

---

# ***Salmonella* Antisera**

## **User Guide**

**Test for the serological identification of O and H antigens in *Salmonella* spp.**

For in vitro testing only.



# Table of Contents

Section 1	Introduction.....	1
Section 2	<i>Salmonella</i> Antiserum Principle .....	2
Section 3	Kit Components.....	3
Section 4	Shelf Life and Storage.....	4
Section 5	Materials Required but Not Supplied.....	5
	Equipment .....	5
	Supplies.....	5
Section 6	Precautions, Limitations of Use, and Quality Control .....	5
Section 7	Protocol .....	6
	A. Slide Agglutination .....	6
	B. Phase Inversion .....	7
	C. Interpretation of Results.....	7
Section 8	Test Performance .....	8
Section 9	Most Frequently Isolated Serotypes .....	9
Section 10	References .....	11
Section 11	Revision History.....	11

# Section 1

## Introduction

Pure colonies showing typical biochemical reactions for *Salmonella* are tested for the presence of *Salmonella* O and H antigens by slide agglutination using *Salmonella* antisera (and if necessary, also for Vi antigen). Strains that auto-agglutinate cannot be tested.

*Salmonellae* are gram-negative, non-spore-forming, rod-shaped bacteria that are predominantly motile, with only a few exceptions. *Salmonella* has been one of the two most frequently reported causes of bacterial foodborne illness. Common symptoms of salmonellosis include diarrhea, fever, and abdominal cramps occurring 12–72 hr after infection.

The *Salmonella* genus includes two species: *S. bongori* (>20 serotypes) and *S. enterica* (>2,500 serotypes).

The *S. enterica* species is divided into 6 subspecies:

- *S. enterica* subsp. *enterica* (I or 1)
- *S. enterica* subsp. *salamae* (II or 2)
- *S. enterica* subsp. *arizonae* (IIIa or 3a)
- *S. enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb or 3b)
- *S. enterica* subsp. *houtenae* (IV or 4)
- *S. enterica* subsp. *indica* (VI or 6).

Serotypes of the *enterica* subspecies represent 99.5% of isolated strains. In the Kauffmann-White scheme, the serotypes are classified according to the combination of somatic antigens (O) and flagellar antigens (H) of *Salmonella*. This antigenic formula is determined by using agglutinating sera (anti-O and anti-H).

### Group O designation

Group O sero, the first to be individualized, were designated by letters of the alphabet, but it was subsequently necessary to continue by using numbers. It is now more logical to designate each group O by the characteristic O factor.

### Equivalence between Alphabetical Nomenclature and Characteristic O Factor

Group Alphabetical	Group O Antigen	Group Alphabetical	Group O Antigen	Group Alphabetical	Group O Antigen
A	2	G <sub>1</sub> – G <sub>2</sub>	13	Q	39
B	4	H	6,14	R	40
C <sub>1</sub> –C <sub>4</sub>	6,7	I	16	S	41
C <sub>2</sub> -C <sub>3</sub>	8	J	17	T	42
D <sub>1</sub>	9	K	18	U	43
D <sub>2</sub>	9,46	L	21	V	44
D <sub>3</sub>	9,46,27	M	28	W	45
E <sub>1</sub> -E <sub>2</sub> -E <sub>3</sub>	3,10	N	30	X	47
E <sub>4</sub>	1,3,19	O	35	Y	48
F	11	P	38	Z	50

*Salmonella* (anti-O and anti-H) antisera are designed for serological identification of cultures of *Salmonella* for epidemiological purposes using the slide agglutination method.

## Section 2

# **Salmonella Antisera Principle**

The test is based on agglutination, by specific antisera (anti-O and anti-H), of bacteria possessing the corresponding antigens. These antisera are obtained by immunizing rabbits with selected strains of *Salmonella*. Monovalent sera are adsorbed to increase their specificity. They are membrane filtered and sodium azide is added at a concentration of 0.1%.

### **Sera for Slide Agglutination**

#### ▪ **O sera**

- Polyvalent O sera to guide serotyping

These polyvalent O sera are not adsorbed. They are designed to guide serotyping and are recommended for the detection of *Salmonella* in food products and the environment. The majority (about 98%) of *Salmonella* encountered in warm-blooded animals possess an O antigen corresponding to the agglutinins contained in OMA and OMB sera.

- O sera for determination of the antigenic formula

These sera are designed for identification of group O. They must be used successively in a logical order (polyvalent then group-specific monovalent, etc.), possibly based on particular biochemical characters (for example, serotypes Typhi and Paratyphi A). Secondary O factors are investigated only at a later stage. For example:

- Factors O:7 and O:8 are tested only when agglutination is observed in O:6,7,8 sera
- Factor O:15 is tested only when agglutination is observed in O:3,10,15 sera

Only agglutination with monovalent O sera allows identification of group O.

- Anti-Vi serum

The Vi antigen is a heat-labile surface antigen that can mask somatic antigenic activity. It is mainly expressed by *Salmonella* Typhi strains and more rarely by *Salmonella* Paratyphi C strains. *Salmonella* possessing this antigen are not agglutinated by O antisera. When a strain does not agglutinate either the OMA or the OMB polyvalent antisera, it is recommended to test this strain with Vi serum. If a positive reaction is observed, the bacterial suspension must then be heated to 100°C for 30 min before repeating the test with polyvalent OMA and OMB sera and the corresponding monovalent sera.

#### ▪ **H sera**

- H sera to guide serotyping

Like specific O sera, H sera are especially useful when diverse serotypes must be identified (food bacteriology, environmental bacteriology)

- H sera for determination of the antigenic formula

These sera must be used according to the same logic as for O sera. For example:

- H:2, H:5, H:6, H:7 monovalent sera are used when agglutination is observed with H1 polyvalent serum
- z10 and z15 monovalent sera are used when agglutination is observed with HE polyvalent serum

### **Phase Inversion Sera**

#### ▪ **Anti-H phase inversion sera (Sven Gard method):**

If the bacterial population presents a balanced distribution of phases 1 and 2 of the H antigen, the bacteria can be detected, allowing identification of the serotype. If, on the contrary, only one of the two phases of the H antigen can be identified, the specificity of the second phase must be determined by using Sven

Gard phase inversion agar with the addition of a drop of SG antiserum containing the agglutinin of the phase already determined. Sven Gard medium is a sufficiently soft agar to allow a mobile *Salmonella*, inoculated in the center of a Petri dish, to invade the surface of the medium after an overnight incubation.

## Section 3 Kit Components

Each antiserum is supplied in 3 ml ready-to-use dropper bottles (60 tests).

