# Sven Gard/Gélose

355-3430

## DOMAINE D'APPLICATION

Milieu destiné à la mise en évidence de la phase inapparente des *Salmonella* diphasiques (méthode de Sven Gard).

## REFERENCE(S) NORMATIVE(S)

• **NF U 47-100 (Juillet 2001)** : Méthodes d'analyse en santé animale - Isolement et identification des Salmonelles dans l'environnement des productions animales (IC : U 47-100).

• **NF U 47-101 (Août 2001) :** Méthode d'analyse en santé animale - Isolement et identification des Salmonelles chez les oiseaux (IC : U 47-101).

## PRINCIPE

Les antigènes H des Salmonella sont :
- soit **monophasiques**: les flagelles des bactéries composant la culture ont tous la même spécificité.
Exemple: *S. Typhi* 9,12 (Vi): d: -.

- soit **biphasiques** : les bactéries peuvent exprimer alternativement deux spécificités différentes, les changements de spécificité se produisent habituellement avec une fréquence de l'ordre de $10^{-5}$.
Exemple : *S. Paratyphi* B 1, 4, 5, 12, : b: 1,2.

Pour déterminer le sérotype d'une *Salmonella*, on recherche les facteurs antigéniques O et H. L'identification de ces derniers se fera le plus aisément par agglutination sur lame d'une culture prélevée sur un milieu gélosé, par exemple à la partie inférieure et la plus humide de la pente d'un milieu «glucose-lactose-$H_2S$», ou mieux sur une gélose molle qui permet de sélectionner les bactéries les plus mobiles, celles dont l'antigène H est le mieux développé.
Si une culture d'une souche de *Salmonella*, ayant un antigène H diphasique est composée d'une population en proportions approximativement égales de bactéries dont les antigènes H sont les uns en phase 1, les autres en phase 2, elle sera agglutinable par les sérums anti-H phase 1 et anti-H phase 2 ; le diagnostic pourra être établi immédiatement.

Si au contraire, l'une des deux phases est nettement majoritaire par rapport à l'autre, seule la phase « majoritaire » pourra être identifiée.
Pour mettre en évidence la seconde phase, on utilise les propriétés immobilisantes du sérum anti-H. Si l'on ajoute à la gélose molle le sérum anti-H correspondant à la spécificité de la phase déjà identifiée et si l'on ensemence en un point cette gélose, toutes les bactéries ayant un antigène flagellaire correspondant à la spécificité du sérum ajouté seront **immobilisées**. Les autres, au contraire, pourront envahir la gélose et on pourra identifier les facteurs H correspondant à la seconde spécificité. Cette méthode de sélection par immobilisation est couramment appelée **« inversion de phase »**.

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 est identique : 1,2 chez ces deux sérotypes.
Leurs cultures en phase 2 majoritaire 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, s'il s'agit de *S. Paratyphi B* et par le sérum anti i, s'il s'agit de *S. Typhimurium.*

## PRESENTATION

**Prêt à l'emploi**
25 ml x 25 tubes **code 355-3530**

## CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Prêt à l'emploi : à +2 -8°C et à l'obscurité.
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

## FORMULE THEORIQUE

| | |
|---|---|
| Glucose | 1 g |
| Extrait de levure | 1 g |
| Extrait de viande | 5 g |
| Bouillon trypto-caséine-soja en poudre | 30 g |
| Pastagar A | 4,6 g |
| Eau distillée | 1000 ml |

pH (25°C) final = 7,4 ± 0,2

Stérilisation à l'autoclave pendant 20 minutes à 110 °C.



**Bio-Rad**, 3 boulevard Raymond Poincaré • 92430 Marnes-la-Coquette
Tel. : +33 (0)1 47 95 60 00 • Fax : +33 (0)1 47 41 91 33
www.foodscience.bio-rad.fr

# Sven Gard/Gélose

## AUTRE(S) PRODUIT(S) NECESSAIRE(S) NON FOURNI(S)

• SG 1 = agglutinines anti a + b + c + z10 **code 356 1011**

• SG 2 = agglutinines anti d + i + e, h **code 356 1021**

• SG 3 = agglutinines anti k + y + l, v + l,w + l,z13 + l,z28 **code 356 1031**

• SG 4 = agglutinines anti r + z **code 356 1041**

• SG 5 = agglutinines anti e, n, x + e,n,z15 **code 356 1051**

• SG 6 = agglutinines anti 1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6 **code 356 1061**

## MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI (liste non exhaustive)

• Boîtes de Pétri stérile (Ø = 90 mm)
• Lames
• Oses bouclées ou pipettes Pasteur stériles
• Bain-marie avec une précision de ± 1 °C
• Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ± 1 °C
• Autoclave
• Tout matériel courant d'un laboratoire

## PROTOCOLE

Au milieu fondu (25 ml) maintenu en surfusion à 44 - 47 °C, ajouter stérilement une goutte de l'un des six sérums anti-H Salmonella pour inversion de phase, correspondant à la phase déjà déterminée (la composition des sérums SG1 à 6 étant indiquée précédemment).

Mélanger par un mouvement tournant et couler en boîtes de Pétri. Après solidification, vérifier que la surface ne présente pas de gouttelettes d'eau de condensation, puis ensemencer abondamment au centre de la boîte (une anse pleine prélevée sur milieu gélosé).
Les boîtes sont placées, couvercle en haut, 18 heures à l'étuve à 37 °C.

L'identification de l'antigène H est effectuée par agglutination sur lames, en prélevant la culture à la périphérie de la zone d'envahissement du milieu.

## PRECAUTION D'EMPLOI

Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoires.

## PERFORMANCES/CONTROLE QUALITE DU TEST

Les performances culturales sont contrôlées à l'aide des souches suivantes :

| MICRO-ORGANISMES | Culture des micro-organismes en 24 heures à 37 °C |
|---|---|
| **Gélose Sven-Gard sans serum** | |
| *Salmonella enteritidis* | Envahissement |
| *Salmonella typhimurium* | Envahissement |
| *Salmonella anatum* | Envahissement |
| *Salmonella abortus equi* | Envahissement |
| **Sven-Gard agar with serum for phase inversion** | |
| *Salmonella typhimurium* | Mise en évidence de la phase inapparente |
| *Salmonella anatum* | |

## CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.
Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée.

## MOTS CLES

Sven Gard / *Salmonella* / Antigène H / Milieu.



**Bio-Rad**, 3 boulevard Raymond Poincaré • 92430 Marnes-la-Coquette
Tel. : +33 (0)1 47 95 60 00 • Fax : +33 (0)1 47 41 91 33
www.foodscience.bio-rad.fr