TIPIZZARE
LE SALMONELLE

Nella stessa collana sono stati pubblicati i seguenti volumi:

1 - 1979 Infezioni respiratorie del bovino
2 - 1980 L'oggi e il domani della sulfamidoterapia veterinaria
3 - 1980 Ormoni della riproduzione e Medicina Veterinaria
4 - 1980 Gli antibiotici nella pratica veterinaria
5 - 1981 La leucosi bovina enzootica
6 - 1981 La «Scuola per la Ricerca Scientifica» di Brescia
7 - 1982 Gli indicatori di Sanità Veterinaria nel Servizio Sanitario Nazionale
8 - 1982 Le elmintiasi nell'allevamento intensivo del bovino
9 - 1983 Zoonosi ed animali da compagnia
10 - 1983 Le infezioni da Escherichia coli degli animali
11 - 1983 Immunogenetica animale e immunopatologia veterinaria
12 - 1984 5° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
13 - 1984 Il controllo delle affezioni respiratorie del cavallo
14 - 1984 1° Simposio Internazionale di Medicina veterinaria sul cavallo da competizione
15 - 1985 La malattia di Aujeszky. Attuahtà e prospettive di profilassi nell'allevamento suino
16 - 1986 Immunologia comparata della malattia neoplastica
17 - 1986 6° Congresso Nazionale Associazione Scientifica di Produzione Animale
18 - 1987 Embryo transfer oggi: problemi biologici e tecnici aperti e prospettive
19 - 1987 Coniglicoltura: tecniche di gestione, ecopatologia e marketing
20 - 1988 Trentennale della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1956-1986
21 - 1989 Le infezioni erpetiche del bovino e del suino
22 - 1989 Nuove frontiere della diagnostica nelle scienze veterinarie
23 - 1989 La rabbia silvestre: risultati e prospettive della vaccinazione orale in Europa
24 - 1989 Chick Anemia ed infezioni enteriche virali nei volatili
25 - 1990 Mappaggio del genoma bovino
26 - 1990 Riproduzione nella specie suina
27 - 1990 La nube di Chernobyl sul territorio bresciano
28 - 1991 Le immunodeficienze da retrovirus e le encefalopatie spongiformi
29 - 1991 La sindrome chetosica nel bovino
30 - 1991 Atti del convegno annuale del gruppo di lavoro delle regioni Alpine per la profilassi delle mastiti
31 - 1991 Allevamento delle piccole specie
32 - 1992 Gestione e protezione del patrimonio faunistico
33 - 1992 Allevamento e malattie del visone
34 - 1993 Atti del XIX Meeting annuale della S.I.P.A.S., e del Convegno su Malattie dismetaboliche del Suino
35 - 1993 Stato dell'arte delle ricerche italiane nel settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche - Atti 1ª conferenza nazionale
36 - 1993 Argomenti di patologia veterinaria
37 - 1994 Stato dell'arte delle ricerche italiane sul settore delle biotecnologie applicate alle scienze veterinarie e zootecniche
38 - 1995 Atti del XIX corso in patologia suina e tecnica dell'allevamento
39 - 1995 Quale bioetica in campo animale? Le frontiere dell'ingegneria genetica
40 - 1996 Principi e metodi di tossicologia in vitro
41 - 1996 Diagnostica istologica dei tumori degli animali
42 - 1998 Umanesimo ed animalismo
43 - 1998 Atti del Convegno scientifico sulle enteropatie del Coniglio
44 - 1998 Lezioni di citologia diagnostica veterinaria
45 - 2000 Metodi di analisi microbiologica degli alimenti
46 - 2001 Animali, terapia dell'anima
47 - 2001 Quarantacinquesimo della Fondazione Iniziative Zooprofilattiche e Zootecniche di Brescia, 1955- 2000
48 - 2001 Atti III Convegno Nazionale di Storia della Medicina Veterinaria

FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE
E ZOOTECNICHE - BRESCIA

TIPIZZARE
LE SALMONELLE

MAURIZIO ZAVANELLA

EDITO A CURA DELLA
FONDAZIONE INIZIATIVE ZOOPROFILATTICHE
E ZOOTECNICHE - BRESCIA
Via A. Bianchi 1, 25125 Brescia - Tel. 030/223244-2420569

INDICE

Introduzione . . . . . pag. 9
Alcune osservazioni sull'ecologia e sull'epidemiologia delle salmonelle » 9

PARTE PRIMA
1. Collocazione tassonomica delle salmonelle. . . . . » 23

2. Principali caratteristiche . . . . . » 27
2.1 Colturali. . . . . » 27
2.2 Biochimiche . . . . . » 28

3. Struttura antigene: antigeni O, antigeni H, antigene Vi. . . . . » 31

4. Classificazione delle salmonelle . . . . . » 34
4.1 Secondo Kauffmann-White . . . . . » 34
4.2 Secondo Le Minor. . . . . » 35

5. Preparazione dei sieri diagnostici . . . . . » 38
5.1 Sieri O . . . . . » 38
5.2 Sieri H . . . . . » 41
5.3 Sieri OH poliagglutinanti. . . . . » 42
5.4 Controllo . . . . . » 43
5.5 Adsorbimento. . . . . » 45
5.6 Conservazione dei sieri . . . . . » 46

6. Isolamento e identificazione . . . . . » 48
6.1 Cenni sull'analisi qualitativa in campioni clinici, alimenti, tamponi » 48
6.2 Conteggio delle cellule di *Salmonella*. . . . . » 54

7. Tipizzazione sierologica . . . . . » 66
7.1 Procedura consigliata per la tipizzazione sierologica . . . . . » 66
7.2 Preparazione dell'antigene . . . . . » 67
7.3 Agglutinazione somatica O . . . . . » 68
7.4 Agglutinazione flagellare H . . . . . » 69
7.5 Separazione delle fasi 1 e 2. . . . . » 72
7.6 Casi particolari . . . . . » 75

8. Riconoscimento di biotipi . . . . . » 79

9. Tipizzazione fagica o lisotipia . . . . . » 81
9.1 Nozioni di base. . . . . » 81
9.2 L'esempio del batteriofago polivalente O1 per le salmonelle . . . » 81

10. Analisi del profilo plasmidico e PCR . . . . . » 85

11. Prove di sensibilità ai farmaci . . . . . » 90

12. Preparazione e uso di alcuni antigeni diagnostici . . . . . » 101

13. Le statistiche . . . . . » 103

PARTE SECONDA
Schema di Kauffmann-White aggiornato . . . . . » 131
Elenco dei sierotipi divisi per gruppi sierologici . . . . . » 133
Elenco in ordine alfabetico dei sierotipi di *Salmonella*. . . . . » 208

APPENDICE
Reagenti e preparazioni varie . . . . . » 231
Indicazioni pratiche per il laboratorio . . . . . » 248
- Norme di sicurezza in laboratorio. . . . . » 248
- Istruzioni per migliorare prelievo, trasporto e conservazione dei campioni per fini diagnostici. . . . . » 250
- La ricerca delle salmonelle inserita nelle generalità delle analisi batteriologiche in un laboratorio diagnostico . . . . . » 253
- Autocontrollo, HACCP e salmonelle. Impiego del laboratorio per la realizzazione dei programmi . . . . . » 257
Alcune norme legislative riguardanti le salmonelle e le salmonellosi . . » 262

PREFAZIONE

Il discorso sulle salmonelle fa sempre notizia tra Medici, Veterinari e Igienisti. E non solo quando questo microbo innesca focolai di malattia nell'uomo o negli allevamenti, dove produce danni economici non trascurabili.
Si tratta infatti di un argomento abbastanza noto, eppure capace di fornire ancora nuovi motivi d'indagine per gli Studiosi.
Per queste ragioni gli Studenti di Medicina, Veterinaria, Biologia e, soprattutto, gli Allievi delle Scuole di Specializzazione sono tenuti nei loro Corsi ad acquisire una conoscenza non superficiale del problema *Salmonella.*
Essendo la materia quanto mai legata alla conservazione del patrimonio zootecnico, la Fondazione, sensibile agli interessi del settore sanitario ed agro-alimentare, ha inteso dare un contributo, mettendo a disposizione il presente manuale.
Dopo un'introduzione di carattere generale, la prima parte contiene una serie di informazioni per comprendere cos'è la tipizzazione delle salmonelle. Oltre a nozioni che possono interessare il Microbiologo analista, si trovano capitoli rivolti al Clinico e all'Epidemiologo.
La seconda parte consiste in un repertorio aggiornato delle oltre duemila salmonelle esistenti.
Il testo è completato da un'appendice con formule e indicazioni d'interesse pratico destinata esclusivamente a chi opera in laboratorio.

A. Pecorelli

Brescia, maggio 2001

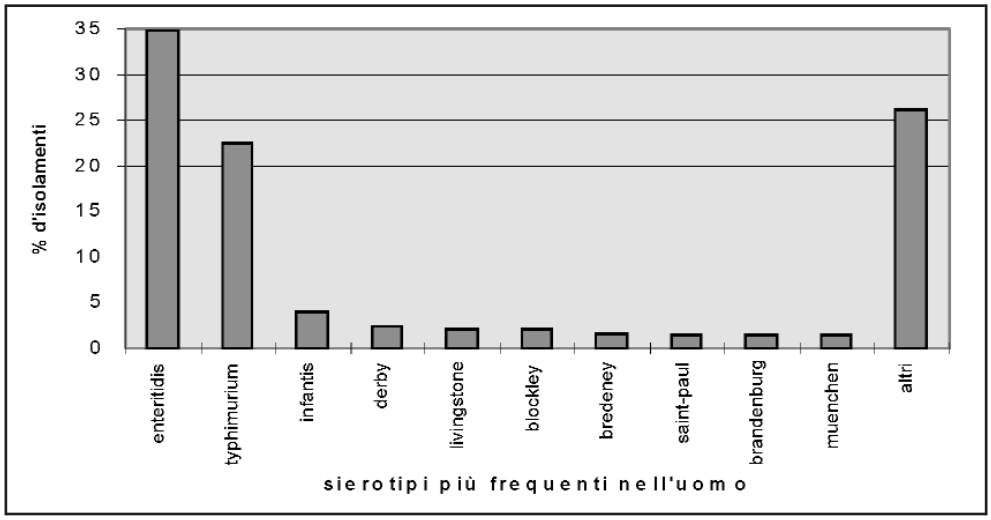
INTRODUZIONE

ALCUNE OSSERVAZIONI SULL' ECOLOGIA E SULL'EPIDEMIOLOGIA DELLE SALMONELLE

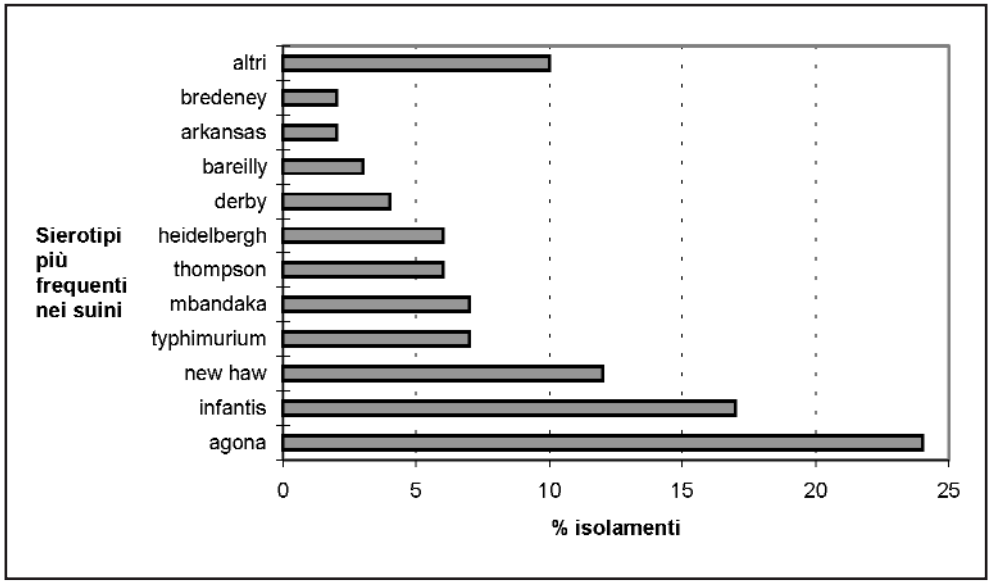
DISTRIBUZIONE IN NATURA

Da anni è universalmente accettato che le salmonelle sono ubiquitarie.
Alcune pubblicazioni, divenute storiche, come quella di Drager intitolata "Salmonellosen" del 1971, hanno ampiamente convalidato, con abbondanza di dati, questa affermazione.
Negli Stati Uniti, nel periodo 1971-78 le salmonelle sono state ritenute responsabili del 40% dei casi di tossinfezione alimentare. Secondo vari Autori, il numero di persone colpite annualmente negli Stati Uniti è stimabile in circa 2.000 soggetti su 100.000 abitanti e si giudica che l'1% degli americani sia portatore sano di salmonelle.
In Europa la situazione sarebbe migliore, se si considerano reali le statistiche pubblicate in alcuni Stati, dove figuarno le seguenti proporzioni di persone affette da salmonellosi ogni 100.000 abitanti: Danimarca 10, Finlandia 44, Svezia 43, Gran Bretagna 46, Germania 83, Svizzera 4, Italia 20.
La notevole incidenza di casi è comunque aggravata dal fatto che gli individui possono eliminare saltuariamente le salmonelle con le feci (e con le urine), da poche settimane fino a due-tre mesi dopo la risoluzione della malattia clinica, in concentrazioni variabili fra poche unità e alcuni milioni di cellule batteriche per grammo di materiale fecale.