### O Sera

Polyvalent Serum	Contains Agglutinins for Groups	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> Omni-O	A-60	3560781B

#### Polyvalent O Sera to Guide Serotyping

Polyvalent Sera	Contains Agglutinins	Corresponding Somatic Antigen	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMA	A, B, D, E, L	1,2,12 + 4, 5,12 + 9,12 + 9,46 + 3,10 + 3,15 + 1,3,19 + 21	3560801B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMB	C, F, G, H	6,7 + 6, 8 + 11 + 13,22 + 13,23 + 6,14, 24 + 8,20	3560811B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMC	I, J, K, M, N, O, P	16 + 17 + 18 + 28 + 30 + 35 + 38	3560821B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMD	Q, R, S, T, U, V, W	39 + 40 + 41 + 42 + 43 + 44 + 45	3560831B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OME	X, Y, Z, 51-53, 61	47 + 48 + 50 + 51 + 52 + 53 + 61	3560841B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMF		54 + 55 + 56 + 57 + 58 + 59	3560851B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMG		60 + 62 + 63 + 65 + 66 + 67	3560861B

#### Monovalent Serum for Identification of Capsular Antigen

Monovalent Serum	Contains Agglutinins	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> Vi monovalent	Vi capsular antigen	3560951B

#### Monovalent Sera for Determination of Antigenic Formula

Monovalent Sera	Group	Catalog #	Monovalent Sera	Group	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:1,2	A	3559031B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:3,10,15	E <sub>1</sub>	3559112B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:4,5	B	3559021B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:15		3559127B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:6,7,8	C	3559062B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:1,3,19	E <sub>4</sub>	3559131B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:7	C <sub>1</sub>	3559081B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:11	F	3559141B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:8	C <sub>2</sub> -C <sub>3</sub>	3559091B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:13,22,23	G	3559162B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:9	D	3559101B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:6,14,24		3559171B

### H Sera

#### Polyvalent Sera to Guide Serotyping

Polyvalent Sera	Corresponding Flagellar Antigen	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMA	a + b + c + d + i + z10 + z29	3560451B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMB	e, h + e, n, x + e, n, z15 + G	3560461B

## Section 4 Shelf Life and Storage

Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMC	k + y + z + L + Z4 + r	3560471B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMD	z35 + z36 + z38 + z39 + z41 + z42 + z44 + z60	3560481B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMIII H factors of subspecies III (Arizona)	z52 + z53 + z54 + z55 + z57 + z61	3560493B

### Polyvalent Sera for Determination of Antigenic Formula

Polyvalent Sera	Corresponding Flagellar Antigen	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent H1	1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6	3560401B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HL	l, v + l, w + l, z13 + l, z28 + l, z40	3560411B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HE	e, h + e, n, x + e, n, z15	3560391B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HZ4	z4, z23 + z4, z24 + z4, z32	3560431B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HG	f, g + g, p + g, m, s + g, m + m, t	3560441B

### Monovalent Sera for Determination of Antigenic Formula

Monovalent Sera	Catalog #	Monovalent Sera	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:a	3560111B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:r	3560201B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:b	3560121B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:v	3561115B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:c	3560131B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:w	3561116B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:d	3560141B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:x	3561123B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:g, m	3561121B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:y	3560211B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:g, p	3561122B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:z	3560221B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:h	3561119B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:z10	3560241B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:i	3560161B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:2	3561111B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:k	3560171B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:5	3561112B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:m	3561117B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:6	3561113B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:p	3561118B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:7	3561114B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:q	3561124	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:s	3560202

### Anti-H Phase Inversion Sera (Sven Gard Method)

Polyvalent Sera	Agglutinins	Catalog #
Antiserum <i>Salmonella</i> SG1	a + b+ c+ z10	3561011B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG2	d + i + e, h	3561021B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG3	k + y + l, v + l, w + l, z13 + l, z28	3561031B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG4	r + z	3561041B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG5	e, n, x + e, n, z15	3561051B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG6	1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6	3561061B

## Section 4 Shelf Life and Storage

Antisera stored at 2–8°C in the absence of contamination are stable until the expiration date on the bottle, even when previously opened.

## Section 5

### Materials Required but Not Supplied

#### Equipment

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

#### Supplies

- Glass slides
- Nonselective agar medium
- Physiological saline
- Plastic or platinum inoculation loop
- Sterile Petri dishes
- Sven Gard medium (for example, Bio-Rad catalog #3553430, 25 ml x 25 tubes)

## Section 6

### Precautions, Limitations of Use, and Quality Control

#### 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 such as *Salmonella*
- 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
- These products contain <0.1% sodium azide. Sodium azide can react with lead or copper present in the plumbing, forming explosive metallic azides. When eliminating these reagents, rinse abundantly with water to avoid the formation of azide deposits
- Do not dilute reagents
- The product contains animal source materials; handle with care
- A precipitate may be observed in the *Salmonella* Omni-O antiserum. It does not affect the performance of the product. To avoid confusion between the colonies and the antiserum when reading the reaction, it is preferable to have a comparative reading with a drop of *Salmonella* Omni-O antiserum without sample. Any positive reaction is visualized by agglutination

## Limitations of Use

- Identification of the bacterial species must be performed before serotyping
- *Salmonella* Omni-O antiserum (A–60) is specific for O-agglutinable *Salmonellae* belonging to groups A–60. However, cross reactions are possible with the *Escherichia*, *Shigella*, *Citrobacter*, and *Proteus* genera due to the partial antigenic identity of those bacteria. This serum is designed for epidemiology studies. When a positive result is obtained, species identification must be confirmed before performing serotyping with specific sera. Identification of *Salmonella* must never be based exclusively on the use of *Salmonella* Omni-O antiserum (A–60)
- When a strain does not agglutinate either the OMA or the OMB polyvalent antisera, it is recommended to test this strain with Vi serum
- *S. Typhi* V form is O-non-agglutinable when alive and becomes O-agglutinable only after heating of the suspension. In the case of a presumptive identification of this serotype, perform a test with Vi serum
- Only complete serotyping of O and H antigens allows a definitive serological identification
- These products are not authorized for locally regulated applications. Please consult your local regulations and regulatory requirements for the intended application

## 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.

For SDS product safety information and certificate of analysis, visit [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## Section 7 Protocol

It is strongly recommended to read the entire protocol before starting the test.

### A. Slide Agglutination

Serotyping is performed after species identification on a pure, fresh culture of *Salmonella* isolated on nonselective agar medium. To perform a control test on the strain to be tested in physiological saline, suspend one loop of *Salmonella* culture in a drop of physiological saline on a glass slide, ensuring a homogeneous suspension. No agglutination should be observed with physiological saline (60 sec maximum). If agglutination is observed, it corresponds to a self-agglutinating strain and the test with antisera cannot be performed.

Start by testing agglutination with polyvalent sera then with specific sera corresponding to the combination giving marked agglutination (polyvalent O and monovalent O, then polyvalent H and monovalent H). It is strongly recommended to test in a proper sequence; OMA must be used first, then depending on the obtained results, continue with OMB, then OMC polyvalent sera.

1. Deposit 1 drop of antiserum on the glass slide.
2. Take 1 loop of *Salmonella* culture (from the wettest zone of the culture, to detect H antigens).



3. Suspend bacteria in the drop of antiserum, ensuring a homogeneous suspension and gradually adding bacteria to the serum.
4. Gently rotate the slide with circular movement.
5. Examine the mixture with the naked eye over a dark surface or over a concave mirror.

## B. Phase Inversion

1. Add 1 drop of SG serum containing the agglutinin of the phase already determined to molten Sven Gard agar cooled to 45°C.
2. Rotate the medium with circular movement to ensure homogeneous mixing of the serum, then pour into a petri dish.
3. If any drops of condensation remain on the surface after solidification, dry the agar with the cover half-open.
4. Inoculate the center of the petri dish with 3–4 *Salmonella* colonies from a pure, fresh culture previously isolated on nonselective agar medium.
5. Incubate at 37°C for 18 hr with the petri dish facing up.
6. Observe for agglutination with anti-H sera at the periphery of the zone of invasion of the agar (according to the procedure described in Section 7A Slide Agglutination).

