Sven Gard Agar

Nº catálogo Descrição

3553430 **Sven Gard**, pronto para uso, 25 ml x 25 tubos

Somente para uso em laboratório.

Uso previsto

Meio para demonstrar a fase oculta do antígeno H antigênico bifásico *Salmonella* spp. (método Sven Gard).

Princípio

Mais de 2500 diferentes sorotipos ou sorovares de *Salmonella* foram identificados até agora. A determinação dos抗ígenos O (somático) e H (flagelar) permite a identificação e, portanto, a diferenciação dos principais sorotipos.

Os抗ígenos H de *Salmonella* são monofásicos (os flagelos das bactérias que compõem a cultura têm todos a mesma especificidade, por exemplo: *S. Typhi* = O:9, H:12 [Vi] d) ou bifásico (as bactérias podem, como alternativa, expressar duas especificidades diferentes; mudanças na especificidade geralmente ocorrem com uma frequência da ordem de 10^{-5} . por exemplo: *S. Paratyphi B* = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

Se uma cultura de uma cepa de *Salmonella* com um抗ígeno bifásico H for composta de bactérias com抗ígenos na fase 1 e bactérias com抗ígenos na fase 2 em proporções aproximadamente iguais, pode ser aglutinada por soros anti-H fase 1 e anti-H fase 2 para identificação imediata. Por outro lado, se uma das duas fases é acentuadamente predominante sobre a outra, somente a fase principal pode ser identificada. As propriedades imobilizantes do soro anti-H são usadas para detectar a segunda fase. Se o soro anti-H correspondente à especificidade da fase já identificada for adicionado ao ágar macio e se este ágar for inoculado em um ponto, todas as bactérias com um抗ígeno flagelado correspondente à especificidade do soro adicionado serão imobilizadas.

As outras, no entanto, podem invadir o ágar e os fatores H correspondentes à segunda especificidade podem ser identificados. Este método de seleção por imobilização é atualmente referido como inversão de fase. Por exemplo, *S. Paratyphi B* e *S. Typhimurium* pertencem ambos ao Grupo B do esquema Kauffmann White (O:4). A fase 2 do抗ígeno H 1,2 é idêntica em ambos os sorotipos. Suas culturas, principalmente na fase 2, não podem ser diferenciadas. As bactérias com o抗ígeno H 1,2 devem ser imobilizadas para obter uma cultura bacteriana com o抗ígeno H abaixo da outra fase. Isto será aglutinado pelo soro anti-b no caso do *S. Paratyphi B*, e pelo soro anti-i no caso do *S. Typhimurium*.

Composição teórica

Peptonas	12,7 g
Extrato de levedura	1,2 g
Glicose	3,5 g
Cloreto de sódio	5 g
Ágar	4,6 g
Água destilada	1.000 ml
pH final a 25 °C	= 7,4 ± 0,2

Prazo de validade e armazenamento

Armazene o meio pronto para uso a 2–8 °C em um local escuro.

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais utilizadas no presente documento são propriedade dos respetivos proprietários.

Materiais necessários não fornecidos

Esta lista não é exaustiva.

Equipamento

- Todo o equipamento comum de laboratório
- Banho-maria, preciso a $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Incubadora ou sala de incubação controlada termostaticamente, com precisão de $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Suprimentos

- Água destilada
- Lâminas para microscópio
- Alça de inoculação ou pipetas Pasteur estéreis
- Placas de Petri estéreis
- Inversão de fase de *Salmonella* SG1 antissoro [a + b + c + z10], 3 ml (nº do catálogo 3561011B)
- Inversão de fase de *Salmonella* SG2 antissoro [d + i + e, h], 3 ml (nº do catálogo 3561021B)
- Inversão de fase de *Salmonella* SG3 antissoro [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (nº do catálogo 3561031B)
- Inversão de fase de *Salmonella* SG4 antissoro [r + z], 3 ml (nº do catálogo 3561041B)
- Inversão de fase de *Salmonella* SG5 antissoro [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (nº do catálogo 3561051B)
- Inversão de fase de *Salmonella* SG6 antissoro [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (nº do catálogo 3561061B)

Precauções

- Respeite as Boas Práticas de Laboratório (EN ISO 7218). Proteção adequada, como luvas e jalecos, deve ser usada ao trabalhar com bactérias vivas potencialmente infecciosas
- Os meios que entraram em contato com amostras de alimentos devem ser considerados contaminados e descartados de acordo com as regras e regulamentos locais
- Para informações de segurança do produto SDS e certificado de análise, visite bio-rad.com

Controle de Qualidade

Todos os produtos fabricados e comercializados pela Bio-Rad estão sujeitos aos procedimentos de garantia de qualidade em todas as etapas, desde o recebimento da matéria-prima até a comercialização do produto final. Cada lote de produto acabado passa por um controle de qualidade de acordo com a EN ISO 11133 e é comercializado apenas quando satisfaz os critérios de aceitabilidade. A documentação relativa à produção e ao controle de qualidade de cada lote é mantida arquivada.