La salmonellosi è una zoonosi. Tuttavia attualmente si ritiene che alcuni sierotipi di *Salmonella* abbiano una particolare predilezione per ospiti specifici.
Vengono chiamate "ospite-ristrette" le salmonelle *typhi, paratyphi A, paratyphi C, sendai* per l'uomo, *abortus-ovis* per gli ovini, *typhi-suis* per i suini, *abortus-equi* per gli equini, *gallinarum-pullorum* per i volatili.
Altre salmonelle vengono definite "ospite-adattate" (*S. cholerae-suis* per suini ed uomo, *S. dublin* per bovini, ovini ed uomo).
Contrariamente a quanto si crede comunemente, da ogni categoria di ospiti viene isolato puntualmente un numero ristretto di sierotipi di *Salmonella*, di gran lunga inferiore all'impressionante varietà esistente in natura (circa 2500 sierotipi).
Ad esempio, da una statistica riguardante i ceppi umani isolati in un anno in Italia (PHLS, 1999) si osserva la situazione seguente:

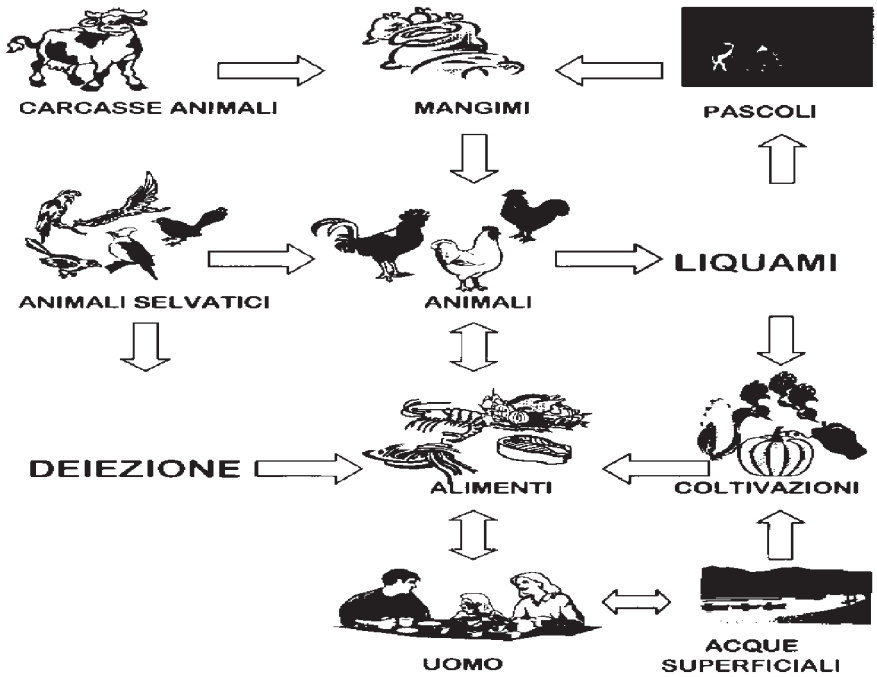


Analogamente, una statistica pubblicata nel Minnesota (Carlson e *Coll*., 2001) relativa alle salmonelle nei suini, mostra il quadro qui riportato:



Si ritiene inoltre che la maggior parte dei sierotipi sia in grado di adattarsi all'intestino di più ospiti. In particolare, si nota che i sierotipi appartenenti alle sottospecie II, IIIa, IIIb e IV sono frequenti soprattutto in animali a sangue freddo.
Nell'ambiente esterno, le salmonelle possono non solo resistere per parecchio tempo, ma anche moltiplicarsi, quando le condizioni ambientali (essenzialmente temperatura, umidità, presenza di proteine) sono favorevoli.
In questo modo si spiega l'instaurarsi di un vero e proprio ciclo di diffusione, che

porta alla contaminazione delle fonti alimentari principali per l'uomo (carni, latte, uova, vegetali, acqua), come raffigurato da Stellmacher (1992):



Vie di trasmissione delle salmonelle in natura

MECCANISMI D'INFEZIONE

L'adattamento alla mucosa intestinale dell'ospite avverrebbe grazie ai seguenti meccanismi:

a) adesività (mediante fimbrie di tipo 1 e 3, capaci di agglutinare i globuli rossi anche in presenza di mannosio, prodotte da geni localizzati nel DNA batterico);
b) invasività delle cellule epiteliali;
c) resistenza ai macrofagi mediante l'attività di enzimi PhoP e PhoQ, non dissimili da quelli noti per altre *Enterobacteriaceae.*

Il fatto che poi, da commensali innocui, le salmonelle si trasformino in temibili patogeni, dipende da altri fattori.

E' stato scritto che gli effetti dannosi delle salmonelle si esplicano quando viene raggiunta una certa concentrazione di cellule batteriche (o dose minima infettante, ipotizzata tra le 100 e le 1000 cellule, secondo differenti stime di vari Autori fatte nei riguardi di diversi stipiti) e quando l'ospite è vulnerabile.

Difatti è statisticamente provato che sono più colpiti da salmonellosi, indipendentemente dalla specie animale, gli individui molto giovani (neonati) o molto vecchi e

quelli immunologicamente a rischio per svariate cause (indeboliti perché ammalati di altre malattie o convalescenti, immuno-compromessi in conseguenza di trapianti, uso di farmaci, ecc).
Inoltre i fattori ambientali giocano senz'altro un ruolo non trascurabile, essendo comprovato l'effetto nocivo della temperatura elevata, del grado di umidità, del sovraffollamento e dell'inquinamento chimico.
Si sa che le salmonelle elaborano: a) una tossina termolabile di natura proteica, simile alle tossine CT del colera ed LT dell'*E. coli*; b) una citotossina proteica termolabile prodotta dalla membrana batterica, capace di alterare la morfologia della mucosa intestinale; c) un lipopolisaccaride (LPS) costituente la membrana batterica dotato di proprietà endotossica e di resistenza alla lisi.

AZIONE PATOGENA

Più recentemente sono stati fatti studi importanti che dimostrano un legame netto tra azione patogena delle salmonelle e corredo genetico delle stesse. In altre parole, solo i ceppi che possiedono determinati geni (legati al potere patogeno) sono pericolosi, in quanto potenzialmente in grado di provocare malattia. I ceppi che non hanno questi geni (pur appartenendo sierologicamente allo stesso sierotipo, ad esempio alla stessa *Salmonella typhimurium*) non sarebbero da considerare patogeni e quindi nocivi.
E' stata dimostrata al 100% la presenza di plasmidi responsabili della virulenza in sierotipi di *S. enteritidis, typhimurium, dublin, cholerae-suis, infantis, panama, heidelberg* isolati da organi di animali infetti o dal sangue di pazienti, mentre analoghi sierotipi provenienti da feci, alimenti o ambiente avevano solo in parte i plasmidi stessi. I plasmidi della virulenza dei sierotipi sopra indicati sono identici e sono stati identificati nei geni *spvR*, *spvA*, *spvB*, *spvC* di natura proteica.
Molti Autori ritengono che nell'evoluzione delle salmonelle, avvenuta in tempi relativamente vicini, questi germi possano aver acquisito larghi pezzi di DNA, per trasmissione genetica orizzontale, da altri batteri. Tali *loci* genetici, chiamati "isole di patogenicità", in caso di avvenuta trasmissione conferirebbero alla salmonella ospite delle specifiche proprietà di virulenza.
Per esempio, l'isola di patogenicità 1 (SPI-1), che codifica il sistema di secrezione Inv-Spa tipo III, è responsabile dell'invasività delle cellule epiteliali intestinali, dell'induzione alla secrezione di fluidi, della risposta infiammatoria.
L'isola di patogenicità 2 (SPI-2), che codifica un secondo sistema di secrezione di tipo III (TTSS-2), influenza la virulenza sistemica in alcuni animali, favorisce la crescita intracellulare del germe e la sua sopravvivenza nei macrofagi.
L'isola di patogenicità 5 (SPI-5) codifica diverse proteine, tra cui la *SopB*, responsabile del sistema secretore TTSS-1, che induce l'infiammazione intestinale e la secrezione di fluidi.
Se alcuni geni localizzati nelle isole di patogenicità vengono distrutti, si attenua l'enteropatogenicità della salmonella, ma non la sua patogenesi sistemica. E' verosimile che altri siti del genoma, come il gene *slyA*, dal ruolo ancora non ben conosciuto, presiedano alla patogenesi sistemica delle salmonelle.

Interessanti considerazioni che derivano da queste osservazioni sono riportate in numerose pubblicazioni.
Tra queste si cita il lavoro di Cantoni e *Coll.* del 1994 che sostiene in sintesi quanto segue:

a) non si può collegare l'isolamento di salmonelle da un alimento alla sua pericolosità;
b) non tutti i sierotipi sono virulenti per l'uomo;
c) esistono differenze fra sierotipo e sierotipo e, nell'ambito dello stesso sierotipo, la virulenza è determinata dalla presenza di vari fattori, tra cui i plasmidi della virulenza, che hanno un ruolo preponderante;
d) il numero delle salmonelle presenti in un alimento è fondamentale per determinarne la pericolosità.

PATOGENESI

Le cellule batteriche ingerite subiscono nello stomaco una riduzione attraverso un processo di lisi che continua nell'intestino, con conseguente liberazione di endotossine termolabili. Queste vengono catturate dai linfonodi e dal circolo sanguigno. Le salmonelle che oltrepassano la barriera gastrica si moltiplicano nell'intestino e possono invadere gli organi attraverso i vasi linfatici, provocando fenomeni generalizzati accompagnati da alterazioni patologiche. Negli animali le salmonelle difficilmente oltrepassano la barriera dei linfonodi meseraici e solo in conseguenza di errori durante la macellazione (ad esempio, la rottura dell'intestino) possono contaminare la superficie delle carni.
Alcune salmonelle definite "ospite-ristrette" producono infezioni sistemiche gravi, mentre l'enterite è di scarsa entità o assente. Questi sierotipi (*typhi*, *abortus-ovis*, *typhi-suis*, *gallinarum*) sembra migrino rapidamente dall'intestino verso le cellule del sistema reticolo-endoteliale, dove si instaurano, inducendo lo stato di portatore.
La febbre tifoide dell'uomo è una malattia infettiva grave che invade il torrente circolatorio, propria dei paesi meno sviluppati. Si presenta con febbre elevata debilitante e mal di testa, senza diarrea. Nei bambini è attenuata e può presentarsi in forma febbrile aspecifica. Caratteristiche del tifo sono la bassa dose infettante ($<10^3$ cellule), il periodo d'incubazione variabile, talvolta lungo (1-6 settimane) e lo stato di portatore che si instaura per mesi nell'individuo dopo la guarigione clinica.
Altre salmonelle, definite "ospite-adattate" (*cholerae-suis*, *dublin*), provocano sia l'enterite che infezioni sistemiche gravi. Raramente passano dall'animale all'uomo per contatto o per consumo di alimenti contaminati.

ANATOMIA PATOLOGICA

Nelle forme iperacute non si notano alterazioni; nelle forme acute le alterazioni sono di tipo setticemico e consistono in congestione e degenerazione del parenchima dei grossi organi, accompagnata da comparsa di petecchie su epicardio, pleura, fegato, reni, vescica e intestino; si notano anche emorragie di tipo catarrale nell'inte-

stino e aumento di volume dei linfonodi e della milza.
Nelle forme croniche si assiste ad una serie più ampia di lesioni, che comprende la formazione di aree necrotiche e di granulomi in fegato, reni, milza, intestino e cistifellea. Il fegato può mostrare degenerazione grassa e in qualche caso cirrosi. La cistifellea aumenta di volume, con inspessimento della parete e aumento del contenuto. Nell'intestino si vedono zone emorragiche di tipo difteroide-necrotizzante. I linfonodi mesenterici sono ingrossati, spesso marmorizzati a macchie di colore rosso scuro, e all'interno presentano granulomi nodosi con caseificazione centrale. La milza può reagire diversamente, variando da dimensioni pressochè normali fino a un'evidente splenomegalia. Nei polmoni si può verificare una bronco-polmonite catarrale o una polmonite fibrinosa lobare o lobulare. Il cuore presenta emorragie a livello del pericardio e del miocardio, con essudato sieroso o fibrinoso. Talvolta si hanno nel cervello infiltrazioni iperemiche o vere e proprie emorragie. Al pari di molte malattie di origine batterica, si possono avere aborti.

DIAGNOSI

Il *sospetto* di salmonellosi si basa su osservazioni cliniche (febbre, diarrea, enterite, setticemia, aborto) ed anatomo-patologiche, che comprendono essenzialmente tumore di milza, ipertrofia della cistifellea, lesioni necrotiche ed emorragiche intestinali, petecchie su fegato e reni.
La *diagnosi* è solamente batteriologica, attraverso l'isolamento del germe mediante coltura in terreni liquidi di arricchimento (es. brodo tetrationato, brodo selenito) di porzioni di organi (fegato, milza, rene, intestino, linfonodi) o dalle feci. La semina da materiale fecale o da tamponi rettali è indicata per la ricerca dei soggetti portatori asintomatici e nei casi di tossinfezione nell'uomo. Nei polli è consigliato il prelievo contemporaneamente dalle tonsille cecali e dal fegato. Non viene praticata l'emocoltura.
Per l'isolamento delle *S. gallinarum-pullorum*, *typhi-suis*, *abortus-equi* e *abortus-ovis* (soprattutto da animali vivi clinicamente ammalati) è consigliato, in parallelo alla semina nei brodi, lo striscio diretto di organi su piastre contenenti terreni selettivi solidi.
Nel caso della ricerca degli animali infetti da *S. gallinarum-pullorum*, *abortus-equi* e *abortus-ovis,* esiste la possibilità dell'indagine sierologica col metodo dell'agglutinazione.
Scarso seguito nella pratica ha avuto, invece, la diagnosi attraverso l'esame diretto su organi con immunofluorescenza. Nuove prospettive sono state aperte dai cosiddetti metodi innovativi (tipo ELISA, PCR) menzionati nel Capitolo 6.1.

CARATTERISTICHE FISICO-CHIMICHE

Considerato che le salmonelle si moltiplicano attivamente sopra i + 7 °C, è evidente che le condizioni di conservazione dei prodotti alimentari sono importantissime. Questo germe possiede un intervallo di temperature utili alla moltiplicazione com-

preso fra + 5,2 e + 46 °C (con qualche eccezione per i sierotipi maggiormente "termotolleranti", come ad esempio *S. senftenberg*). L'*optimum* per lo sviluppo delle salmonelle è comunque situato fra +35 e +43 °C.
L'intervallo di pH per sviluppare è limitato fra 3,8 e 9,5 (con *optimum* a 7,0 - 7,5).
La a_W necessaria per sopravvivere deve essere almeno 0,94.
Le salmonelle non vengono inattivate dal congelamento. Sono uccise dalla pasteurizzazione e non producono tossine termoresistenti. Sono parimenti sensibili ai più comuni disinfettanti (alcool, mercurocromo, ipoclorito di sodio, acido fenico, formaldeide, iodofori, acqua ossigenata, soda) nonché a diverse sostanze ad azione antibatterica (acidi organici quali lattico, acetico, propionico, nitrati, sorbato di potassio, ecc).
Nonostante la comparsa del fenomeno della resistenza ai farmaci, la maggior parte delle salmonelle è sensibile agli antibiotici genericamente efficaci sui germi gram-negativi (vedi Capitolo 11.3).

TRASMISSIONE

L'infezione da *Salmonella* si trasmette principalmente per via oro-fecale e in minor grado per via placentare o transovarica (come avviene per *S. gallinarum-pullorum* e *S. enteritidis* nelle galline).
Gli alimenti sono quindi uno dei veicoli più importanti nella diffusione delle salmonelle in natura. E' dimostrato che gli alimenti più frequentemente contaminati sono quelli ad elevato contenuto proteico (carni comunque lavorate, uova sgusciate e prodotti a base di uova, molluschi eduli) oppure quelli fisicamente più esposti alla contaminazione fecale (acque superficiali, latte non pasteurizzato e derivati, vegetali trattati con concimi naturali, mangimi non pellettati contenenti materie prime animali o vegetali).