Example: O:4,5 and H:1,2 antigens were identified in a *Salmonella* to be examined. SG6 (1,2 + 1,5 + 1,7 + z6) serum is used for phase inversion. On the following day, agglutination with:

- anti H: i serum indicates the presence of *Salmonella* Typhimurium (O: 1, 4, [5], 12 H: i :1,2)
- anti H: b serum indicates the presence of *Salmonella* Paratyphi B (O: 1, 4, [5], 12 H: b :1,2)

## C. Interpretation of Results

1. For *Salmonella* Omni-O antiserum, a positive reaction corresponds to visible agglutination with the antiserum in less than 30 sec. When the reaction is delayed or when the suspension retains a homogeneous, milky appearance, the result is negative. Agglutination of a strain of *Salmonella* with Omni-O antiserum indicates that the strain is O-agglutinable and can be serotyped with specific sera (polyvalent then monovalent).
2. For the other polyvalent and monovalent *Salmonella* antisera, a positive reaction corresponds to the appearance of agglutination in a maximum of 1 min. O agglutination is fine and regular and can be very easily distinguished from poorly emulsified fragments of bacterial colonies
3. Any O-agglutinable culture of *Salmonella* will be immediately agglutinated in one of the polyvalent sera. More delayed and less intense co-agglutination may be observed in one or several other sera.
4. HMA, HMB, HMC, and HMD sera do not contain O agglutinins, but O agglutinins persist in HM III serum. If a culture is agglutinated by this serum, the true nature of the H agglutination can be confirmed by adding 1 drop of HMIII serum to 1 ml of bacterial suspension. After 2 hr in a 37°C water bath, flocculent agglutination is observed if the strain possesses an antigen corresponding to the antibody of this serum.

## Section 8 Test Performance

5. A strain that possesses the H:g factor is agglutinated by H:g,m serum as well as H:g,p serum.
6. The H1 serum is used to detect a strain with the H antigen in nonspecific phase 2 (1, 2 or 1, 5 or 1, 7).

## Section 8 Test Performance

The activity of *Salmonella* Omni-O omnivalent antiserum (A-60) is controlled using the following positive strains:

- *Salmonella* Typhimurium O:4,5 (group B)
- *Salmonella* Infantis O:6,7 (group C<sub>1</sub>)
- *Salmonella* Enteritidis O:9 (group D<sub>1</sub>)
- *Salmonella* London O:3,10 (group E<sub>1</sub>)

The activity of *Salmonella* polyvalent and monovalent antisera is controlled using the following positive strains:

### O Sera

Serum	Strain	Antigenic Structure
OMA	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a: [1,5])
OMB	Newport	(O:6,8,20 H:e,h: 1,2 [z67])
OMC	Tel Aviv	(O:28 H:y: e,n,z15)
OMD	Champaign	(O:39 H:k :1,5)
OME	Bergen	(O:47, H: i: e,n,z15)
OMF	Uccle	(O:3,54 H:g,s,t: -)
OMG	Illa (Arizona)	(O:63 H:g, z51: -)
O:1, 2	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a: [1,5])
O:4, 5	Typhimurium	(O:1,4,[5],12 H:i :1,2)
O:6, 7, 8	Newport	(O:6,8,20 H:e,h :1,2 [z67])
O:7	Braenderup	(O:6,7,14 H: e,h: e,n,z15)
O:8	Blockley	(O:6,8 H:k: 1,5)
O:9	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m: -)
O:3, 10, 15	London	(O:3,10 [15] H:l,v: 1,6)
O:15	Newington	(O:3,15 H:e,h:1,6)
O:1, 3, 19	Senftenberg	(O:1,3,19 H:g,[s],t: -)
O:11	Aberdeen	(O:11 H:i: 1,2)
O:13, 22, 23	Grumpensis	(O:1,13,23 H:d :1,7)
O:6, 14, 24	Carrau	(O:6,14,[24] H:y :1,7)

### Vi Serum

Serum	Strain	Antigenic Structure
Vi	Typhi	(O:9,12,[Vi] H:d : -)

### Phase Inversion Sera

Serum	Strain	Antigenic Structure
SG 1	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a: [1,5])
SG 2	Newport	(O:6,8,20 H:e,h :1,2 [z67])

SG 3	Thompson	(O:6,7,14 H:k :1,5)
SG 4	Heidelberg	(O:1,4,[5],12 H:r :1,2)
SG 5	Abortusequi	(O:4,12 H: -: e,n,x)
SG 6	Typhimurium	(O:1,4,[5],12 H:i :1,2)

## H Sera

Serum	Strain	Antigenic Structure
HMA	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a : [1,5])
HMB	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
HMC	Blockley	(O:6,8 H:k : 1,5)
HMD	Fresno	(O:9,46 H:z38 : -)
HM III	IIIb (Arizona)	(O:65 H:c: z53)
H1	Bovismorbificans	(O:6,8,20 H:r,[i] : 1,5)
HL	Livingstone	(O:6,7,14 H:d : l,w)
HE	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2)
HZ4	Dusseldorf	(O:6,8 H:z4,z24 : -)
HG	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
a	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a : [1,5])
b	Paratyphi B	(O:1,4,[5],12 H:b : 1,2)
c	Paratyphi C	(O:6,7, [Vi] H:c : 1,5)
d	Livingstone	(O:6,7,14 H:d : l,w)
g, m	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
g, p	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
h	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2 [z67])
i	Typhimurium	(O:1,4,[5],12 H:i : 1,2)
k	Blockley	(O:6,8 H:k : 1,5)
m	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
p	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
r	Infantis	(O:6,7,14 H:r : 1,5)
v	London	(O:3,10 [15] H:l,v : 1,6)
w	Meleagridis	(O:3,10 [15] [15, 34] H:e,h : l,w)
x	Abony	(O:1,4,[5],12,27 H:b : e,n,x)
y	Carrau	(O:6,14,[24] H:y :1,7)
z	Worthington	(O:1,13,23 H:z : l,w)
z10	Lexington	(O:3,10,[15] [15,34] H:z10 : 1,5)
2	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2 [z67])
5	Infantis	(O:6,7,14 H:r : 1,5)
6	London	(O:3,10 [15] H:l,v : 1,6)
7	Carrau	(O:6,14,[24] H:y :1,7)

## Section 9 Most Frequently Isolated Serotypes

Strain	O <sup>1,2,3</sup>	H Phase 1	H Phase 2
<b>Group O:4 (B)</b>			
Abony	1, 4, [5], 12, [27]	b	e, n, x