Protocolo

Inoculação e incubação

- Derreter o meio pronto para utilização (25 ml) e resfriar a 44–47 °C
- Acrescentar 1 gota de um dos 6 soros de salmonella anti-H para inversão de fase, correspondente à fase previamente determinada (tendo sido previamente identificada a composição dos 6 soros SGI)
- Misturar com movimentos circulares e despejar em placas de Petri
- Após a solidificação, verificar se não há condensação na superfície
- Usando uma alça de inoculação, pegar uma colônia isolada do ágar de isolamento e inocular o centro da placa de ágar de Sven Gard
- Cobrir a placa e incubar por 18 hr a 34–38 °C

Leitura e Interpretação

O antígeno H é identificado pela aglutinação da lâmina coletando a cultura da periferia da zona de invasão do meio.

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais utilizadas no presente documento são propriedade dos respectivos proprietários.

Referências

Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. (2007) Antigenic Formulae of the *Salmonella* Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris

ISO/TR 6579-3:2014. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp.

NF U47-100 July 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of *Salmonella* or search for particular serovar's in the animal production sector

NF U47-101 November 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among birds

NF U47-102 January 2008. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among mammals

World Health Organization, Salmonella fact sheet. 2018, February. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typoidal))

Histórico de Revisão

Data de lançamento	Número do documento	Alteração
Outubro de 2022	5119 Ver A	- Alteração importante - Novo design de documento - Alteração do número do documento – versão anterior: V4_12/08/11

BIO-RAD é uma marca comercial da Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas as marcas comerciais utilizadas no presente documento são propriedade dos respetivos proprietários.

Sven Gard Agar

Referencia # Descripción
3553430 **Sven Gard**, listo para usar, 25 ml x 25 tubos

Solo para uso en laboratorio.

Uso previsto

Medio para demostrar la fase no aparente del antígeno H de *Salmonella* spp. bifásica (método de Sven Gard).

Principio

Hasta la fecha se han identificado más de 2500 serotipos o serovares de *Salmonella* diferentes. La determinación de los antígenos O (somáticos) y H (flagelares) permite identificar y, por tanto, diferenciar los principales serotipos.

Los antígenos H de *Salmonella* son monofásicos (los flagelos de las bacterias que componen el cultivo tienen todos la misma especificidad, por ejemplo: S. Typhi = O:9, H:12 [Vi] d) o bifásicos (las bacterias pueden expresar alternativamente dos especificidades diferentes; los cambios de especificidad se producen por lo general con una frecuencia de 10^{-5} , por ejemplo: S. Paratyphi B = O:1,4,[5], 12 H:b:1,2 [z5], [z33]).

Si un cultivo de una cepa de *Salmonella* con un antígeno H bifásico se compone de bacterias con antígenos de fase 1 y bacterias con antígenos de fase 2 en proporciones aproximadamente iguales, puede aglutinarse con sueros anti-H de fase 1 y anti-H de fase 2 para identificación inmediata. Por otra parte, si una de las dos fases predomina notablemente sobre la otra, solo puede identificarse la fase principal. Las propiedades de inmovilización del suero anti-H se utilizan para detectar la segunda fase. Si el suero anti-H que corresponde a la especificidad de la fase ya identificada se añade al agar, y si se inocula este agar en un momento dado, se inmovilizarán todas las bacterias con un antígeno flagelado correspondiente a la especificidad del suero añadido.

Las otras, no obstante, pueden invadir el agar y se pueden identificar los factores H correspondientes a la segunda especificidad. Este método de selección por inmovilización se denomina actualmente inversión de fase. Por ejemplo, S. Paratyphi B y S. Typhimurium pertenecen ambos al grupo B del esquema de Kauffmann White (0:4). La fase 2 del antígeno H 1,2 es idéntica en estos dos serotipos. Sus cultivos no pueden distinguirse, sobre todo en la fase 2. Las bacterias con un antígeno H 1,2 tienen que inmovilizarse para obtener un cultivo de bacterias con el antígeno H por debajo de la otra fase. Este se aglutinará con un suero anti-b en el caso de S. Paratyphi B, y con un suero anti-i en el caso de S. Typhimurium.