TOSSINFEZIONI ALIMENTARI

Per quanto riguarda la salmonellosi nell'uomo, il periodo d'incubazione per avere tossinfezione è di 12-24 ore; i sintomi sono diarrea, febbre, dolori addominali, talvolta vomito.
Le ricerche di laboratorio in questi casi vertono sulla dimostrazione del microrganismo nell'alimento sospetto e nelle feci dell'ammalato.
Gli alimenti più frequentemente coinvolti nei casi di tossinfezione sono:

1. molluschi (cozze, ostriche, ecc) pescati in acque contaminate e consumati crudi;
2. carni crude o poco cotte di bovino, equino, suino, pollo, tacchino (*roast-beef*, tartara, carne trita, arrotolati);
3. insaccati freschi di suino o equino (salsicce);
4. uova di gallina o di anatra consumate crude;
5. prodotti a base di uova (maionese, tiramisù, prodotti di pasticceria freschi tipo creme, budini);

6. insalate e ripieni contenenti verdura, pollame, carni di varia provenienza, pesce, uova;
7. latte e latticini non sottoposti a trattamento termico di pasteurizzazione, latte in polvere, cioccolato al latte.

Gli episodi di tossinfezione hanno spesso elementi causali ricorrenti, riassumibili in:
1) cibi ricchi di proteine; 2) cibi contaminati generalmente per scarsa igiene di produzione e di preparazione finale; 3) cibi consumati crudi o insufficientemente cotti.
La lotta contro le salmonellosi animali e la prevenzione delle tossinfezioni alimentari da salmonelle nell'uomo sono oggetto di attenzione presso l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), tenuto conto dell'entità del problema. Già nel 1986 Carpenter aveva comunicato dati allarmanti circa l'incidenza delle salmonelle negli USA, diffondendo queste percentuali di contaminazione:
carcasse bovine 74%; carcasse suine 56%; insaccati suini freschi 28%; insaccati suini affumicati 9%.

In un documento del 1995 dell'OMS vengono stilate numerose raccomandazioni per il futuro della patologia, dell'immunologia, della diagnostica e dell'epidemiologia, con particolare riguardo alla prevenzione delle contaminazioni da *Salmonella* nelle produzioni animali. E' stato riservato un posto speciale alla *Salmonella enteritidis* PT4, a causa del suo ruolo divenuto preponderante nei casi di salmonellosi umana legati alla produzione avicola.

PROFILASSI

Tra le raccomandazioni fatte per tentare di arginare le conseguenze dannose delle salmonelle si citano le seguenti:

a) necessità di continuare a studiare i determinanti della virulenza delle salmonelle ed i meccanismi di patogenesi dell'infezione, come pure le interazioni fra *Salmonella* e sistema immunitario dell'ospite animale allevato;
b) impegno a migliorare i vaccini attenuati e geneticamente definiti contro la salmonellosi;
c) invito ad approntare metodi d'isolamento e di identificazione "rapidi", rivolti alla rivelazione dei geni legati alla virulenza delle salmonelle;
d) urgenza di diffondere tecniche ELISA per la sorveglianza sierologica della salmonellosi, capaci di distinguere gli animali vaccinati da quelli naturalmente infetti.

Le misure di lotta che l'OMS indica come prioritarie sono al momento mirate:
a) al controllo dell'infezione salmonellare nei *parents* e *grandparents* dei volatili d'allevamento, ritenendo che sensibili miglioramenti nella salubrità dei prodotti alimentari possano essere raggiunti abbassando la pressione esercitata dall'infe-

zione diffusa nei *broilers* e soprattutto nelle ovaiole;
b) al monitoraggio sierologico delle vacche da latte infette da *Salmonella dublin*;
c) alla garanzia di fornire agli animali dei mangimi esenti da salmonelle, almeno a livello dei *parents* delle ovaiole;
d) alla maggior sensibilizzazione del pubblico sulla conservazione e manipolazione delle materie prime *dopo la raccolta o la macellazione* destinate a diventare cibo.

TERAPIA

Numerosi farmaci sono stati impiegati e poi sostituiti da altri più efficaci. Tra i primi adottati si ricordano cloramfenicolo, sulfamidici, furanici. Successivamente sono stati usati tetracicline, aminoglicosidi (gentamicina), cefalosporine (cefalotina, cefotaxime) e chinoloni (acido nalidixico, enrofloxacina).
Più recentemente hanno avuto successo alcuni beta-lattamici (ampicillina, fosfomicina) e fluor-chinoloni. Alcune sostanze sono rimaste nell'uso corrente come farmaci di prima scelta (vedi Capitolo 11.3).
L' abuso nei trattamenti antibiotici e il ricorso agli antibiotici talvolta esagerato a scopo auxinico in zootecnia hanno inevitabilmente portato alla comparsa di fenomeni di resistenza indotti probabilmente da mutazioni genetiche. Non a caso l'incremento di ceppi multi-resistenti fra le salmonelle coincide con la comparsa dello stesso fenomeno tra i *coli*.
In letteratura si trovano numerose citazioni in proposito: in Inghilterra il latte in polvere medicato per vitelli avrebbe favorito nei bovini la selezione di *S. typhimurium* DT204c resistenti a furazolidone e gentamicina; similmente, solo dopo l'avvento dell'enrofloxacina nell'uso veterinario sarebbero comparsi i ceppi di *S. typhimurium* DT104 resistenti a ciprofloxacina ed altri fluorochinoloni. Differenti spiegazioni del fenomeno potrebbero risiedere nel trasferimento orizzontale di materiale genetico responsabile della virulenza e della resistenza (ad esempio, il gene *sopE* trasferito da batteriofagi).
Sono stati descritti con una certa frequenza ceppi resistenti a tetraciclina, acido nalidixico, sulfametoxazolo-trimethoprim, ampicillina, cloramfenicolo ed enrofloxacina. Uno dei casi più allarmanti di multi-resistenza agli antibiotici riguarda la *Salmonella typhimurium*.
Fra i numerosi fago-tipi di *typhimurium* coinvolti si citano DT29 (in Inghilterra nei bovini e nell'uomo), DT104 (in tutto il mondo), DT204 (in Germania prevalentemente nei suini e nei polli) e altri ceppi ancora chiamati inizialmente "penta-resistenti" (vedi Capitolo 11.3).
Per quanto riguarda la creazione di portatori, tra gli infettivologi prevalgono alcune idee in merito alle conseguenze del trattamento con antibiotici nell'uomo:
1) la somministrazione di antibiotici prolunga sensibilmente il periodo di eliminazione delle salmonelle (alcune ricerche dicono fino a 120 giorni), per cui sarebbero da preferire interventi sulla flora lattica intestinale che escludono il ricorso ad antibiotici, almeno nelle gastroenteriti nell'uomo prive di complicazioni;
2) non c'è relazione tra età degli ammalati e durata dell'escrezione;

3) il periodo d'escrezione è uguale negli adulti e nei giovani di età compresa fra 5 e 14 anni;
4) sulla lunghezza media del periodo di eliminazione tra pazienti ricoverati può influire il fenomeno della reinfezione da salmonelle in ospedale;
5) è da considerare importante, ai fini della prosecuzione o della sospensione della terapia, il controllo delle feci eseguito dopo la remissione della fase acuta.

Riferimenti bibliografici

ALFORD J.A. e Coll., Interaction of salt, pH and temperature on the growth and survival of *Salmonellae* in ground pork, Appl. Micr., 1969, 17, 528
ALOSI C. e Coll., Salmonelle e salmonellosi, Nuovo Progr. Vet., 1976, 31, 31
ANDREONI O., Patogenicità di *Salmonella* spp., Giorn. Mal. Inf. Parass., 1993, 45, 387
ANGELOTTI R. e Coll., Time - temperature effects on *Salmonellae* and *Staphylococci* in foods, A.J.P.H., 1961, 51, 76
ANON., Problematique des Salmonelles en Suisse: strategie visant à prévenir les salmonelloses humaines, Bull. Off. Fed. Santé Publique, 1992, 50, 810
BARROW P.A. e Coll., Immunisation of laying hens against *Salmonella enteritidis* with live attenuated vaccines, Vet. Rec., 1990, 126, 241
BECK G., Salmonellen beim Tier. Eine Gefahr fur den Menschen, Fleischwirtsch., 1980, 60, 1223
BENSON C.E. e Coll., *Salmonella typhimurium* DT 104 in the northeast USA, Vet. Rec., 1997, 8, 503
BERCHIERI A. e Coll., The antibacterial effects for *Salmonella enteritidis* phage type 4 of different chemical disinfectants and cleaning agents tested under different conditions, Avian Path., 1996, 25, 663
BISPHAM J. e Coll., *Salmonella* pathogenicity island-2 influences both systemic salmonellosis and salmonella-induced enteritis in calves, Infection and Immunity, 2001, 69, 367
BOUZOUBAA K. e Coll., Feasibility of using proteins from *Salmonella gallinarum* vs. 9R live vaccine for the prevention of fowl typhoid in chickens, Avian Dis., 1989, 93, 385
BROOKES M., Ventidue nuovi sierotipi di *Arizona* isolati da noci di cocco, farina d'ossa, uova seccate e rettili, Monthly Bull., 1966, 25, 230
BRUNER D.W., *Salmonella*, Cornell Vet., 1968, 58, 75
BRYAN F., What the sanitarian should know about *Staphylococci* and *Salmonellae* in non-dairy products, J. Milk Food Technol., 1968, 31, 131
CANTONI C., Alla ricerca della *Salmonella*, Obiettivi Veterinari, 1994, 9, 65
CANTONI C. e Coll., Problematiche relative alla presenza di *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. negli alimenti destinati al consumo umano, Arch. Vet. It., 1994, 45, 255
CARLSON A.R. e Coll., In-herd prevalence of *Salmonella* in 25 selected Minnesota swine farms, J. Swine Health Product., 2001, 9, 7
CORRY J e Coll., A note on the development of resistance to heat and gamma radiation in *Salmonella*, J. Appl. Bact., 1970, 33, 733
COUNCIL PUBL. HEALTH REG. VET. MED., Salmonellosi negli Stati Uniti, J.A.V.M.A., 1966, 149, 1079
COUNCIL PUBL. HEALTH REG. VET. MED., Serbatoi di salmonelle negli animali e nei mangimi, J.A.V.M.A., 1966, 149, 1080
DACK G., La prevenzione degli avvelenamenti alimentari e delle contaminazioni degli alimenti, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965,40
D'AOUST J.Y., Pathogenicity of food-borne *Salmonella*, Int. J. Food Micr., 1991, 12, 17
D'AOUST J.Y., *Salmonella* and the international food trade, Int. J. Food Micr., 1994, 24, 11

DRAGER H., Salmonellosen, Springer Verlag, Leipzig, Rep. Fed. Ted., 1975
DUGUID J.P. e Coll., Fimbriae and adhesive properties of *Salmonellae*, J. Path. Bact., 1966, 92, 107
DUVAL J., Diagnostica batteriologica delle salmonellosi, Gaz. Med. Vet., 1965, 72, 2043
EDWARDS P., Salmonellosis: an expanding problem, Proc. National Conference on Salmonellosis, Atlanta, USA, 1964, 7
EDWARDS P. e Coll., Salmonellosis, Adv. Vet. Sci., 1967, 11, 1
ELLIOT P., Nuovo incubatore a gradiente di temperatura e massima temperatura di crescita e resistenza al calore delle salmonelle, Appl. Micr., 1965, 13, 73
FIRMAN J.E., Air sterilisation and disinfection, Process Biochemistry, 1970, 5, 21
GALTON M. e Coll., Salmonelle negli alimenti, Proc. Communicable Disease Center, Atlanta, USA, 1964
GILBERT R.J. e Coll., The hygiene of slicing machines, carving knives and can openers, J. Hyg. Camb., 1968, 66, 439
GOETZ R., Alcune osservazioni sul problema delle infezioni da *Arizona* nei polli, Vet. Med., 1953, 48, 59
GOETZ R., Ricerca sulle infezioni da *Arizona paracolon* nei polli, J.A.V.M.A., 1954, 124, 120
GOETZ R., Il controllo delle infezioni da paratifi e *paracolon* nei tacchini, Avian Dis., 1962, 6, 93
GONZALES P. e Coll., Vergleichende Untersuchungen zur Thermoresistenz von einigen *Salmonella*-serovaren aus Trockenprodukten und unbehandelten Materialen, Arch. Lebens., 1983, 34, 109
HADLOK R., Frequenza delle salmonelle nei suini macellati sani, Fleischwirtsch., 1966, 11, 1226
HARWEY R., Sierotipi di salmonelle ed *Arizona* isolati da ossa in polvere indiane usate per la preparazione di mangimi animali, Monthly Bull., 1962, 21, 54
HARWEY R., Salmonelle del *sub-genus* III (*Arizona*) isolate da mattatoi in Inghilterra e nel Galles, J. Hyg., 1966, 64, 271
HEDDLESON R.A. e Coll., Destruction of *Salmonella* species heated in acqueous salt solutions by microwawe energy, J. Food Protect., 1993, 56, 763
HENSON S., Estimating the incidence of food-borne *Salmonella* and the effectiveness of alternative control measures using the Delphi method, Int. J. Food Micr., 1997, 35, 195
HOBBS B.C., Food poisoning from poultry, Poultry Diseases, Gordon ed., Edimburg, England, 1971, 65
KAMPELMACHER E., Il problema degli alimenti contaminati da salmonelle, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 113
KAMPELMACHER E. e Coll., Experimental studies to determine the temperature and duration of heat treatment required for decontamination of feed meals, Zbl. Vet. Med., 1965, 12 B, 50
KAMPELMACHER E., Mit Salmonellen leben ?, Fleischwirtsch., 1980, 60, 1670
KAURA K.Y. e Coll., Production, partial purification and characterization of *Salmonella* heat-labile enterotoxin, Zbl. Bakt. Hyg. A, 1983, 256, 87
KIESNER J., FDA issues policy statement on *Salmonella* in feed ingredients, Feedstuffs, 1967, 39, 1
KLEINER U. e Coll., Laboratory investigation on decontamination of *Salmonella* on bone meal by means of propionic acid, Zbl. Hyg., 1991, 192, 146
KOUPAL L.R. e Coll., Assay, characterisation and localisation of a enterotoxin produced by *Salmonella*, Inf. Immun., 1975, 11, 14
JIWA S.F.H., Probing for enterotoxigenicity among the *Salmonellae*: an evaluation of biological assays, J. Clin. Microbiol., 1981, 14, 463
JIWA S.F.H. e Coll., Hemagglutinating and hydrophobic surface properties of *Salmonellae* producing enterotoxin neutralized by *Cholera* anti-toxin, Vet. Microbiol., 1993, 8, 443
MAGGI A., *Arizona* negli animali, Atti SISV, 1964, 18, 452
MAMMINI P. e Coll., Aspetti sierologici e colturali delle salmonellosi nell'uomo e in alcune specie animali, Ann. Sclavo, 1965, 7, 701
MASOERO P., Quesiti, considerazioni e riflessioni sulle attività zootecniche e mangimistiche nelle connessioni con le salmonellosi,, Riv. Zootecn. Vet., 1977, 1, 5