## Section 9 Most Frequently Isolated Serotypes

Agona	<u>1</u> , 4, [5], 12	f, g, s	[1,2]
Brandenburg	4, [5], 12	l, v	e, n, z15
Bredeney	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	l, v	1,7
Coeln	<u>1</u> , 4, [5], 12	y	1,2
Derby	<u>1</u> , 4, [5], 12	f, g	[1,2]
Heidelberg	<u>1</u> , 4, [5], 12	r	1,2
Indiana	<u>1</u> , 4, 12	z	1,7
Paratyphi B	<u>1</u> , 4, [5], 12	b	1,2
Saint Paul	<u>1</u> , 4, [5], 12	e, h	1,2
Schwarzengrund	<u>1</u> , 4, 12, 27	d	1,7
Stanley	<u>1</u> , 4, [5], 12, [27]	d	1,2
Typhimurium <sup>4</sup>	<u>1</u> , 4, [5], 12	i	1,2
<b>Group O:3,10 - 3,15 (E<sub>1</sub>-E<sub>2</sub>)</b>			
Anatum	3, {10} {15} {15, 34}	e, h	1, 6
London	3, {10} {15}	l, v	1, 6
Meleagridis	3, {10} {15} {15, 34}	e, h	l, w
Muenster	3, {10} {15} {15, 34}	e, h	1, 5
<b>Group O:1,3,19 (E<sub>4</sub>)</b>			
Senftenberg	1, 3, 19	g, [s], t	-
<b>Group O:2 (A)</b>			
Paratyphi A	<u>1</u> , 2, 12	a	[1, 5]
<b>Group O:9 (D<sub>1</sub>)</b>			
Dublin	<u>1</u> , 9, 12 [Vi]	g, p	
Enteritidis <sup>4</sup>	<u>1</u> , 9, 12	g, m	-
Napoli	<u>1</u> , 9, 12	l, z <sub>13</sub>	e, n, x
Panama	<u>1</u> , 9, 12	l, v	1, 5
Typhi	9, 12, [Vi]	d	-
<b>Group O:7 (C<sub>1</sub>)</b>			
Braenderup	6, 7, <u>14</u>	e, h	e, n, z <sub>15</sub>
Infantis	6, 7, <u>14</u>	r	1, 5
Livingstone	6, 7, <u>14</u>	d	l, w
Mbandaka	6, 7, <u>14</u>	z <sub>10</sub>	e, n, z <sub>15</sub>
Montevideo	6, 7, <u>14</u> , [54]	g, m, [p], s	[1, 2, 7]
Ohio	6, 7, <u>14</u>	b	l, w
Thompson	6, 7, <u>14</u>	k	1, 5
Virchow	6, 7, <u>14</u>	r	1, 2

<b>Group O:8 (C<sub>2</sub> - C<sub>3</sub>)</b>			
Blockley	6, 8	k	1,5
Bovismorbificans	6, 8, <u>20</u>	r, [i]	1,5
Gold coast	6, 8	r	l, w
Hadar	6, 8	z <sub>10</sub>	e, n, x
Kottbus	6, 8	e, h	1, 5
Litchfield	6, 8	l, v	1, 2
Muenchen	6, 8	d	1, 2
Newport	6, 8, <u>20</u>	e, h	1, 2

<sup>1</sup>Underlined O factors determined by phage conversion are present only when the culture is lysogenized by the corresponding converting phage.

<sup>2</sup>Factors shown in brackets are chromosomally determined factors that can be present or absent without changing the serotype identification.

<sup>3</sup>O-factors shown in curly brackets are exclusive. They cannot coexist with other factors in curly brackets.

<sup>4</sup>Enteritidis and Typhimurium are the most frequently isolated strains.

## Section 10

### References

Grimont P and Weill FA (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating Centre of Reference and Research on *Salmonella*. 9<sup>th</sup> Ed.

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

## Section 11

### Revision History

<b>Release date</b>	<b>Document number</b>	<b>Change</b>
May 2023	3527 Ver A	- New document design - Document number change (previous version 0001146 2021/01)

## Section 11 Revision History

Visit [www.bio-rad.com/antisera](http://www.bio-rad.com/antisera) for more information on our complete range of antisera.

BIO-RAD is a trademark of Bio-Rad Laboratories, Inc. All trademarks used herein are the property of their respective owner.  
© 2023 Bio-Rad Laboratories, Inc.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

**Website** [bio-rad.com](http://bio-rad.com) **USA** 1 800 424 6723 **Australia** 61 2 9914 2800 **Austria** 00 800 00 24 67 23 **Belgium** 00 800 00 24 67 23  
**Brazil** 4003 0399 **Canada** 1 905 364 3435 **China** 86 21 6169 8500 **Czech Republic** 00 800 00 24 67 23 **Denmark** 00 800 00 24 67 23  
**Finland** 00 800 00 24 67 23 **France** 00 800 00 24 67 23 **Germany** 00 800 00 24 67 23 **Hong Kong** 852 2789 3300  
**Hungary** 00 800 00 24 67 23 **India** 91 124 4029300 **Israel** 0 3 9636050 **Italy** 00 800 00 24 67 23 **Japan** 81 3 6361 7000  
**Korea** 82 080 007 7373 **Luxembourg** 00 800 00 24 67 23 **Mexico** 52 555 488 7670 **The Netherlands** 00 800 00 24 67 23  
**New Zealand** 64 9 415 2280 **Norway** 00 800 00 24 67 23 **Poland** 00 800 00 24 67 23 **Portugal** 00 800 00 24 67 23  
**Russian Federation** 00 800 00 24 67 23 **Singapore** 65 6415 3188 **South Africa** 00 800 00 24 67 23 **Spain** 00 800 00 24 67 23  
**Sweden** 00 800 00 24 67 23 **Switzerland** 00 800 00 24 67 23 **Taiwan** 886 2 2578 7189 **Thailand** 66 2 651 8311  
**United Arab Emirates** 36 1 459 6150 **United Kingdom** 00 800 00 24 67 23

Bulletin 3527 Ver A US/EG

Sig 0123

---

# ***Salmonella* Antisera**

## **Guide d'utilisation**

**Test pour le sérotypage des antigènes O et H des souches de *Salmonella* spp.**

Réservé aux tests *in vitro*.



# Sommaire

Section 1	Introduction.....	1
Section 2	Principe du test <i>Salmonella</i> Antisera.....	2
Section 3	Composants du kit.....	3
Section 4	Durée de conservation et stockage.....	4
Section 5	Matériel requis non fourni.....	5
	Matériel.....	5
	Produits.....	5
Section 6	Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité.....	5
	Précautions.....	5
	Limites d'utilisation.....	6
	Contrôle qualité.....	6
Section 7	Protocole.....	6
	A. Agglutination sur lame.....	6
	B. Inversion de phase.....	7
	C. Interprétation des résultats.....	7
Section 8	Performance de test.....	8
Section 9	Sérotypes les plus fréquents.....	10
Section 10	Références.....	11
Section 11	Historique des révisions.....	12



# Section 1

## Introduction

Des colonies pures présentant des réactions biochimiques caractéristiques des *Salmonella* sont testées par agglutination sur lame à l'aide d'antisérums *Salmonella* en vue de détecter la présence des antigènes O et H (et si nécessaire, également en vue de détecter l'antigène Vi). Les souches qui s'auto-agglutinent ne peuvent pas être testées.

Les salmonelles sont des bactéries à Gram négatif, non sporulées en forme de bâtonnets, le plus souvent mobiles à quelques exceptions près. Elles sont l'une des causes les plus fréquemment rencontrées de pathologies bactériennes transmises par les aliments. Les symptômes courants de salmonellose incluent la diarrhée, la fièvre et des crampes abdominales, apparaissant de 12 à 72 hr après l'infection.

Le genre *Salmonella* comprend deux espèces : *S. bongori* (plus de 20 sérovars) et *S. enterica* (plus de 2 500 sérovars).

L'espèce *S. enterica* est divisée en 6 sous-espèces :

- *S. enterica* sous-esp. *enterica* (I ou 1)
- *S. enterica* sous-esp. *salamae* (II ou 2)
- *S. enterica* sous-esp. *arizonae* (IIIa ou 3a)
- *S. enterica* sous-esp. *diarizonae* (IIIb ou 3b)
- *S. enterica* sous-esp. *houtenae* (IV ou 4)
- *S. enterica* sous-esp. *indica* (VI ou 6).