Composición teórica

Peptonas	12,7 g
Extracto de levaduras	1,2 g
Glucosa	3,5 g
Cloruro de sodio	5 g
Agar	4,6 g
Agua destilada	1000 ml

pH final a 25 °C = 7,4 ± 0,2

Vida útil y conservación

Almacenar el medio listo para su uso a 2-8 °C en un lugar oscuro.

Materiales necesarios, pero no suministrados

Esta lista no es exhaustiva.

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.

Equipos

- Todo el equipo habitual del laboratorio
- Baño de agua con precisión $\pm 1^{\circ}\text{C}$
- Incubador o sala de incubación controlada por termostato, con precisión $\pm 1^{\circ}\text{C}$

Fungibles

- Agua destilada
- Portaobjetos de microscopio
- Asa de inoculación o pipetas Pasteur estériles
- Placas de Petri estériles
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG1 [a + b + c + z10], 3 ml (referencia #3561011B)
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG2 [d + i + e, h], 3 ml (referencia #3561021B)
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG3 [k + y + 1, v + l, w + l, z13 + l, z28], 3 ml (referencia #3561031B)
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG4 r + z], 3 ml (referencia #3561041B)
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG5 [e, n, x + e, n, z15], 3 ml (referencia #3561051B)
- Antisuero de inversión de fase de *Salmonella* SG6 [1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6], 3 ml (referencia #3561061B)

Precauciones

- Deben respetarse las buenas prácticas de laboratorio (EN ISO 7218). Usar protección adecuada, como guantes y batas de laboratorio, cuando se trabaja con bacterias vivas potencialmente infecciosas
- Los medios que han estado en contacto con muestras de alimentos deben considerarse potencialmente contaminados y deben eliminarse de conformidad con las normas y reglamentos locales
- Visite bio-rad.com para obtener información de seguridad del producto (SDS) y certificados de análisis

Control de calidad

Todos los productos fabricados y comercializados por Bio-Rad están sujetos a un protocolo de garantía de calidad en todas las etapas, desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización de los productos terminados. Cada lote de producto terminado se somete a un control de calidad según la norma EN ISO 11133 y solo se comercializa si cumple los criterios de aceptabilidad. La documentación relativa a la producción y al control de calidad de cada lote se mantiene archivada.

Protocolo

Inoculación e incubación

- Fundir el medio listo para usar (25 ml) y enfriar a 44-47 °C
- Añadir 1 gota de uno de los 6 sueros de *Salmonella* anti-H para la inversión de fase, correspondiente a la fase determinada previamente (la composición de los 6 sueros SGI que se había definido previamente)
- Mezclar con movimientos circulares y verter en placas de Petri
- Tras la solidificación, comprobar que no haya condensación en la superficie
- Con un asa de inoculación, coger una colonia aislada del agar de aislamiento e inocular el centro de la placa de agar Sven Gard
- Cubrir la placa e incubar durante 18 hr a 34-38 °C

Lectura e interpretación

El antígeno H se identifica mediante aglutinación en portaobjetos, recogiendo el cultivo de la periferia de la zona de invasión del medio.

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.

Referencias

Grimont, P.A.D. and Weill, F.X. (2007) Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th Edition, World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris

ISO/TR 6579-3:2014. Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella – Part 3: Guidelines for serotyping of *Salmonella* spp.

NF U47-100 July 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of *Salmonella* or search for particular serovar's in the animal production sector

NF U47-101 November 2007. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among birds

NF U47-102 January 2008. Animal health analysis methods – Isolation and identification of any *Salmonella* serotype or of specified salmonella serotypes among mammals

World Health Organization, Salmonella fact sheet. 2018, February. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Historial de revisiones

Fecha de publicación	Número de documento	Cambio
Octubre de 2022	5119 Ver A	<ul style="list-style-type: none">- Cambio significativo- Nuevo diseño del documento- Cambio en el número de documento – versión anterior: V4_12/08/11

BIO-RAD es una marca registrada de Bio-Rad Laboratories, Inc. Todas las marcas comerciales aquí indicadas son propiedad de sus respectivos propietarios.