MITTEN H.R., What sanitarian should know about ultra-high temperature pasteurisation, J. Milk Food Technol., 1968, 31, 207
MORRIS G.K. e Coll., *Salmonellae* in fish meal plant : relative amounts of contamination at various stages of processing and a method of control, Appl. Micr., 1970, 19, 401
MOSSEL D.A.A. e Coll., Losses in viable cells of *Salmonellae* upon inoculation into dry animal feeds of various types, Poultry Sci., 1965, 44, 850
MOSSEL D.A.A., Salmonelle nei cibi e nei mangimi, Sel. Vet., 1966, 6, 355
MURASE T. e Coll., Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* following a food-borne outbreak, J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 3495
MURRAY J.M., Virulence factors and enteric salmonellosis, J.A.V.M.A., 1986, 189, 145
MURRAY P.R. e Coll., Manual of Clinical Microbiology, 7th edition, ASM, Washington, USA, 1999
NATZ D., Environment, breeding - not only feed - cited as a major causes of *Salmonella* contamination, Feedstuffs, 1968, 40, 48
NEWELL K., The investigation and control of Salmonellosis, Bull. WHO, 1959, 21, 279
NEWELL K., Methods of investigating the international spread of *Salmonellae*, Proc. 65th Ann. Meeting USA Liv. San. Assoc., 1961, 464
OMS, Lutte contre la salmonellose animale et prevention des toxi-infections alimentaires à *Salmonella* chez l'homme, Bull. OMS, 1995, 73, 11
ORLIC N., Infezioni da *Salmonella typhimurium* negli uccelli, Vet. Arch.,1958, 28, 86
O.V.F. SUISSE, Ordonnance de l'Office Vétérinaire Fédéral concernant l'importation de fourrage d'origine animale, Bol. Off. Vet. Fed., 1969, 70, 182
PAULI G. e Coll., FDA regulatory aspects of food irradiation, Dairy Food Environm. Sanitat., 1995, 15 , 558
PETHER J.V.S. e Coll., The survival of *Salmonellae* on fingertips and transfer of the organisms to foods, J. Hyg. Camb., 1971, 69, 673
PETZOLD G. e Coll., Effetti del pH e della temperatura sulle Salmonelle, Mh. Vet. Med., 1965, 20, 103
PHLS (Public Health Laboratory Service), Rapporto annuale sugli isolamenti di *Salmonella* segnalati al sistema di sorveglianza ENTER-NET Italia, anno 1999
PODESTA' A. e Coll., Ulteriori indagini sull'alimentazione del pollame con mangimi artificialmente contaminati con salmonelle, Atti SISV, 1966, 20, 841
POPOVICI M. , Ruolo dei germi del gruppo *Citrobacter* nell'eziologia delle tossinfezioni alimentari, Arch. Roum. Path. Exp., 1964, 23, 1005
PRAGER R . e Coll., Clonal relationship of *Salmonella enterica*, serovar *Typhimurium*, phage type DT 104 in Germany and Austria, Zbl. Bakt. 1999, 289, 399
PRITULIN P., Microbiological diagnosis of salmonellosis, Veterinarya Moscow, 1964, 41, 29
RABSCH W. e Coll., Non typhoidal-salmonellosis: emerging problems, Microbes and Infections, 2001, 3, 237
REED G.H., Foodborne illness (part 2) - Salmonellosis, Dairy, Food Environm. Sanit., 1984, 13, 706
REUSSE U., Moglischkeiten der Dekontaminierung Salmonellenhaltiger Futtermittel, Arch. Lebens., 1980, 31, 117
RHODE R., Identificazione, epidemiologia e patogenicità delle salmonelle del *sub-genus* II, J. Appl. Bact., 1965, 28, 368
RICE K.M. e Coll., Inhibition of *Salmonella* by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurters, J. Food Sci., 1982, 47, 1615
RUSSO C., L'attività dell'acqua negli alimenti : quale credibilità ha ancora la sua misura ? , Ind. Alim., 1994, 33, 505
SACCANI C.F. e Coll., Ricerche sulla moltiplicazione delle salmonelle negli alimenti, Boll. I.S.M., 1962, 41, 526
SHMIDOV P., Variabilità della *Salmonella cholerae-suis* sotto l'effetto degli antibiotici. Esperimenti con le colture, Veterinarya Kiev, 1965, 7, 129

SILLIKER J.H., The *Salmonella* problem : current status and future direction, J. Food Protect., 1982, 45, 661
SMYSER C.F. e Coll., Detection of *Salmonella typhimurium* from artificially contaminated poultry feed and animal by-products, Avian Dis., 1963, 7, 423
SNOEYENBOS G.H., What veterinarians can do about the *Salmonella* problem, J.A.V.M.A., 1967, 151, 1795
SPIER S.J., Salmonellosis, Update Infect. Dis., 1993, 9, 385
STEVENS K.A. e Coll., Nisin treatment for inactivation of *Salmonella* species and other gram-megative bacteria, Appl. Environm. Microbiol., 1991, 57, 3613
SZMUNESS W., Proprietà microbiologiche ed epidemiologiche delle infezioni causate dalla *Salmonella enteritidis*, J. Hyg., 1966, 64, 9
TAYLOR J., Vita moderna e salmonellosi, Proc. Royal Soc. Med., 1965, 58, 167
THATCHER F.S., Microbiological standards for foods: their function and limitations, J. Appl. Bact., 1955, 18, 449
THOMAS A., Salmonella : menace or mith ?, Feedstuffs, 1968, 40, 74
THOMPSON A., *Salmonella* Committee hears of contamination, Feedstuffs, 1967, 39, 29
THRELFALL E.J., Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104 - a truly international epidemic clone, J. Antimicrob. Chemoter., 2000, 47, 7
TIECCO G., Effetto del congelamento su alcuni sierotipi di salmonelle, Riv. Zootecn. Vet., 1984, 12, 186
TOPLEY-WILSON, Microbiology and Microbial Infections, vol. 2, 3rd edition, Arnold, London, England, 1998
TOSCHKOFF A., Moltiplicazione e virulenza della *Salmonella typhimurium* nella carne di animali infettati, Zbl. Vet. Med., 1966, 13 B, 297
UZZAU S. e Coll., Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*, Epidemiol. Infect., 2000, 125, 229
VAN DE KEEVE R., Salmonellosi e loro epidemiologia, Ann. Soc. Belges Med. Trop., 1965, 45, 183
WALKER J.W. e Coll., *Salmonella* reservoirs in animal and feeds, J.A.V.M.A., 1966, 149, 1080
WARNECKE S. e Coll., Salmonellen - screening im Betriebslabor ?, Fleischwirtsch., 2000, 9, 125
W.A.V.F.H., Destination of *Salmonella* contaminated foods and feeds, Bilthoven, Netherlands, 1967
WEDMAN E., Findings and raccomandations of the U.S. Department of Agriculture Task Force on *Salmonella* in animal by-products and feeds, Proc. 65th Annual Meeting USA Liv. San. Assoc., 1961, 458
WHO, Prevention and control of foodborne salmonellosis through the application of the hazard analysis critical control point (HACCP) system, Report 86.65
WILLIAMS D.R., *Salmonella* and animal feeds, Nutrition Conference for Feed Manufactures, 1971
ZAVANELLA M. e Coll., Tipizzazione di salmonelle isolate in Lombardia ed Emilia da animali e da alimenti negli anni 1966-1970, Vet. It., 1971, 22, 165
ZAVANELLA M. e Coll., Tipizzazione di salmonelle isolate in Lombardia ed Emilia da animali e da alimenti negli anni 1971-1975, Giorn. Mal. Inf. Parass., 1976, 28, 329

PARTE PRIMA

1. COLLOCAZIONE TASSONOMICA DELLE SALMONELLE

Le salmonelle sono un **genere** all'interno della **famiglia** delle *Enterobacteriaceae*. Le caratteristiche biochimiche di questa famiglia sono quelle selezionate da King-Weaver nella nota chiave diagnostica per i batteri gram-negativi sotto riportata (tabella 1):

Tabella 1 - Caratteristiche biochimiche della famiglia delle *Enterobacteriaceae* selezionate da King-Weaver (riportate da Carter, 1975)

FAMIGLIA O GENERE	*TEST* O-F GLUCOSIO	SVILUPPO SU MAC CONKEY AGAR	OSSIDASI	CATALASI	MOBILITÀ
Enterobacteriaceae	F	+	-	+	+
Yersinia	F	+	-	+	-
Pseudomonas	O	+	+	+	+
Aeromonas	F	+	+	+	+
Pasteurella	F	-	+	+	-
Bordetella	-	+	+	+	+
Actinobacillus	F	-	+	+	-
Brucella	-	-	+	+	-
Haemophilus	-	-	+	-	-

O = metabolismo ossidativo; F = metabolismo fermentativo.

Altri generi di interesse sanitario, appartenenti alla medesima famiglia delle *Enterobacteriaceae*, sono:

ESCHERICHIA	*SHIGELLA*	*CITROBACTER*	*KLEBSIELLA*
ENTEROBACTER	*SERRATIA*	*PROTEUS*	*PROVIDENCIA*

La differenziazione fra questi microrganismi avviene per via biochimica e prevede un certo numero di prove, delle quali le più significative sono richiamate nella tabella seguente (tabella 2):

Tabella 2 - Principali prove biochimiche differenziali all'interno della famiglia delle *Enterobacteriaceae*

Principali caratteri differenziali	*Escherichia*	*Shigella*	*Salmonella*	*Citrobacter*	*Klebsiella*	*Enterobacter*	*Serratia*	*Proteus*	*Providencia*
indolo	+	+	-	-	-	-	-	+	+
urea	-	-	-	d	+	-	d	+	-
lisina decarbossilasi	d	-	+	-	+	+	+	-	-
beta-galattosidasi (ONPG)	+	d	-	+	+	+	+	-	-
Voges-Proskauer (VP)	-	-	-	-	+	+	+	-	-

d = comportamento variabile

Ulteriori caratteristiche biochimiche disponibili per distinguere le salmonelle sono elencate da Kauffmann (1966) e da Buxton (1976) nella tabella 3:

Tabella 3 - Ulteriori caratteristiche biochimiche disponibili per distinguere le salmonelle secondo Kauffmann (1966) e Buxton (1976)

Test	*Salmonella*	*Shigella*	*Escherichia*	*Citrobacter*	*Klebsiella*	*Enterobacter*	*Proteus*	*Providencia*
Mobilità	+	-	+	+	-	+	+	+
H_2S	+	-	-	+	-	-	+	-
VP	-	-	-	-	+	+	-	-
Lattosio	-	-	+	+	+	+	--	-
Saccarosio	-	-	V	V	+	+	V	V
Citrato (Simmons)	+	-	-	+	+	+	V	+

V = comportamento variabile

Per effettuare le prove biochimiche si può ricorrere a *test* biochimici miniaturizzati disponibili in commercio oppure seminare i terreni in provetta secondo i metodi classici.

Mentre per l'allestimento dei test miniaturizzati si rimanda alle istruzioni fornite dalle case produttrici, per le prove tradizionali nominate nel testo i relativi terreni e reagenti da preparare sono riportati in appendice.

Riferimenti bibliografici

ANDERSON J., Beta-galactosidase of *Paracolobactrum aerogenoides*, J. Bact., 1960, 80, 297
BIGLAND A., *Arizona*, Can. J. Comp. Med., 1958, 22, 308
BRUNER A., *Arizona*, Cornell Vet., 1952, 42, 22
BULLING E., Biochemical diffrentiation of *Enterobacteriaceae*, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1965, 78, 61
CEDDIA T. e Coll., Simplified Identification of Bacteria belonging to the *genus Salmonella*, Zbl. Bakt. Hyg. A, 1987, 466, 438
CLARKE P.H., Biochemical methods for bacteriology, J. Gen. Micr., 1952, 6, 187
EDWARDS P. e Coll., Newer biochemical methods in the recognition of *Shigellae* and *Salmonellae*, Am. J. Med. Techn., 1956, 22, 28
EDWARDS P. , Frequenza e caratteristiche del gruppo *Arizona*, Bact. Rev., 1959, 23, 155
EWING W. e Coll., The decarboxylase reactions of *Enterobacteriaceae* and their value in taxonomy, Publ. Health Lab., 1960, 18, 77
EWING W., *Edwardsiella*, un nuovo genere di *Enterobacteriacea*, Int. Bull. Bact. Nomencl. Tax., 1965, 15, 33
FALKOW S., Il *test* della lisina e dell'ornitina decarbossilasi, Am. J. Clin. Path., 1956, 29, 598
FIFE R., *Arizona*, Antonie Van Leeuwenhoek, 1965, 31, 11
FRITSCHE D., Differenziazione di *Salmonella* da *Citrobacter* col *test* della lisina-decarbossilasi, Zbl. Bakt. Orig., 1964, 194, 188
GERLACH E.H. e Coll., A rapid test for lisine-decarboxylase production by *Enterobacteriaceae* cultures, Am. J. Med. Techn., 1967, 33, 372
GIOLITTI G. , Schema per l'identificazione degli Enterobatteri, Atti Congr. esame batteriologico carni, Salerno, 1965
GIOVANARDI A. e Coll., Tecnica per l'identificazione delle *Enterobacteriaceae*, Assoc. Ital. Igiene, Tip. Regionale, Roma, 1952
GOODMAN R.E. e Coll., Il *test* della Beta-galattosidasi nella fermentazione lenta del lattosio delle *Enterobacteriaceae*, J. Bact., 1966, 2, 318
GONZALES A., Salmonelle lattosio-fermentanti, J. Bact., 1966, 91, 1661
GREGERSEN T., An evaluation of the Patho -Tec system for identification of *Enterobacteriaceae*, Nord. Vet. Med., 1976, 28, 316
HAVELAAR A.H. e Coll., False-negative oxidase reaction as a result of medium acidification, Antonie van Leeuwenhoek, 1980, 46, 301
JONHSON J., Biochemical differentiation of the *Enterobacteriaceae* with the aid of Lysine-Iron-Agar, Appl. Micr., 1966, 14, 212
KAUFFMANN F., Diagnosi biochimica differenziale delle *Enterobacteriaceae*, The Bacteriology of *Enterobacteriaceae*, Munskgaard Ed., Copenhagen, 1966.
KAUFFMANN F., Zur Klassification des Genus *Salmonella*, Zbl. Bakt. ,1967, 205, 399
KNOTHE H. , *Enterobacteriaceae*, Zbl. Bakt. Orig., 1969, 211, 110
KOVACS N., Identification of *Pseudomonas pyocianea* by the oxidase reaction, Nature, 1956, 128, 703
LAPAGE S., Beta-galattosidasi e fermentazione del lattosio, J. Clin. Path., 1964, 17, 2
LEDERBERG J. The B-D-galactosidase of *E. coli*, strain E 12, J. Bact., 1950, 60, 381
LEIFSON E., La fermentazione del sodio malonato come mezzo per differenziare *Aerobacter* ed *Escherichia*, J. Bact., 1933, 36, 329
LUBIN A.H. e Coll., Studies on the B-D-galactosidase activities of *Enterobacteriaceae*, Publ. Health Lab., 1964, 22, 83
METKA P. e Coll., Rapid presumptive Identification of Enterics with Reagent Impregnated Paper Strips, Am. J. Med. Techn., 1968, 34, 271
MOSSEL D.A.A., The differential Enterobacteriogramme, Lab. Pract., 1968, 17, 1344