Les sérovars de la sous-espèce *enterica* représentent 99,5 % des souches isolées. Dans le schéma de Kauffmann-White, les sérovars sont classés en fonction de la combinaison des antigènes somatiques (O) et flagellaires (H) de *Salmonella*. Cette formule antigénique est déterminée à l'aide des sérums agglutinants (anti-O et anti-H).

### Désignation du groupe O

Les sérovars du groupe O, les premiers individualisés, ont été désignés par des lettres de l'alphabet. Puis, il a été nécessaire de poursuivre avec des chiffres. Actuellement, il est plus logique de désigner chaque groupe O par le facteur O caractéristique.

### Équivalence entre la nomenclature alphabétique et le facteur O caractéristique

Groupe alphabétique Nomenclature	Antigène du groupe O	Groupe alphabétique Nomenclature	Antigène du groupe O	Groupe alphabétique Nomenclature	Antigène du groupe O
A	2	G <sub>1</sub> – G <sub>2</sub>	13	Q	39
B	4	H	6,14	R	40
C <sub>1</sub> –C <sub>4</sub>	6,7	I	16	S	41
C <sub>2</sub> -C <sub>3</sub>	8	J	17	T	42
D <sub>1</sub>	9	K	18	U	43
D <sub>2</sub>	9,46	L	21	V	44
D <sub>3</sub>	9,46,27	M	28	W	45
E <sub>1</sub> -E <sub>2</sub> -E <sub>3</sub>	3,10	N	30	X	47
E <sub>4</sub>	1,3,19	O	35	Y	48
F	11	P	38	Z	50

Les antisérums *Salmonella* (anti-O et anti-H) sont destinés à l'identification sérologique des cultures de *Salmonella* par la méthode d'agglutination sur lame, à des fins épidémiologiques.

## Section 2

# Principe du test *Salmonella* Antisera

Le test repose sur l'agglutination, par antisérums spécifiques (anti-O et anti-H), de bactéries possédant les antigènes correspondants. Ces antisérums sont obtenus par immunisation de lapins avec des souches *Salmonella* spécifiques. Les sérums monovalents sont adsorbés afin d'augmenter leur spécificité. Ils sont filtrés sur membrane et additionnés d'azoture de sodium à une concentration de 0,1 %.

### Sérums pour agglutination sur lame

#### ▪ Sérums O

- Sérums polyvalents O pour l'orientation du sérotypage  
Les sérums polyvalents O ne sont pas adsorbés. Ils sont destinés à orienter le typage et recommandés pour la détection des salmonelles dans les produits alimentaires et les échantillons environnementaux. La majorité (environ 98 %) des salmonelles rencontrés chez les animaux à sang chaud possède un antigène O correspondant aux agglutinines contenues dans les sérums OMA et OMB.
- Sérums O pour la détermination de la formule antigénique  
Ces sérums sont destinés à l'identification du groupe O. Ils doivent être utilisés successivement dans un ordre logique (polyvalent, puis monovalent spécifique du groupe, etc.), éventuellement en fonction de caractères biochimiques particuliers (par exemple, sérotypes Typhi et Paratyphi A). Les facteurs O secondaires ne seront recherchés que dans un deuxième temps. Par exemple, on ne recherchera :
  - les facteurs O:7 et O:8 que si l'on observe une agglutination dans le sérum O:6,7,8.
  - le facteur O:15 que si l'on observe une agglutination dans le sérum in O:3,10,15.

Seule l'agglutination avec les sérums monovalents O permet l'identification du groupe O.

- Sérum anti-Vi  
L'antigène Vi est un antigène de surface thermolabile pouvant masquer l'activité antigénique somatique. Il est principalement exprimé par les souches *S. Typhi*, plus rarement par les souches *S. Paratyphi C*. Les salmonelles possédant cet antigène n'agglutinent pas avec les antisérums O. Lorsqu'une souche n'agglutine ni l'antisérum polyvalent OMA ni l'antisérum polyvalent OMB, il est recommandé de tester cette souche avec le sérum Vi. Si la réaction est positive, il faut alors chauffer la suspension bactérienne à 100 °C pendant 30 min avant de tester à nouveau les sérums polyvalents OMA et OMB, puis les sérums monovalents correspondants.

#### ▪ Sérum H

- Sérums H pour l'orientation du typage  
Tout comme les sérums O spécifiques, les sérums H sont utiles lorsqu'il s'agit d'identifier des sérotypes très divers (bactériologie alimentaire ou environnementale).
- Sérums H pour la détermination de la formule antigénique  
L'utilisation de ces sérums suivra la même logique que pour les sérums O. Par exemple, on utilisera :
  - les sérums monovalents H:2, H:5, H:6, H:7 si l'on observe une agglutination dans le sérum polyvalent H1.
  - les sérums monovalents z10 et z15 si l'on observe une agglutination dans le sérum polyvalent HE.

## Sérum pour inversion de phase

### ▪ Sérums anti-H pour inversion de phase (méthode Sven Gard) :

Si la population bactérienne présente un équilibre entre phases 1 et 2 de l'antigène H, il est possible de détecter les bactéries et de procéder à l'identification des sérovars. Si, au contraire, seule une des deux phases de l'antigène H peut être identifiée, il convient de déterminer la spécificité de la seconde phase en utilisant la gélose Sven Gard pour inversion de phase additionnée d'une goutte d'antisérum SG contenant l'agglutinine de la phase déjà déterminée. Le milieu Sven Gard est une gélose suffisamment molle pour qu'une *Salmonella* mobile, ensemencée au centre d'une boîte de Petri, envahisse la surface du milieu après une nuit d'incubation.

## Section 3 Composants du kit

Chaque antisérum est fourni dans un flacon compte-gouttes prêt à l'emploi de 3 ml (60 tests).

### Sérums O

Sérum polyvalent	Contient les agglutinines des groupes	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> Omni-O	A-60	3560781B

### Sérums O polyvalents pour l'orientation du typage

Sérums polyvalents	Contient les agglutinines	Antigène somatique correspondant	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMA	A, B, D, E, L	1,2,12 + 4, 5,12 + 9,12 + 9,46 + 3,10 + 3,15 + 1,3,19 + 21	3560801B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMB	C, F, G, H	6,7 + 6, 8 + 11 + 13,22 + 13,23 + 6,14, 24 + 8,20	3560811B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMC	I, J, K, M, N, O, P	16 + 17 + 18 + 28 + 30 + 35 + 38	3560821B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMD	Q, R, S, T, U, V, W	39 + 40 + 41 + 42 + 43 + 44 + 45	3560831B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OME	X, Y, Z, 51-53, 61	47 + 48 + 50 + 51 + 52 + 53 + 61	3560841B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMF		54 + 55 + 56 + 57 + 58 + 59	3560851B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent OMG		60 + 62 + 63 + 65 + 66 + 67	3560861B

### Sérum monovalent pour l'identification de l'antigène capsulaire

Sérum monovalent	Contient des agglutinines	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> Vi monovalent	Antigène capsulaire Vi	3560951B