MULLERAT J. e Coll., Inactivation of *Salmonella* species and other food-borne pathogens with salmide, a sodium-chloride-based oxyhalogen disinfectant, J. Food Protect., 1995, 58, 535
PICKETT M. e Coll.., Il *test* della B-galattosidasi per distinguere *Citrobacter* e *Salmonella*, Appl. Micr., 1966, 2, 178
REINHOLD A., Vergleichende Untersuchungen zur biochemischen Differenzierung von *Enterobacteriaceae* unter Verwendung von Patho -Tec Testreifen, Wissensch. Zeitschr., 1975, 24, 303
ROLAND F., Differenziazione rapida di germi lattosio-negativi, Ann. Inst. Pasteur, 1947, 88, 914
SELIGMAN R. , *Arizona*, Bull. Res. Council Israel, 1961, 9, 147
SHAW C. e Coll., Terreno al malonato per la differenziazione fra *Proteus* e *Providencia*, J. Gen. Micr., 1955, 13, 155
STELLMACHER W., Uber zwei neue reaktionen fur Enterobakterien, Mn. Vet. Med., 1959, 14, 378
SZTURM S., Observation sur la recherche de la B-galactosidase dans le genre *Shigella*, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 284
THILO W. e Coll., Beitrag zur serologischen Typisierung von *Salmonella*, *Shigella* und *Enteritis-coli* Stammen, Arzneimittelstandardisierung, 1968, 14, 81
ULLMANN U., Ein einfacher Indolnachweis im Kligler-Zweizucker-Eisenagar, Zentr. Bakt. Orig., 1968, 208, 469
WEHRSPANN P., Untersuchungen zur Differential Diagnose zwischen *Salmonella sub-genus IV* und *Citrobacter*, Arch. Hyg. Bakt., 1968, 152, 156
WOOD W.A., Metabolism of carbohydrates and related compounds, Ann. Rev. Micr., 1957, 11, 253

2. PRINCIPALI CARATTERISTICHE

Definizione del genere

Il genere *Salmonella* è caratterizzato da bastoncini gram-negativi, aerobi, non sporigeni, per lo più mobili, catalasi positivi, ossidasi negativi, prevalentemente lattosio e indolo negativi, che crescono sui comuni terreni anche in presenza di sali biliari. Si tratta di germi sierologicamente correlati, agglutinabili da un siero polivalente, data la somiglianza di struttura antigene esistente tra le specie che compongono il genere.

2.1 **Caratteristiche colturali**

Le salmonelle crescono facilmente su terreni sintetici. Nei terreni liquidi (Brodo nutritivo, Trypticase Soy Broth, BHI Brodo, ecc) sviluppano con intorbidamento uniforme, raggiungendo dopo 18-24 ore d'incubazione a +37 °C una concentrazione di circa 10^9 batteri per ml.
Anche nei terreni liquidi d'arricchimento (Brodo selenito, Brodo tetrationato, ecc) il grado di sviluppo è buono, seppure leggermente inferiore o uguale a quello ottenibile in brodi non selettivi (10^8/10^9 germi per ml dopo 24 ore a +37 °C).
Su terreni solidi non selettivi, seminati in piastre di Petri, si osservano, dopo incubazione a +37 °C per 24 ore, colonie rotonde, del diametro di 2-3 mm, a margine netto, convesse, incolori, generalmente a superficie liscia, lucente (fase S) e raramente a superficie opaca e ruvida (fase R). Questi aspetti corrispondono ad una variazione reversibile chiamata liscia/ruvida o *smooth*/*rough*, S ↔ R.
In provetta, sui medesimi terreni "a becco di clarino" seminati sulla parte inclinata (*slant*), la crescita si presenta sotto forma di una patina omogenea, translucida, di consistenza cremosa e raramente con tendenza ad assumere un aspetto "filante", se prelevata con l'ansa. In quest'ultimo caso è difficile allestire sospensioni acquose (ad es. in soluzione fisiologica) o nei sieri diagnostici agglutinanti. Questo aspetto corrisponde ad una variazione reversibile chiamata mucoide/non mucoide, M ↔ N.
Su Agar sangue le colonie hanno dimensioni leggermente maggiori rispetto ai comuni terreni solidi e non presentano emolisi.
Poche salmonelle crescono stentatamente, formando colonie del diametro di 0,5 -1 mm, tendenti a rimanere tali anche dopo prolungata incubazione.
Si tratta delle cosiddette colonie "nane" (*dwarf colonies*), tipiche quasi esclusivamente delle salmonelle più "difficili" da coltivare (tra cui *S. cholerae-suis, abortus-equi, abortus-ovis, gallinarum-pullorum*).
Il diametro delle colonie "nane" può essere incrementato addizionando al terreno colturale sodio tiosolfato allo 0,1 % (metodo applicabile per le *sub*-colture in terreni non selettivi), oppure incubando per ulteriori 24 ore le piastre dei terreni di primo isolamento già lette a 24 ore e che mostrano microcolonie sospette.
Sui terreni solidi selettivi e/o differenziali le colonie hanno diametro inferiore e colorazioni diverse (tabella 10).

Trattandosi di terreni contenenti sostanze inibenti, il numero di colonie formate è inferiore di almeno una potenza decimale rispetto a terreni non selettivi presi come paragone (es. BHI Agar), sempre dopo incubazione a +37 °C per 24 ore.
In provette di Kligler Iron Agar, seminate per striscio e successiva infissione al fondo del terreno, le salmonelle crescono in genere abbondantemente, mostrando uno *slant* alcalino (rosso) e un fondo acido (giallo), mascherato da formazione di solfuro di ferro nero (reazione H_2S positiva), accompagnato spesso da bolle di gas (originato dalla fermentazione del glucosio).

2.2 Caratteristiche biochimiche

Il profilo biochimico **prevalente** nel genere *Salmonella* è il seguente (tabella 4):

Tabella 4 - Comportamento biochimico prevalente nel genere *Salmonella*

Reazione	Risultato	Reazione	Risultato
produzione di indolo	-	idrolisi dell'urea	-
rosso metile (RM)	+	Voges-Proskauer (VP)	-
riduzione dei nitrati	+	fermentazione glucosio + gas	+
produzione H_2S	+	fermentazione lattosio	-
fermentazione saccarosio	-	fermentazione salicina	-
fermentazione adonite	-	fermentazione mannite	+
fermentazione maltosio	+	fermentazione inosite	-
fermentazione sorbite	+	liquefazione gelatina	-
sviluppo con NH_4 citrato	+	sviluppo con KCN	-

Per l'allestimento delle prove elencate si rimanda a quanto riportato sotto il punto 1.

OSSERVAZIONE IMPORTANTE !!

Esistono a livello di specie e di ceppo numerose varianti al *profilo biochimico - tipo* sopra riportato, come risulta dal seguente prospetto (tabella 5):

Tabella 5 - Comportamento biochimico deviante di alcune salmonelle
(Kauffmann, 1966)

Test	Comporta-mento tipico	Comporta-mento deviante	Ceppi con comportamento deviante ***Salmonella***
Lattosio	**non fermenta**	**fermenta**	*anatum, paratyphi B, sub-genus III (=Arizona)*
Saccarosio	**non fermenta**	**fermenta**	*anatum, heidelberg, horsham, hull, muenster, oranienburg, poona, senftenberg*
Salicina	**non fermenta**	**fermenta**	*sub-genus IV*
Glucosio	**fermenta con gas**	**non produce gas dalla fermentazione**	*paratyphi A, paratyphi B, typhimurium, derby, abortus-equi, thompson, dublin, eastbourne, anatum, senftenberg, infantis, newport, salford, fulica, fanti*
Mannite	**fermenta**	**non fermenta**	*typhi-suis*
Sorbite	**fermenta**	**non fermenta o fermenta lentamente**	*fulica, brandenburg, napoli, flottbek, ferlac, paratyphi A, abortus-ovis, cholerae-suis, typhi-suis, typhi, sendai, gallinarum*
Maltosio	**fermenta**	**non fermenta**	*typhimurium var. copenhagen, hessarek, fann, pharr, pullorum*
		fermenta tardivamente	*newington, bljidorp, willemstad*
Indolo	**non produce**	**produce**	*eastbourne, panama, thompson, javiana, muenchen, marylebone, bareilly, mikawasima, weston, newport, nima, carrau, kumasi, lawndale, new-mexico*
Gelatina	**non liquefa**	**liquefa**	*sub-genus II, sub-genus III, sub-genus IV, abortus-bovis, schleissheim, texas, azteca*
NH_4 citrato	**cresce in presenza di NH_4 citrato**	**non cresce in presenza di NH_4 citrato**	*paratyphi A, sendai, typhi, typhi-suis, abortus-ovis*
KCN	**non cresce in presenza di KCN**	**cresce in presenza di KCN**	*sub-genus IV, fanti, flottbek, langenhorn, hotmarschen*

Riferimenti bibliografici

BARBOUR E.K. e Coll., A non-motile *Salmonella* mutant (6,7 : - : -) and two serological variants encountered in Saudi Arabia, Zbl. Bakt. Hyg. A, 1984, 256, 548
BARRY A.L. e Coll., Two quick methods for Voges-Proskauer test, Appl. Micr., 1967, 15, 1138
BULMASH J.M., Lactose and sulphide reactions of an aberrant *Salmonella* strain, J. Bact., 1965, 89, 259
BULOW P., The ONPG test in diagnostic bacteriology, Acta path. micr. scand., 1964, 60, 376 e 387
COSTIN I., Studio biochimico ed antigenico del gruppo *Salmonella gallinarum-pullorum*, Ann. Inst. Pasteur, 1966, 5, 592
COSTIN I., Il *test* della Beta-galattosidasi, Zbl. Bakt., 1966, 200, 49
DIXON J., A sucrose-fermenting strain of *Salmonella poona*, Monthly Bull., 1960, 19, 193
ENOMOTO M., Mutanti poco mobili di *Salmonella typhimurium*, J. Bact., 1965, 90, 1696
FRITSCHE D., Differenziazione delle salmonelle dai *Citrobacter* col *test* della lisina decarbossilasi, Zbl. Bakt. Orig., 1964, 194, 188
GIBSON A.M. e Coll., Predicting microbial growth : growth responses of *Salmonellae* in a laboratory medium as affected by pH, sodium chloride and storage temperature, Int. J. Food Micr., 1988, 6, 155
GONZALES A., Salmonelle lattosio-fermentanti, J. Bact., 1966, 91, 1661
GONZALE P. e Coll., Vergleichende Untersuchungen zur Thermoresistenz von einigen *Salmonella* - Serovaren aus Trockenprodukten und unbehandelten Materialen, Arch. Lebens., 1983, 34, 109
KAUFFMANN F., L'utilizzazione del terreno al d-tartrato. Acta path. micr. scand., 1956, 38, 481
KAUFFMANN F., The bacteriology of *Enterobacteriaceae*, Munksgaard, Copenhagen, 1966
KOVALEVA V., Studio comparativo dei metodi per riconoscere la dissociazione di fase delle salmonelle, J. Micr. Epid. Immunol., 1966, 4, 125
LAPAGE S. e Coll., Il *test* della Beta-galattosidasi e la fermentazione del lattosio per l'identificazione degli Enterobatteri comprese le salmonelle, J. Clin. Path., 1964, 17, 117
LE MINOR L., Triptofano-deaminasi *test*, Ann. Inst. Pasteur, 1957, 92, 551
LEDERBERG J., The B-D-galactosidase of *E. coli*, strain K 12, J. Bact., 1950, 60, 381
LE MINOR L., Il *test* della lisina-decarbossilasi, Ann. Inst. Pateur, 1957, 92, 551
LILLEENGEN K., Tipizzazione batteriologica della *S. gallinarum* e *S. pullorum*, Acta path. micr. scand., 1952, 30, 194
MOLLER V., Simplified test for some amino-acids decarboxylase and for the arginine dihydrolase system, Acta path. micr. scand., 1955, 36, 158
O' KANE J., Metabolism of carbohydrates and related compounds, Ann. Rev. Micr., 1956, 10, 275
PREUSS O., Meccanismo del *test* dell'urea, Zeitschr. Hyg., 1949, 129, 110
RICHTER E.R. e Coll., Gas-liquid chromatographic differentiation beetwen *S. gallinarum* and *S. pullorum*, J. Food Protect., 1982, 45, 919
SANDERS A., Prove biochimiche rapide con dischi impregnati, Appl. Micr., 1957, 5, 36
SCHAFLER S., Acquisition of lactose-fermenting properties by *Salmonella*, J. Bact., 1960, 79, 203
TAKACS J., Behaviour of *Salmonellae* causing specific animal paratyphoid in lisine-decarboxylase test, Acta Vet. Acad. Sci. Hung., 1968, 18, 19
TRABULSI L. e Coll., The differentiation of *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum* by biochemical methods, Cornell Vet., 1962, 52, 563
WEHRSPANN P., Untersuchungen zur differential Diagnose zwischen *Salmonella sub-genus IV* und *Citrobacter*, Arch. Hyg. Bakt., 1968, 152, 156

3. STRUTTURA ANTIGENE

La sierologia delle salmonelle si basa su un mosaico di antigeni che sono presenti nella cellula batterica.