### Sérums monovalents pour la détermination de la formule antigénique

Sérum monovalents	Groupe	N° de référence	Sérum monovalents	Groupe	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:1,2	A	3559031B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:3,10,15	E <sub>1</sub>	3559112B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:4,5	B	3559021B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:15		3559127B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:6,7,8	C	3559062B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:1,3,19	E <sub>4</sub>	3559131B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:7	C <sub>1</sub>	3559081B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:11	F	3559141B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:8	C <sub>2</sub> -C <sub>3</sub>	3559091B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:13,22,23	G	3559162B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:9	D	3559101B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent O:6,14,24		3559171B

## Sérums H

### Sérums polyvalents pour l'orientation du typage

Sérums polyvalents	Antigène flagellaire correspondant	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMA	a + b + c + d + i + z10 + z29	3560451B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMB	e, h + e, n, x + e, n, z15 + G	3560461B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMC	k + y + z + L + Z4 + r	3560471B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMD	z35 + z36 + z38 + z39 + z41 + z42 + z44 + z60	3560481B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HMIII Facteurs H de la sous-espèce III (Arizona)	z52 + z53 + z54 + z55 + z57 + z61	3560493B

### Sérums polyvalents pour la détermination de la formule antigénique

Sérums polyvalents	Antigène flagellaire correspondant	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent H1	1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6	3560401B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HL	l, v + l, w + l, z13 + l, z28 + l, z40	3560411B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HE	e, h + e, n, x + e, n, z15	3560391B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HZ4	z4, z23 + z4, z24 + z4, z32	3560431B
Antiserum <i>Salmonella</i> polyvalent HG	f, g + g, p + g, m, s + g, m + m, t	3560441B

### Sérums monovalents pour la détermination de la formule antigénique

Sérums monovalents	N° de référence	Sérums monovalents	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:a	3560111B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:r	3560201B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:b	3560121B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:v	3561115B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:c	3560131B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:w	3561116B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:d	3560141B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:x	3561123B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:g, m	3561121B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:y	3560211B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:g, p	3561122B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:z	3560221B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:h	3561119B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:z10	3560241B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:i	3560161B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:2	3561111B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:k	3560171B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:5	3561112B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:m	3561117B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:6	3561113B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:p	3561118B	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:7	3561114B
Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:q	3561124	Antiserum <i>Salmonella</i> monovalent H:s	3560202

### Sérums anti-H pour inversion de phase (méthode Sven Gard)

Sérums polyvalents	Agglutinines	N° de référence
Antiserum <i>Salmonella</i> SG1	a + b + c + z10	3561011B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG2	d + i + e, h	3561021B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG3	k + y + l, v + l, w + l, z13 + l, z28	3561031B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG4	r + z	3561041B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG5	e, n, x + e, n, z15	3561051B
Antiserum <i>Salmonella</i> SG6	1,2 + 1,5 + 1,6 + 1,7 + z6	3561061B

## Section 4

### Durée de conservation et stockage

Les antisérums conservés entre 2 et 8 °C en l'absence de contamination sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon (y compris après ouverture).

## Section 5

### Matériel requis non fourni

#### Matériel

- Micropipettes
- Étuve ou enceinte thermostatée, précision  $\pm 1$  °C
- Bain-marie

#### Produits

- Lames en verre
- Gélose non sélective
- Solution de sérum physiologique
- Öse d'inoculation en plastique ou en platine
- Boîtes de Petri stériles
- Gélose Sven Gard (par exemple : n° de référence 3553430, 25 ml x 25 tubes)

## Section 6

### Précautions, limites d'utilisation et contrôle qualité

#### 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 telles que *Salmonella*.
- 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.
- Ces produits contiennent moins de 0,1 % d'azoture de sodium. L'azoture de sodium peut réagir en contact avec le plomb ou le cuivre présent dans les canalisations, et former des azotures métalliques explosives. Lors de l'élimination de ces réactifs, rincer abondamment à l'eau pour éviter la formation de dépôts d'azoture.
- Ne pas diluer les réactifs.
- Le produit contient des matériels d'origine animale et doit être manipulé avec précaution.
- Un précipité peut être observé dans l'antisérum *Salmonella* Omni-O. Il n'a pas d'impact sur la performance du produit. Pour éviter de confondre les colonies et l'antisérum lors de la lecture de la réaction, il est préférable de procéder à une lecture comparative avec une goutte d'antisérum *Salmonella* Omni-O sans échantillon. Toute réaction positive est visualisée par agglutination.

## Limites d'utilisation

- L'identification d'espèces bactériennes doit être réalisée avant de procéder au sérotypage.
- L'antisérum *Salmonella* Omni-O (A-60) est spécifique aux salmonelles O agglutinables du groupe A-60. Cependant, des réactions croisées restent possibles avec *Escherichia*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Proteus* en raison de la similarité antigénique partielle de ces bactéries. Ce sérum est destiné aux études épidémiologiques. Lors de l'obtention d'un résultat positif, l'identification de l'espèce doit être confirmée avant de procéder au sérotypage avec les sérums spécifiques. L'identification des *Salmonella* ne devra jamais se fonder exclusivement sur l'utilisation de l'antisérum *Salmonella* Omni-O (A-60).
- Lorsqu'une souche n'agglutine ni l'antisérum polyvalent OMA ni l'antisérum polyvalent OMB, il est recommandé de tester cette souche avec le sérum Vi.
- La forme *S. Typhi* V est O non agglutinable en phase vivante et devient O agglutinable seulement après avoir chauffé la suspension. Dans le cas d'une identification présomptive de ce sérovar, effectuer un test avec du sérum Vi.
- Seul le sérotypage complet des antigènes O et H permet une identification sérologique définitive.
- Ces produits ne sont pas autorisés pour les applications soumises à une réglementation locale. Veuillez consulter les exigences des réglementations locales pour l'application envisagée.

## 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.

Pour consulter la fiche de données de sécurité (FDS) et le certificat d'analyse, visiter [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

## Section 7 Protocole

Il est fortement recommandé de lire le protocole dans son intégralité avant de commencer le test.

### A. Agglutination sur lame

Le sérotypage est effectué, après identification de l'espèce, à partir d'une culture pure et fraîche de *Salmonella* isolée sur milieu gélosé non sélectif. Pour effectuer le test de contrôle sur la souche à tester dans la solution de sérum physiologique, prélever une öse de la culture de *Salmonella* et la mettre en suspension dans une goutte de sérum physiologique sur une lame, en veillant à ce que la suspension soit homogène. Il ne doit pas y avoir d'agglutination dans la solution de sérum physiologique (60 sec au maximum). Si il y a agglutination, il s'agit d'une souche auto-agglutinante et le test avec les antisérums n'est pas réalisable.

Rechercher d'abord l'agglutination avec les sérums polyvalents, puis avec les sérums spécifiques correspondant au mélange qui donne une agglutination nette (polyvalents O et monovalents O, puis polyvalents H et monovalents H). Il est fortement recommandé d'effectuer le test dans le bon ordre : d'abord OMA, puis en fonction des résultats obtenus, les sérums polyvalents OMB, puis OMC.

1. Déposer 1 goutte d'antisérum sur une lame en verre.

2. Prélever 1 öse de la culture de *Salmonella* (dans la partie la plus humide de la culture, pour la recherche des antigènes H).
3. Mettre ces bactéries en suspension dans la goutte d'antisérum en veillant à réaliser une suspension homogène par adjonction progressive des bactéries dans le sérum.
4. Agiter la lame par un léger mouvement de rotation.
5. Observer le mélange à l'œil nu au-dessus d'une surface sombre ou d'un miroir concave.