• *Antigeni O*
La superficie della cellula possiede, a livello della membrana esterna, numerose molecole di lipopolisaccaride (LPS), che sono responsabili della tossicità del germe (= endotossina) e della specificità antigenica del soma (= *antigeni somatici O*).
Il lipopolisaccaride che costituisce gli antigeni O è formato da due parti: la prima, più profonda, è composta da 5 carboidrati ed è comune a tutti gli enterobatteri; la seconda, più esterna, è formata da catene saccaridiche, ciascuna delle quali contiene una sequenza di alcuni oligosaccaridi.
Dal differente arrangiamento degli oligosaccaridi nelle catene dipende la diversità degli antigeni somatici. Così, ad esempio, da differenti sequenze dei medesimi zuccheri, trae origine nella *Salmonella typhimurium* la configurazione antigenica somatica 1,4,5,12 oppure nella *Salmonella enteritidis* la configurazione antigenica somatica 1,9,12.
Come si vede dall'esempio, la struttura antigenica di un sierotipo diventa tipica solo quando viene considerata per intero, perchè i singoli elementi fattoriali (come l'antigene 1 oppure l'antigene 12) sono ritrovabili in più sierotipi, che pertanto diventano sierologicamente correlati (ed agglutinabili da un medesimo siero).
Attualmente si conoscono 65 diversi antigeni O, indicati con numeri.
Le salmonelle che presentano analogie nella struttura antigene O vengono riunite in gruppi sierologici (chiamati A, B, C, ecc che corrispondono, rispettivamente, alle salmonelle dotate degli antigeni somatici 1,2,12 oppure 1,4,5,12 o ancora 6,7,8 e così via), come più avanti specificato a proposito dello schema sierologico di Kauffmann-White.
Alcuni antigeni somatici possono essere presenti o assenti nella stessa specie di *Salmonella.* Questo è il caso dell'antigene O 1 oppure dell'antigene O 5, ad esempio nella *S. typhimurium* (vedi anche capitolo 4.1).
In altri casi possono verificarsi variazioni più complesse, come avviene per l'antigene somatico O 12 nella *S. pullorum*, dove si assiste a variazioni *quantitative* dello stesso antigene, che può presentarsi addirittura in tre sotto-antigeni, conosciuti come 12_1, 12_2, 12_3.

• *Antigeni H*
Nelle specie mobili di *Salmonella* (costituiscono eccezioni non mobili le salmonelle *gallinarum e pullorum*) sono presenti gli antigeni flagellari (detti anche ciliari) meglio conosciuti come *antigeni H*, indicati con lettere minuscole dell'alfabeto o con numeri.
Si tratta di un gruppo formato attualmente da circa 35 antigeni di natura proteica, che vengono distrutti dal calore e che possono presentarsi in due fasi, chiamate fase 1 (o specifica, perchè tipica di quel sierotipo) e fase 2 (o aspecifica, perchè comune a più sierotipi). Le fasi 1 e 2 possono presentarsi contemporaneamente al momento delle prove di agglutinazione, ma più spesso una salmonella bifasica sviluppa in

prevalenza una sola delle due fasi ed è quindi indispensabile per la tipizzazione provocare la cosiddetta *inversione di fase*, in modo da far esprimere al germe anche la fase latente (vedi capitolo 7.5).
Alcuni sierotipi di *Salmonella*, chiamati *monofasici*, possiedono solo una fase (generalmente la fase 1), come nel caso della *Salmonella enteritidis* (struttura antigenica = 1,9,12 : g,m -).
Pochissime specie hanno 3 fasi sierologiche H e sono dette "trifasiche" (ad esempio: *Salmonella II* con struttura antigene 44 : z_{29} - e,n,x : z_{42}).
Raramente le salmonelle possono perdere la struttura antigenica H, diventando immobili. Questo aspetto corrisponde ad una variazione reversibile, chiamata HO ↔ O.
Il fenomeno può dipendere dalla presenza, nella coltura *in vitro*, di sieri aggiunti che inibiscono lo sviluppo e la funzionalità dei flagelli.

• *Antigene Vi*
In alcune salmonelle si trova anche un terzo tipo di antigene, chiamato *Vi* (da virulenza), dato che gli stipiti che lo possiedono sono più virulenti (ad es. *Salmonella typhi, S. paratyphi C, S. dublin*). Esso ha la caratteristica di mascherare gli antigeni O, rendendoli inagglutinabili dai sieri somatici, per cui è necessario in questi casi riscaldare a 100 °C per 1 ora la sospensione batterica (trattandosi di antigeni termolabili) per renderla di nuovo agglutinabile. L'antigene Vi delle salmonelle corrisponde agli antigeni K (= capsulari) degli altri enterobatteri.
Il fenomeno della perdita di agglutinabilità con i sieri somatici è conosciuto come variazione reversibile, chiamata V ↔ W.

Riferimenti bibliografici

BEHEREND L. e Coll., La *Salmonella muenster*, Dtsch. Gesundh. Wes., 1965, 20, 1237
BISCHOFF H., Ein Beitrag zur Klarung der Frage nach der Herkunft seltener *Salmonella*-typen, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1955, 68, 306
DUGUID J.P. e Coll., Fimbriae and adhesive properties in *Salmonellae*, J. Path. Bact., 1966, 92, 107
EISENSTEIN T. e Coll., Immunity to infection with *Salmonella typhimurium* : mouse-strain differences in vaccine and serum mediate protection, J. Inf. Dis., 1984, 150, 425
GRUND S. e Coll., A new type of fimbriae on *Salmonella typhimurium*, J. Vet. Med., 1988, 35, 779
GRUNENWALD R. e Coll., Identification of *Salmonella* somatic and flagellar antigens by modified serological methods, Appl. Environm. Micr., 1990, 56, 24
HEATHER C. e Coll., Salmonelle trifasiche, Tex. Rep. Biol. Med., 1965, 23, 458
HERRERO E., Antigene 45 $_{1,2,3,4,5}$, Arch. Hyg. Bakt., 1966, 5, 436
HERRERO H., Il gruppo O 45 delle Salmonelle, Ach. Hyg., 1966, 5, 437
IBRAHIM G-F. e Coll., Methods for the isolation of higly purified *Salmonella* flagellins, J. Clin. Microbiol., 1985, 22, 1040
KAUFFMANN F., Ceppi monofasici di *Salmonella* per la preparazione dei sieri H, Acta path. micr. scand., 1965, 63, 261
KOSTERS J., Ricerca sulla struttura antigene e sul comportamento sierologico della *Salmonella gallinarum*, Berl. Munch. Tierarztl. Woch., 1965, 11, 211
LE MINOR L., La *Salmonella dublin* 9,12 : Vi : g,p - nell'uomo, Ann. Inst. Pasteur, 1964, 107, 550
LILLEENGEN K., Tipizzazione delle salmonelle *dublin* ed *enteritidis*, Acta path. micr. scand., 1950, 27, 625

LUZZIO A., Variazioni antigeniche della *Salmonella pullorum*, Poultry Sci., 1953, 32, 7
OLD D.C. e Coll., Fimbriation, pellicle formation and the amount of growth of Salmonellas broth, J. Gen. Micr., 1968, 51, 1
PINK R. e Coll., Genes, cells and antibiotics, New Sci., 1969, 42, 653
PONTELLO M., Le salmonelle : dalla tassonomia alla diagnostica, Sedac, Roma, 1991
RUDAT K.D. e Coll., *Salmonella neuernberg* 42 : z - z_6 eine neue *Salmonella* species, Zbl. Bakt. Orig., 1967, 202, 135
SCHRIRE L., The a - z - z_{35} group of *Salmonella* antigens, Nature, 1960, 186, 569
TIEFENBACHER H., Variazioni dell'antigene 12_2 e 12_3 nella *Salmonella enteritidis*, Inaug. Diss. Giessen, 1954
THORNS C.J., *Salmonella* fimbriae : novel antigens in the detection and control of *Salmonella* infections, Br. Vet. J., 1995, 151, 643

4. CLASSIFICAZIONE DELLE SALMONELLE

Sono state proposte alcune classificazioni delle salmonelle e tra queste le più conosciute sono le seguenti:

4.1 Classificazione secondo Kauffmann-White

Kauffmann nel 1931 presentò lo schema di classificazione delle salmonelle rimasto in uso fino ai nostri giorni ed universalmente accettato.
In realtà l'Autore riscrisse, ampliandolo, uno schema precedente elaborato da Schultze, White e Scott.
Questi sono i punti fondamentali di Kauffmann:

- Le salmonelle sono un **genere** (*genus*) diviso in 4 **sotto-generi** *(sub-genus, pl. sub-genera),* formati da numerose **specie** *(species)* che a loro volta contengono i **sierotipi,** ai quali sono riconducibili i **ceppi**.

- Il ***genere*** presenta le seguenti caratteristiche: bastoncini gram-negativi, aerobi, non sporigeni, per lo più mobili, che crescono bene sui comuni terreni, glucosio e nitrati positivi e negativi per indolo, urea, VP, adonite, saccarosio. Con alcune eccezioni, risultano negativi anche lattosio e salicina.
- I ***sotto-generi*** sono 4 (denominati *sub-genus* I - II - III - IV) differenziabili con alcune prove biochimiche. Il *sub-genus* III corrisponde ad *Arizona* (vedi tabella 6):

Tabella 6 - Prove biochimiche più significative per la suddivisione del genere *Salmonella* in quattro sotto-generi (secondo Kauffmann, 1966)

test	*I*	*II*	*III*	*IV*
dulcite	+	+	-	-
lattosio	-	-	+	-
salicina	-	-	-	+
malonato	-	+	+	-
KCN	-	-	-	+

- La ***specie*** è composta da tanti *sierotipi* sierologicamente correlati tra loro. Ad esempio, la *Salmonella paratyphi B* è una specie con una struttura antigene ben definita (4,5,12 : b -1,2) alla quale appartengono vari sierotipi riconducibili a questa struttura e che possono peraltro differire fra loro per qualche carattere minore (ad esempio, possedere o meno l'antigene 1 nella struttura, che viene scritta (1),4,5,12 : b - 1,2 oppure 1,4,5,12 : b - 1,2, qualora la presenza del fattore antigene sottolineato sia condizionata da conversione ad opera di batteriofagi.

• I **ceppi** (in inglese = *strain*) hanno la medesima formula antigenica, ma possono presentarsi con differenze biochimiche (ad esempio, fermentare o meno un certo zucchero oppure produrre e non produrre H_2S).

4.2 Classificazione secondo Le Minor

Il genere *Salmonella* consiste di due sole specie, *S. enterica*, che si divide in sei sottospecie (*S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*) e *S. bongori*.
I sierotipi che apparttengono a *S. enterica* subsp. *enterica* sono designati con un nome che usualmente è correlato al luogo geografico nel quale il sierotipo è stato per la prima volta isolato. Il nome viene scritto in lettere romane (non italiche) e la prima lettera è maiuscola. I sierotipi apparteneni alle altre sottospecie sono designati dalle loro formule antigeniche, seguite dal nome della sottospecie (tabella 7):

Tabella 7 - Classificazione delle salmonelle (secondo Le Minor, 1987)

specie	*nome della sottospecie*	*numero della sottospecie*
S. enterica	*enterica*	I
	salamae	II
	arizonae	IIIa
	diarizonae	IIIb
	houtenae	IV
	indica	VI
S. bongori		V

Test	*S. enterica*						*S. bongori*
	I	II	IIIa	IIIb	IV	VI	V
Dulcite	+	+	-	-	-	±	+
Lattosio	-	-	-	+	-	±	-
ONPG	-	-	-	+	-	±	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Sorbitolo	+	+	+	+	+	-	-
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
KCN	-	-	-	-	+	-	+
d(+)tartrato	+	-	-	-	-	-	-

NOTA - Il genere *Arizona* è stato definitivamente incorporato nel genere *Salmonella* come sotto-specie IIIa (*S. enterica* subsp. *arizonae*) contenente i ceppi monofasici e sotto-specia IIIb (*S. enterica* subsp. *diarizonae*) contenente i ceppi bifasici.

Denominazioni
Nella classificazione di Le Minor, la *Salmonella typhimurium* (secondo Kauffmann) verrebbe chiamata *Salmonella enterica* sottospecie *enterica* sierotipo *Typhimurium.*

NOTA - Sono state proposte anche altre classificazioni, meno famose, tra cui quella "numerica" (contraddistinta cioè da numeri al posto dei nomi) di Lockhart del 1964.

CONCLUSIONI

Attualmente vengono utilizzati contemporaneamente:
- lo schema di Kauffmann-White per quanto riguarda l' elenco di sierotipi;
- la nomenclatura di Le Minor per quanto riguarda la suddivisione in sottospecie.

In pratica, i quattro sotto-generi di Kauffmann sono diventati le sei sotto-specie di Le Minor.
La classificazione attuale riflette la presente tassonomia delle salmonelle ed è alla base degli aggiornamenti annuali allo schema di Kauffmann-White curati dal WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. Fanno parte di questo Centro l'Institut Pasteur di Parigi, l'Istituto d' Igiene di Amburgo ed il Centers for Disease Control and Prevention (CDC) di Atlanta (USA).