## B. Inversion de phase

1. Ajouter à la gélose Sven Gard liquéfiée, et ramenée à 45 °C, 1 goutte de sérum SG contenant l'agglutinine de la phase déjà déterminée.
2. Agiter le milieu par des mouvements de rotation pour garantir un mélange homogène, puis le couler dans un boîte de Petri.
3. Après solidification, s'il reste des gouttes de condensation en surface, faire sécher la gélose le couvercle entrouvert.
4. Ensemencer au centre 3 à 4 colonies de culture pure et fraîche de *Salmonella* préalablement isolée sur un milieu gélosé non sélectif.
5. Incuber à 37 °C pendant 18 hr en plaçant la boîte de Petri couvercle vers le haut.
6. Rechercher l'agglutination avec les sérums H en périphérie de la zone d'envahissement de la gélose (suivant le mode opératoire décrit à la section 7A Agglutination sur lame).

Exemple : Les antigènes O:4,5 et H:1,2 ont été déterminés dans les *Salmonella* à analyser. On se servira du sérum SG6 (1,2 + 1,5 + 1,7 + z6) pour procéder à l'inversion de phase. Le lendemain, on constatera l'agglutination avec :

- le sérum anti-H: i en présence de *Salmonella* Typhimurium (O: 1, 4, [5], 12 H: i :1,2)
- le sérum anti-H: b en présence de *Salmonella* Paratyphi B (O: 1, 4, [5], 12 H: b :1,2)

## C. Interprétation des résultats

1. Pour l'antisérum *Salmonella* Omni-O, une réaction positive se traduit par l'apparition d'une agglutination visible avec l'antisérum sous 30 sec. Lorsque la réaction tarde à apparaître ou si la suspension garde un aspect laiteux homogène, le résultat est négatif. L'agglutination d'une souche de *Salmonella* avec l'antisérum Omni-O indique que la souche est O agglutinable et que le sérotypage peut être effectué avec des sérums spécifiques (polyvalents puis monovalents).
2. Pour les autres antisérums polyvalents et monovalents de *Salmonella*, une réaction positive se traduit à l'apparition d'une agglutination en 1 min maximum. L'agglutination O est fine et régulière et se distingue très facilement des fragments de colonies bactériennes mal émulsionnés pouvant être présents.
3. Toute culture de *Salmonella* O agglutinable sera immédiatement agglutinée dans l'un des sérums polyvalents. Une co-agglutination plus tardive et d'intensité moindre pourra se produire dans un ou plusieurs autres sérums.

## Section 8 Performance de test

4. Les sérums HMA, HMB, HMC et HMD ne contiennent pas d'agglutinines O, mais celles-ci persistent dans les sérums HM III. Si une culture est agglutinée par ce sérum, on pourra confirmer qu'il s'agit d'une agglutination H en ajoutant 1 goutte de sérum HMIII dans 1 ml de suspension bactérienne. Après 2 hr au bain-marie à 37 °C, une agglutination floconneuse apparaît si la souche contient un antigène correspondant aux anticorps de ce sérum.
5. Une souche dotée du facteur H:g est agglutinée par les deux sérums H:g,m et H:g,p.
6. Le sérum H1 permet de détecter une souche dont l'antigène H serait en phase 2, dite non spécifique (1, 2 ou 1, 5 ou 1, 7).

## Section 8 Performance de test

L'activité de l'antisérum omnivalent *Salmonella* Omni-O (A-60) est contrôlée à l'aide des souches positives suivantes :

- *Salmonella* Typhimurium O:4,5 (groupe B)
- *Salmonella* Infantis O:6,7 (groupe C<sub>1</sub>)
- *Salmonella* Enteritidis O:9 (groupe D<sub>1</sub>)
- *Salmonella* London O:3,10 (groupe E<sub>1</sub>)

L'activité des antisérums polyvalents et monovalents de *Salmonella* est contrôlée à l'aide des souches positives suivantes :

### Sérums O

Sérum	Souche	Structure antigénique
OMA	Paratyphi A	(O: <u>1</u> ,2,12 H:a: [1,5])
OMB	Newport	(O:6,8, <u>20</u> H:e,h: 1,2 [z67])
OMC	Tel Aviv	(O:28 H:y: e,n,z15)
OMD	Champagne	(O:39 H:k :1,5)
OME	Bergen	(O:47, H: i: e,n,z15)
OMF	Uccle	(O:3,54 H:g,s,t: -)
OMG	Illia (Arizona)	(O:63 H:g, z51: -)
O:1, 2	Paratyphi A	(O: <u>1</u> ,2,12 H:a: [1,5])
O:4, 5	Typhimurium	(O: <u>1</u> ,4,[5],12 H:i :1,2)
O:6, 7, 8	Newport	(O:6,8,20 H:e,h :1,2 [z67])
O:7	Braenderup	(O:6,7, <u>14</u> H: e,h: e,n,z15)
O:8	Blockley	(O:6,8 H:k: 1,5)
O:9	Enteritidis	(O: <u>1</u> ,9,12 H:g,m: -)
O:3, 10, 15	London	(O:3,10 [ <u>15</u> ] H:l,v: 1,6)
O:15	Newington	(O:3,15 H:e,h:1,6)
O:1, 3, 19	Senftenberg	(O:1,3,19 H:g,[s],t: -)
O:11	Aberdeen	(O:11 H:i: 1,2)
O:13, 22, 23	Grumpensis	(O: <u>1</u> ,13,23 H:d :1,7)
O:6, 14, 24	Carrau	(O:6,14,[ <u>24</u> ] H:y :1,7)



## Sérum Vi

Sérum	Souche	Structure
Vi	Typhi	(O:9,12,[Vi] H:d : -)

## Sérum pour inversion de phase

Sérum	Souche	Structure antigénique
SG 1	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a: [1,5])
SG 2	Newport	(O:6,8,20 H:e,h :1,2 [z67])
SG 3	Thompson	(O:6,7,14 H:k :1,5)
SG 4	Heidelberg	(O:1,4,[5],12 H:r: 1,2)
SG 5	Abortusequi	(O:4,12 H: - : e,n,x)
SG 6	Typhimurium	(O:1,4,[5],12 H:i :1,2)

## Sérum H

Sérum	Souche	Structure antigénique
HMA	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a : [1,5])
HMB	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
HMC	Blockley	(O:6,8 H:k : 1,5)
HMD	Fresno	(O:9,46 H:z38 : -)
HM III	IIIb (Arizona)	(O:65 H:c: z53)
H1	Bovismorbificans	(O:6,8,20 H:r,[i] : 1,5)
HL	Livingstone	(O:6,7,14 H:d : l,w)
HE	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2)
HZ4	Dusseldorf	(O:6,8 H:z4,z24 : -)
HG	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
a	Paratyphi A	(O:1,2,12 H:a : [1,5])
b	Paratyphi B	(O:1,4,[5],12 H:b : 1,2)
c	Paratyphi C	(O:6,7, [Vi] H:c : 1,5)
d	Livingstone	(O:6,7,14 H:d : l,w)
g, m	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
g, p	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
h	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2 [z67])
i	Typhimurium	(O:1,4,[5],12 H:i : 1,2)
k	Blockley	(O:6,8 H:k : 1,5)
m	Enteritidis	(O:1,9,12 H:g,m : -)
p	Dublin	(O:1,9,12 [Vi] H:g,p : -)
r	Infantis	(O:6,7,14 H:r : 1,5)
v	London	(O:3,10 [15] H:l,v : 1,6)
w	Meleagridis	(O:3,10 [15] [15, 34] H:e,h : l,w)
x	Abony	(O:1,4,[5],12,27 H:b : e,n,x)
y	Carrau	(O:6,14,[24] H:y :1,7)
z	Worthington	(O:1,13,23 H:z : l,w)
z10	Lexington	(O:3,10,[15] [15,34] H:z10 : 1,5)
2	Newport	(O:6,8,20 H:e,h : 1,2 [z67])
5	Infantis	(O:6,7,14 H:r : 1,5)
6	London	(O:3,10 [15] H:l,v : 1,6)
7	Carrau	(O:6,14,[24] H:y :1,7)