Riferimenti bibliografici

EDITORIAL, Nomenclature of *Salmonella*, J. Med. Microbiol., 1992, 37, 361

EWING W.H. , in Edwards-Ewing, Identification of *Enterobacteriaceae*, 4th ed., Elsevier Publ. Co., New York, USA, 1986

FARMER J.J. e Coll., The *Salmonella - Arizona* Group of *Enterobacteriaceae* : nomenclature, classification and reporting, Clin. Microbiol. Newsl., 1984, 6, 63

HOLT JG. e Coll., Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed., Williams & Wilkins, Baltimore, USA, 1994

KAUFFMANN F., Zur differentialdiagnose der *Salmonella* sub-genera I, II and III, Acta path. micr. scand., 1963, 58, 109

KAUFFMANN F., Classificazione e nomenclatura dei sub-genus I e IV delle Salmonelle, Zbl. Ref., 1966, 202, 484

KAUFFMANN F., Zur Klassification des *genus Salmonella*, Zbl. Bakt. Orig., 1967, 205, 399

KAUFFMANN F., *Enterobacteriaceae*, 2a. ed., Munksgaard, Copenhagen, 1962

LE MINOR L., Importanza epidemiologica della determinazione dei sierotipi di *Salmonella*, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 670

LE MINOR L., Supplément au schema de Kauffmann-White (IX), Ann. Inst. Pasteur, 1966, 111, 470

LE MINOR L. e Coll., Supplément au schema de Kauffmann-White (X), Ann. Inst. Pasteur, 1967, 113, 255

LE MINOR L., Supplément au schema de Kauffmann-White (XI), Ann. Inst. Pasteur, 1968, 15, 379

LE MINOR L. e Coll., Supplément au schema de Kauffmann-White (XIV), Ann. Inst. Pasteur, 1976, 127, 69
LE MINOR L. e Coll., Designation of *Salmonella enterica* sp. as the type and only species of the genus *Salmonella*, Int. J. System. Bacteriol., 1987, 37 , 465
LOCKHART W., Classificazione numerica dei sierotipi di salmonelle, J. gen. Microbiol., 1964, 35, 115
OLD D.C., Nomenclature of *Salmonella*, J. Med. Micr., 1992, 37, 361
PENNER J.L., International Committee on Systematic Bacteriology taxonimic subcommittee on *Enterobacteriaceae*, Int. J. System.Bact., 1988, 38, 223
POPOFF M.Y. e Coll., Antigenic formulas of the *Salmonella* serovars, WHO Collaborative Center for reference and research on Salmonella, Institut Pasteur, Paris, France, 1997
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1993 (no. 37) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 1994, 145, 711
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1994 (no. 38) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 1995, 146, 799
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1995 (no. 39) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 1996, 147, 765
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1996 (no. 40) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 1997, 148, 811
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1997 (no. 41) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 1998, 149, 601
POPOFF M.Y. e Coll., Supplément 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 2000, 151, 63
POPOFF M.Y. e Coll., Supplement 1999 (no. 43) to the Kauffmann-White scheme, Res. Microbiol., 2000, 151, 893
RAKOWSKY J., Isolamento di ceppi del nuovo gruppo di enterobatteri detto "*Bartolomew* " a Cuba, J. Hyg. Epidem., 1965, 9, 112
RHODE R., Zur serologischen Differentialdiagnose der *Salmonella sub-genera* I - IV, Zbl. Bakt., 1967, 205, 404
RHODE R., Serological integration of all known *Arizona* species into the Kauffmann-White scheme, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1979, 243, 148
SMITH H.V., Tipizzazione batteriologica della *Salmonella dublin*, J. gen. Micr.,1951a, 5, 919
SMITH H.V., Tipizzazione batteriologica della *Salmonella thompson*, J. gen. Micr., 1951c, 5, 472
WAYNE L.G., Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology, Int. J. Syst. Bacteriol., 1991, 41, 185

5. PREPARAZIONE DEI SIERI DIAGNOSTICI

ATTENZIONE !
La produzione di antisieri diagnostici deve essere affidata esclusivamente a personale medico-veterinario e realizzata osservando scrupolosamente le norme contenute in Italia nel D.L. n. 116 del 27 gennaio 1992, relativo alla protezione degli animali utilizzati a fini sperimentali o ad altri fini scientifici.

Esistono metodi differenti per la preparazione degli antisieri O e degli antisieri H e pertanto, qui di seguito, vengono descritte due metodiche distinte.
Viene trattata innanzitutto la *preparazione degli antigeni* da inoculare e la procedura per *l'immunizzazione degli animali.*
Gli animali inoculati elaborano il più delle volte, oltre agli anticorpi specifici verso le salmonelle con le quali sono stati iperimmunizzati, anche anticorpi aspecifici.
Viene pertanto spiegata anche la tecnica di *adsorbimento* delle agglutinine aspecifiche.
Il capitolo tratta inoltre dei *controlli* dei sieri ottenuti e della loro *conservazione*.

5.1 Preparazione dei sieri fattoriali O

(metodo usato presso il *Paul Ehrlich Institut* di Francoforte s/M, Germania)

Preparazione dell'antigene con il metodo di Roscka)

Questo metodo consente una buona, anche se non sempre completa, distruzione degli antigeni H, la cui sensibilità agli agenti chimico-fisici è variabile.
L'antigene O, detto anche antigene somatico, si trova nel corpo batterico ed è termolabile. Esso si sviluppa bene soprattutto su terreni batteriologici a basso contenuto di umidità. Di particolare importanza è, inoltre, il fenomeno di "sparizione" dell'antigene, che si accompagna alla variazione del ceppo, il quale diventa "ruvido" (= fase R).
Tali stipiti sono del tutto inadatti per la preparazione di sieri O, per cui bisogna scegliere sempre colture liscie (= fase S) che vengono realizzate su terreno solido contenente almeno il 2 % di agar. Tra i terreni solidi raccomandati si trova l'agar glicerinato, il Trypticase Soy Agar (TSA), il BHI Agar, ecc.

- Il ceppo da usare come antigene viene seminato su 20 piastre di Petri di uno dei terreni sopracitati e incubato a +37 °C per 20-28 ore, fino ad ottenere una patina uniforme.
- Alcuni ceppi (come *S. pullorum*) che crescono lentamente possono richiedere un'incubazione di 4 giorni.

- La patina batterica viene quindi raccolta con 40 ml di soluzione fisiologica sterile e la sospensione viene fatta bollire per 2 ore.
- Dopo raffreddamento si centrifuga per precipitare i germi (si consiglia di centrifugare sempre in centrifuga a braccio libero ad almeno 3000 rpm per 30 minuti) e si versa il soprastante.
- Al sedimento si aggiungono 4 ml di soluzione acquosa di allume di potassio saturata a caldo (concentrazione pari circa al 20 %).
- Si lascia una notte in termostato a +37 °C.
- Vengono fatti due lavaggi, aggiungendo acqua distillata sterile e centrifugando come sopra, eliminando ogni volta il soprastante.
- Si aggiungono 50 ml di alcool assoluto e si lascia agire per 4-6 ore a +37 °C.
- Dopo centrifugazione, si aggiungono ancora 50 ml di alcool assoluto e si lascia una notte in termostato a +37 °C.
- Si centrifuga e al sedimento vengono aggiunti 50 ml di acetone, che rimangono a contatto per 4-6 ore a +37 °C.
- Dopo centrifugazione, si aggiungono ancora 50 ml di acetone e si lascia una notte in termostato a +37 °C.
- Si centrifuga e si aggiunge acetone fino a consentire la risospensione del sedimento, che viene trasferito in piastre di Petri, poste senza coperchio in termostato a +37 °C per essicare l'antigene.
- Si raschia con un bisturi sterile il prodotto essicato, che viene raccolto in un recipiente sterile e pesato.
- L'antigene può essere conservato a questo stadio di preparazione in frigorifero per lunghi periodi e disciolto al momento necessario in soluzione fisiologica sterile, in ragione di 100 mg di sostanza secca per ml di sospensione.

Come esempio di scelta dei ceppi da usare per la produzione di sieri O si riporta la seguente lista:

siero da preparare	*ceppo scelto per la preparazione dell'antigene da inoculare*	*struttura antigene del ceppo*
4,5,12 (= gruppo B)	*S. typhimurium*	1,4,5,12 : i - 1,2, (7)
1,9,12 (= gruppo D)	*S. enteritidis* + *S. dublin*	1,9,12 : (f),g,m,(p),(t) - (1,7) 1,9,12 (Vi) : g,p -
6,7,8 (= gruppo C_1 + C_2)	*S. bareilly* + *S. muenchen*	6,7,14 : y - 1,5 6,8 : d - 1,2
3,10,15 (= gruppo E_1 + E_2)	*S. anatum* + *S. newington*	3,10 : e,h - 1,6 3,15 . e,h - 1,6
1,3,19 (= gruppo E_4)	*S. westerstede*	1,3,19 : l,z_{13} - (1,2)

Controlli dell'antigene preparato

a) controllo di concentrazione

Si controlla la densità batterica per confronto tra l'antigene e il nefelometro di Wellcome oppure di Mc Farland (vedi appendice), in modo da non superare i 900 milioni di germi per ml ed eventualmente si diluisce l'antigene troppo concentrato con soluzione fisiologica sterile.

b) controllo di sterilità

- Si seminano due ansate dell'antigene su due piastre di terreno di Gassner.
- Si mettono in termostato a +37 °C per 24 ore sia l'antigene preparato che le due piastre seminate.
- Le due piastre potranno dar luogo alla crescita di alcune colonie gialle.
- All'uscita dal termostato di queste due piastre, si seminano con l'antigene altre due piastre di terreno di Gassner, da incubare per 24 ore a +37 °C (secondo controllo di sterilità). L'antigene viene nel contempo conservato in frigorifero.
- Le piastre del secondo controllo devono risultare sterili.

Inoculazione degli animali e produzione del siero

- Vengono usualmente inoculati gruppi di sei conigli adulti del peso di circa 2 kg, preferibilmente (ma non necessariamente) di razza neo-zelandese, nella vena marginale dell'orecchio con le dosi seguenti, distanziate l'una dall'altra di 5 giorni (= 4 giorni tra ciascuna iniezione):
  1ª iniezione = ml 0,25 - 2ª iniezione = ml 0,5 - 3ª iniezione = ml 1 - 4ª iniezione = ml 2.
- Dopo cinque giorni dall'ultima inoculazione, gli animali vengono tenuti a digiuno per una notte (somministrando solo acqua da bere) e quindi, previa anestesia totale (*vedi metodo nella nota più avanti*), vengono salassati mediante introduzione di un ago-cannula sterile nella carotide.
- Il sangue, raccolto in recipienti di vetro sterili, viene lasciato coagulare a temperatura ambiente e poi staccato dal vetro con una bacchetta di vetro sterile. Segue il mantenimento in termostato a +37 °C per un'ora e quindi in frigorifero per una notte.
- Il siero, separato spontaneamente dal coagulo, viene raccolto per aspirazione con pipetta e centrifugato a 2000 rpm per 30 minuti.
- Si aggiunge come conservante una soluzione acquosa all'1% di sodio mertiolato in ragione di ml 1 per 100 ml di siero.
- In alternativa all'aggiunta del conservante, si fa passare il siero attraverso un filtro Seitz EKS1, avendo cura di saturare il filtro con soluzione fisiologica sterile prima di introdurre il siero, allo scopo di impedire che il filtro trattenga una parte del prodotto da filtrare.

NOTA

L'anestesia totale è ottenuta mediante inoculazione *lenta*, nella vena marginale dell'orecchio del coniglio, di uno dei seguenti farmaci, ai dosaggi indicati per kg di peso:

- zolazepan etiletamina + ketamina + xilazina 0,15 ml (escluso razza Nuova Zelanda)
- ketamina + diazepan (in rapporto 1:1) 10 - 20 mg
- metoesital 10 mg
- tiamilale 30 - 40 mg
- propofolo 8 -12 mg
- tiopenthal (preparato al 2% in acqua distillata sterile) 35 - 40 mg

5.2 Preparazione dei sieri fattoriali H

Preparazione dell'antigene

- Il ceppo usato per produrre l'antigene destinato all'immunizzazione degli animali viene seminato in brodo nutritivo ed incubato a +37 °C per 24 ore.
- La brodocoltura viene centrifugata per tre volte a 2000 rpm per 20 minuti, risospendendo ogni volta il sedimento in soluzione fisiologica formolata all'1 % e riportando il volume a quello originale della brodocoltura.
- Si controlla la densità batterica con i tubi di Wellcome o di Mc Farland, in maniera da non superare i 900 milioni di germi per ml ed eventualmente si diluisce con soluzione fisiologica sterile.
- Segue il controllo di sterilità come descritto per la preparazione dei sieri O.

NOTA - Per ridurre l'eventualità di reazioni crociate fra il siero che verrà prodotto e le salmonelle da saggiare, è conveniente scegliere, per l'immunizzazione degli animali, ceppi caratterizzati da antigeni somatici raramente rinvenibili nella pratica (es. oltre il gruppo O 40) oppure, se possibile, monofasici (come i ceppi selezionati da Rhode in Germania).

Come esempio di scelta dei ceppi da usare per la preparazione di sieri H si riporta la seguente lista:

siero da preparare	*ceppo scelto per la preparazione dell'antigene da inoculare*	*struttura antigene del ceppo*
a	*S. assen*	21 : a - (Rhode)
b	*S. atlanta*	13,23 : b - (Rhode)
c	*S. yolo*	35 : c - (Rhode)
d	*S. egusi*	41 : d - (Rhode)
e,h	*S. mara*	39 : e,h - (Rhode)
e,n,x	*S. abortus-equi*	4,12 : - e,n,x
L complex	*S. javiana*	!,9,12 : l,z_{28} - (Rhode)
G complex	*S. derby* *S. oranienburg* *S. dublin*	1,9,12 : g,p - (Rhode) 6,7 : m,t - (Rhode) 1,9,12 : g,p - (Rhode)
g,m	*S. enteritidis*	1,9,12 : g,m - (Rhode)
i	*Salmonella*	(8),20 : i - (Rhode)
k	*Salmonella*	41 : k - (Rhode)
r	*S. nairobi*	42 : r - (Rhode)
y	*Salmonella*	28 : y - (Rhode)
z_4,z_{23}	*S. waycross*	41 : z_4,z_{23} - (Rhode)
z_6	*Salmonella*	42 : - 1,6 (Rhode)
z_{15}	*S. PC 230*	4,12 : - e,n,z_{15} (Rhode)
z_{24}	*S. djakarta*	48 : z_4,z_{24} -
z_{29}	*S. tennessee*	6,7 : z_{29} - (Rhode)
2	*S. newport*	6,8 : - 1,2 (Rhode)
5	*S. javiana*	1,9,12 : - 1,5 (Rhode)
6	*Salmonella*	42 : - 1,6 (Rhode)
7	*Salmonella*	40_1,40_2 : - 1,7 (Rhode)

Fasi successive

Per l'inoculazione degli animali produttori di siero e per la conservazione dei sieri ottenuti si seguono le medesime istruzioni fornite per i sieri O.

5.3 Preparazione dei sieri OH poliagglutinanti

Può essere realizzata su coniglio o su grandi animali (cavallo, asino). Se la preparazione avviene su coniglio, valgono le stesse modalità d'inoculo indicate per la produzione dei sieri somatici O (capitolo 5.1). Nel cavallo o nell'asino le dosi subentranti di antigene, inoculato in vena, sono proporzionalmente maggiorate (ml 1-2-4-5).
La scelta dei ceppi per l'allestimento dell'antigene da inoculare negli animali è critica, in quanto le salmonelle usate devono rappresentare, il più estesamente possibile, il ventaglio degli antigeni somatici e flagellari, compatibilmente col numero di ceppi costituenti la miscela antigene. Questa miscela nasce dall'unione, in parti

uguali, degli antigeni singoli originati seguendo lo stesso protocollo di preparazione dei sieri H (capitolo 5.2). I sieri poliagglutianti (o polivalenti) sono in realtà dei sieri OH.