## Section 9

### Sérotypes les plus fréquents

Souche	O <sup>1,2,3</sup>	H Phase 1	H Phase 2
<b>Groupe O:4 (B)</b>			
Abony	<u>1</u> , 4, [5], 12, [27]	b	e, n, x
Agona	<u>1</u> , 4, [5], 12	f, g, s	[1,2]
Brandenburg	4, [5], 12	l, v	e, n, z15
Bredeney	<u>1</u> , 4, 12, <u>27</u>	l, v	1,7
Coeln	<u>1</u> , 4, [5], 12	y	1,2
Derby	<u>1</u> , 4, [5], 12	f, g	[1,2]
Heidelberg	<u>1</u> , 4, [5], 12	r	1,2
Indiana	<u>1</u> , 4, 12	z	1,7
Paratyphi B	<u>1</u> , 4, [5], 12	b	1,2
Saint Paul	<u>1</u> , 4, [5], 12	e, h	1,2
Schwarzengrund	<u>1</u> , 4, 12, 27	d	1,7
Stanley	<u>1</u> , 4, [5], 12, [27]	d	1,2
Typhimurium <sup>4</sup>	<u>1</u> , 4, [5], 12	i	1,2
<b>Groupe O:3,10 - 3,15 (E<sub>1</sub>-E<sub>2</sub>)</b>			
Anatum	3, {10} { <u>15</u> } { <u>15</u> , <u>34</u> }	e, h	1, 6
London	3, {10} { <u>15</u> }	l, v	1, 6
Meleagridis	3, {10} { <u>15</u> } { <u>15</u> , <u>34</u> }	e, h	l, w
Muenster	3, {10} { <u>15</u> } { <u>15</u> , <u>34</u> }	e, h	1, 5
<b>Groupe O:1,3,19 (E<sub>4</sub>)</b>			
Senftenberg	1, 3, 19	g, [s], t	-
<b>Groupe O:2 (A)</b>			
Paratyphi A	<u>1</u> , 2, 12	a	[1, 5]
<b>Groupe O:9 (D<sub>1</sub>)</b>			
Dublin	<u>1</u> , 9, 12 [Vi]	g, p	
Enteritidis <sup>4</sup>	<u>1</u> , 9, 12	g, m	-
Napoli	<u>1</u> , 9, 12	l, z <sub>13</sub>	e, n, x
Panama	<u>1</u> , 9, 12	l, v	1, 5
Typhi	9, 12, [Vi]	d	-
<b>Groupe O:7 (C<sub>1</sub>)</b>			
Braenderup	6, 7, 14	e, h	e, n, z <sub>15</sub>

Infantis	6, 7, 14	r	1, 5
Livingstone	6, 7, 14	d	l, w
Mbandaka	6, 7, 14	Z <sub>10</sub>	e, n, Z <sub>15</sub>
Montevideo	6, 7, <u>14</u> , [54]	g, m, [p], s	[1, 2, 7]
Ohio	6, 7, 14	b	l, w
Thompson	6, 7, 14	k	1, 5
Virchow	6, 7, 14	r	1, 2
<b>Groupe O:8 (C<sub>2</sub> - C<sub>3</sub>)</b>			
Blockley	6, 8	k	1,5
Bovismorbificans	6, 8, 20	r, [i]	1,5
Gold coast	6, 8	r	l, w
Hadar	6, 8	Z <sub>10</sub>	e, n, x
Kottbus	6, 8	e, h	1, 5
Litchfield	6, 8	l, v	1, 2
Muenchen	6, 8	d	1, 2
Newport	6, 8, 20	e, h	1, 2

<sup>1</sup>Facteurs O soulignés : facteurs liés à la conversion phagique, uniquement présents si la culture est lysogénisée par le phage de conversion correspondant.

<sup>2</sup>Facteurs mentionnés entre crochets : facteurs à déterminisme chromosomique, susceptibles d'être présents ou absents sans modifier l'identification des sérovars.

<sup>3</sup>Facteurs O mentionnés entre accolades : facteurs exclusifs. Ils ne peuvent pas coexister avec d'autres facteurs entre accolades.

<sup>4</sup>Enteritidis et Typhimurium sont les souches les plus fréquemment isolées.

## Section 10

### Références

Grimont P and Weill FA (2007). Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating Centre of Reference and Research on *Salmonella*. 9<sup>th</sup> Ed.

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

## Section 11 Historique des révisions

Date de publication	Numéro de document	Modification
Mai 2023	3527 Ver A	- Nouvelle conception de document - Modification du numéro de document (version précédente 0001146 2021/01)

Visitez [www.bio-rad.com/antisera](http://www.bio-rad.com/antisera) pour plus d'informations sur la gamme complète de antisérums.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc. Toutes les marques déposées utilisées dans ce document appartiennent à leur propriétaire respectif.  
© 2023 Bio-Rad Laboratories, Inc.



**Bio-Rad  
Laboratories, Inc.**

Life Science  
Group

Website [bio-rad.com](http://bio-rad.com) USA 1 800 424 6723 Australia 61 2 9914 2800 Austria 00 800 00 24 67 23 Belgium 00 800 00 24 67 23  
Brazil 4003 0399 Canada 1 905 364 3435 China 86 21 6169 8500 Czech Republic 00 800 00 24 67 23 Denmark 00 800 00 24 67 23  
Finland 00 800 00 24 67 23 France 00 800 00 24 67 23 Germany 00 800 00 24 67 23 Hong Kong 852 2789 3300  
Hungary 00 800 00 24 67 23 India 91 124 4029300 Israel 0 3 9636050 Italy 00 800 00 24 67 23 Japan 81 3 6361 7000  
Korea 82 080 007 7373 Luxembourg 00 800 00 24 67 23 Mexico 52 555 488 7670 The Netherlands 00 800 00 24 67 23  
New Zealand 64 9 415 2280 Norway 00 800 00 24 67 23 Poland 00 800 00 24 67 23 Portugal 00 800 00 24 67 23  
Russian Federation 00 800 00 24 67 23 Singapore 65 6415 3188 South Africa 00 800 00 24 67 23 Spain 00 800 00 24 67 23  
Sweden 00 800 00 24 67 23 Switzerland 00 800 00 24 67 23 Taiwan 886 2 2578 7189 Thailand 66 2 651 8311  
United Arab Emirates 36 1 459 6150 United Kingdom 00 800 00 24 67 23

Bulletin 3527 Ver A US/EG

Sig 0123