Un possibile pannello di specie è il seguente:

gruppo sierologico	*antigeni somatici*	*nome del ceppo*
A	1,2,12	*S. paratyphi A, S. kiel*
B	4,5,12	*S. typhimurium, Salmonella II*
C_1	6,7	*S. thompson, Salmonella II*
C_2	6,8	*S. newport, S. muenchen*
C_3	(8),20	*S. virginiae, Salmonella II*
D_1	1,9,12	*S. javiana*
D_2	(9),46	*S. strasburg, S. itutaba*
E_1	3,10	*S. anatum, S. zanzibar*
E_2	3,15	*S. selandia*
E_3	(3),(15),34	*S. illinois*
E_4	1,3,19	*S. senftenberg, S. westerstede*
F	11	*S. aberdeen, Salmonella II*
G	13,22 / 1,13,23	*Citrobacter, S. wortington*
H	6,14,24 / 1,6,14,25	*S. carrau, S. onderstepoort*
I	16	*S. jacksonville, Salmonella II*
J	17	*S. kirche*
K	18	*S. belhoa, S. sinthia*
L	21	*S. minnesota, S. assen*
M	28	*Salmonella II*
N	30	*S. matopeni*
O	35	*S. yolo*
P	38	*S. carlettonville*
Q	39	*S. mara*
R	40	*Salmonella II*
S	41	*S. waycross, S. egusi*
T	42	*S. nairobi*
U	43	*S. irigny, S. milwaukee*
V	44	*S. guinea, S. niarembe*
W	45	*S. deversoir*
X	47	*S. bilthoven*
Y	48	*S. ngozi*
52	52	*S. lobatsi*

5.4 Controllo dei sieri

Controlli di potenza e di specificità da effettuare sui sieri O, H e poliagglutinanti prodotti

Il controllo di potenza mira a verificare se il siero contiene una sufficiente quantità di agglutinine verso l'antigene usato per l'immunizzazione degli animali (= antigene *omologo*) e consente di stabilire il *titolo omologo* di quel siero.
Si effettua, partendo dal siero tal quale, preparando diluizioni scalari in base 2 in soluzione fisiologica 0,5 % fenicata (per i sieri O e poliagglutinanti), oppure in soluzione fisiologica 1 % formolata (per i sieri H).
Circa la quantità di diluizioni da preparare, è da tenere presente che in agglutinazione rapida, generalmente, i sieri possono raggiungere i seguenti titoli omologhi: 1/50 per i sieri O; 1/20 per i poliagglutinanti; 1/200 per i sieri H.
Limitatamente ai sieri H, si usa fare i controlli ricorrendo in alternativa al metodo dell'agglutinazione lenta. In questo caso i sieri H possono raggiungere titoli omologhi finali molto più elevati (anche di 1/8000). E' tuttavia possibile estendere il controllo in agglutinazione lenta anche ai sieri poliagglutinanti (che sono OH) e i titoli possono arrivare in questo caso a 1/6000.
Le tecniche di allestimento delle prove di agglutinazione rapida su vetrino (oppure lenta in piastra) sono riportate più avanti.
Si definisce *titolo omologo* la più elevata diluizione che il siero può sopportare agglutinando ancora l'antigene.
Si stabilisce quindi il *titolo d'uso* del siero, che usualmente viene fissato ad una diluizione pari al 50 % del titolo omologo.

NOTA
Quando si parla di ***titolo*** nei sieri diagnostici è conveniente, per evitare confusioni, **riferirsi esclusivamente alla diluizione finale del siero stesso**. La ***diluizione finale*** equivale al ***doppio*** della diluizione del solo siero, in quanto l'antigene, aggiunto in un secondo tempo nel rapporto di 1:1 alle varie diluizioni del siero allestite, fa raddoppiare le diluizioni stesse.

Il controllo di specificità mira a verificare la presenza eventuale nel siero di agglutinine aspecifiche. Viene realizzato mettendo a contatto il siero *alla diluizione d'uso* con l'intera gamma degli antigeni eterologhi delle salmonelle, usando il metodo dell'agglutinazione rapida oppure lenta.
Nel caso che il siero non agglutini nessun ceppo di *Salmonella* al di fuori di quello usato per produrlo (o di altri ceppi che possiedono i medesimi antigeni), viene considerato *specifico* e non necessita di ulteriori manipolazioni prima di entrare nell'uso *routinario*.
Se il siero agglutina antigeni eterologhi, viene considerato *aspecifico* e non può essere usato per effettuare le tipizzazioni, se non viene sottoposto preventivamente all'allontanamento delle agglutinine indesiderate. Questo procedimento di purificazione dei sieri viene detto *"adsorbimento"* . Il controllo di specificità dei sieri poliagglutinanti avviene verso i generi della famiglia delle *Enterobacteriaceae*. Non viene praticato per questi sieri l'adsorbimento.

NOTA
Per la produzione dei sieri, per i vari controlli sui sieri stessi e per gli adsorbimenti è necessario disporre di una collezione di ceppi Salmonella di sicura provenienza, che possono venire conservati in laboratorio congelati a -20°C o, meglio, liofilizzati sotto vuoto. Per il mantenimento di una sospensione batterica allo stato di congelamento o di liofilizzazione, si consiglia come mestruo il latte magro sterile adoperato tal quale.

5.5 Adsorbimento dei sieri

NOTA - L'adsorbimento dei sieri è un procedimento lungo e laborioso. Comporta una serie di operazioni piuttosto complesse, da eseguire con notevole accuratezza, soprattutto nella fase dei controlli.

Gli antigeni da usare sono quelli corrispondenti alle agglutinine ***indesiderate*** *nel siero da adsorbire.*
Ciascun antigene da usare per l'adsorbimento viene preparato seminando delle piastre di Petri del diametro di cm 9 contenenti il terreno Agar nutritivo, preparato di recente.
Ogni piastra riceve come semina 0,5 ml di una brodocoltura del ceppo di *Salmonella* incubata a +37 °C per 24 ore.
Le piastre vengono incubate a +37 °C per 18-24 ore e quindi la patina batterica sviluppata viene raccolta con 1 ml di soluzione fisiologica fenicata allo 0,5 % per ciascuna piastra, con l'aiuto di una spatola.
La sospensione ricavata dalle piastre viene miscelata e centrifugata ad almeno 3000 rpm per 30 minuti.
Il supernatante viene quindi gettato ed i germi sedimentati vengono risospesi prima in 1 -2 ml di soluzione fisiologica fenicata e poi nel siero da adsorbire.
La miscela viene resa omogenea con l'aiuto di una spatola ed incubata a +50 °C per 2 ore con frequente agitazione.
La quantità di germi da mettere a contatto con il siero deve essere sufficiente per rimuovere tutte le agglutinine aspecifiche. Indicativamente, si suggerisce di utilizzare, per ogni ml di siero da adsorbire, la patina batterica raccolta da una piastra di Petri.
Nel caso vengano usate placche di Roux al posto delle piastre di Petri, si calcola ogni placca di Roux equivalente a 5 piastre di Petri diametro cm 9.
Terminata l'incubazione, la miscela siero-germi viene centrifugata ad almeno 3000 rpm per 30 minuti ed il soprastante viene aspirato e conservato con l'aggiunta di mertiolato 1/5000, oppure sterilizzato per filtrazione su filtro Seitz EKS1.
Seguono i controlli di titolo omologo e di specificità.
Un siero adsorbito correttamente non deve subire una perdita di titolo omologo superiore al 50 % e non deve più agglutinare antigeni eterologhi alla diluizione d'uso, che viene nuovamente determinata come in precedenza descritto.
Nel caso che non tutte le agglutinine indesiderate siano state allontanate con l'ad-

sorbimento, è possibile procedere ad un secondo adsorbimento.
Alla fine del secondo (eventuale) adsorbimento, il siero, per essere utilizzato, deve possedere ancora un titolo omologo accettabile (almeno 1:5 col metodo dell'agglutinazione rapida) ed ovviamente non "crociare" con altri antigeni.

5.6 Conservazione dei sieri

I sieri *concentrati*, trattati come sopra indicato, sono conservabili a lungo in frigorifero, al riparo dalla luce entro recipienti sterili, chiusi ermeticamente. Tuttavia si consiglia di frazionare subito il siero in piccole quantità (0,2 - 0,5 ml), distribuendolo in fiale o flaconi con tappo di gomma per vuoto e congelare a -20 °C. Se possibile, procedere quindi alla liofilizzazione.
Prima dello stoccaggio è opportuno prelevare una piccola quantità di siero da sottoporre ai controlli di sterilità (su BHI agar incubato a +37°C per 48 ore) e di titolo verso l'antigene (o gli antigeni) usati per produrlo e verso i rimanenti antigeni delle salmonelle *(vedi avanti per i controlli di potenza e di specificità dei sieri).*
I sieri *diluiti* (portati cioè al titolo d'uso) devono essere protetti dall'inquinamento accidentale mediante l'aggiunta di un conservante idoneo (soluzione fisiologica addizionata di sodio mertiolato 1:10000, oppure di fenolo allo 0,5%) e tenuti rigorosamente in frigorifero, procedendo alla loro sostituzione al comparire di intorbidamento, di precipitato o di minore potere agglutinante.
Indicativamente, è consigliabile preparare ogni tre-quattro mesi i sieri diluiti, a partire dal prodotto concentrato mantenuto congelato o liofilizzato.

Tabella 8 - Schema riassuntivo del procedimento di produzione dei sieri diagnostici anti-*Salmonella*

Preparazione dell'antigene per l'inoculazione
degli animali
*
inoculazione degli animali siero-produttori
*
raccolta del siero
*
filtrazione e conservazione del siero
*
preparazione degli antigeni per l'allestimento
dei controlli di titolo e di specificità
*
allestimento dei controlli
*
eventuale adsorbimento del siero
*
ripetizione dei controlli di titolo e di specificità

NOTA PRATICA

In un laboratorio che si sta attrezzando per tipizzare le salmonelle, la dotazione iniziale consigliata di sieri è la seguente: un poliagglutinante, quindici sieri O (4,5,12 - 5 - 6,7,8 - 7 - 8 - 1,9,12 - 9 - 3,10,15 - 10 - 15 - 19 - 20 - 21 - 1,13,22 - 23) e sette sieri H (*pool* di Spicer-Edwards, vedi capitolo 7.4).

Riferimenti bibliografici

BADER R., Tecnica per l'adsorbimento delle agglutinine dai sieri H, Ergebnisse der Hygiene Bakt., 1949, 26, 281

GOTZE U., Untersuchungen uber die Brauchbarkeit des Bacto -*Salmonella* O Antiserum Poly A-1 fur die Probeagglutination in der *Salmonella* -diagnostik im Rahmen der bakteriologichen Fleischuntersuchungen, Arch. Lebens., 1967, 18, 33

GUNTHER G., Problemi dei sieri *Salmonella* polivalenti, Mh. Prakt. Tierarztl., 1956, 8, 9

GUNTHER O. e Coll., Grundlagen einer staatlichen Prufung der *Salmonella*-testsera, Arb. Paul Ehrlich Inst., 1956, 52, 139

GUNTHER O., Controllo dei sieri O ed H delle salmonelle, Arb. Paul Ehrlich Inst., 1964, 61, 50

HEATHER C., Salmonelle trifasiche, Tex. Rep. Biol. Med., 1965, 23, 458

KAUFFMANN F., Monophasiche *Salmonella* - kulturen zur H - Serum Herstellung, Acta path. micr. scand., 1965, 63, 261

LIPPI R., Preparazione dei sieri fattoriali contro le salmonelle nell'Istituto Paul Ehrlich e nella Georg-Speyer Haus col metodo di Roschka modificato da Edwards, Arb. Paul Ehlich Inst., 1956, 52, 187

LUDERITZ A. e Coll., Immunochimica degli antigeni O ed R delle salmonelle ed *Enterobactertiaceae* affini, Bact. Rew., 1966, 30, 192

MARTIN M., Conservation of microorganisms, Ann. Rev. Micr., 1964, 18, 1

MULLER H., A method for developing flagellate H - forms of *Salmonella*, Zbl. Bakt. Orig., 1962, 187, 322

PATERSON G.E. e Coll., Production of a monoclonal antibody specific for *Salmonella* spp., Letters Appl. Micr., 1988, 7, 41

POPOFF M.Y. e Coll., Guidelines for the preparation of *Salmonella* antisera, WHO Collaborationg Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Institut Pasteur, Paris, France, 1997

ROEMMELE O. e Coll., Bisherige Erfahrungen mit Bacto -*Salmonella* O Antiserum Poly A-1 im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchungen, Arch. Lebens., 1964, 15, 8

SATO-ADLER R., Test sierologici per l'identificazione di *Arizona*, Avian Dis., 1966, 10, 247

SLECHT S. e Coll., Uber die Herstellung von Antiseren gegen die somatiscen (O -) Antigene von Salmonellen, Zbl. Bakt. Orig., 1967, 204, 335

SMITH H. e Coll., Immunità prodotta dalla *S. dublin* verso la *S. typhimurium* e la *S. cholerae-suis*, J. Hyg., 1966, 64, 357

UCHIDALL J., Preparazione di sieri flagellari, Jap. J. Med. Sci. Biol., 1952, 5, 351

VLADOIANO J.R. e Coll., The preparation of antisera specific for flagella of *Salmonella* species, Immunology, 1968, 14, 1

6. ISOLAMENTO E IDENTIFICAZIONE

6.1 Cenni sull'analisi qualitativa in campioni clinici, alimenti, tamponi

NOTA

Si ricorda che la tipizzazione costituisce l'ultima fase di un procedimento, relativamente complesso, riguardante la diagnosi di laboratorio delle salmonelle.
Per tipizzare è utile conoscere alcune informazioni che vengono normalmente acquisite durante il percorso dell'analisi (terreni usati per l'isolamento, aspetto delle colonie sulle piastre, ecc).
Si è ritenuto pertanto conveniente riassumere, per sommi capi, le fasi che caratterizzano le procedure di isolamento delle salmonelle da campioni clinici, da alimenti e da tamponi.

a) ricerca delle salmonelle da campioni clinici

La prova inizia con la semina del campione nel rapporto di circa 1:10 in terreno d'arricchimento (quindi circa 1 grammo di materiale in 10 ml di terreno), usando Brodo selenito oppure Brodo tetrationato secondo Muller-Kauffmann o secondo Preuss, da porre in incubazione a +37 °C per 18-24 ore. Segue la piastratura su terreno solido selettivo e/o differenziale (Gassner Agar, Brillant Green Agar, Hektoen Enteric Agar, ecc).
Esclusivamente nei casi di forte sospetto, è consentito affiancare agli arricchimenti anche la semina diretta del campione su piastre di terreni selettivi, mediante striscio di un frammento d'organo, effettuato con l'aiuto di una pinza sterile o dell'ansa.
Ciò avviene, ad esempio, nell'esame di feci (coprocoltura) e di organi prelevati alla necroscopia (rene, fegato, milza, linfonodi) in casi fortemente sospetti o nell'esame batteriologico delle carni degli animali macellati d'urgenza.
Dopo incubazione delle piastre a +37 °C per 24 ore, le colonie sospette vengono trapiantate su terreno Kligler Iron Agar, da incubare a +37 °C per 24 ore prima della lettura, che consente di apprezzare le fermentazioni di glucosio e lattosio, la formazione di gas dal glucosio e la produzione di H_2S.
L'aspetto tipico della coltura su Kligler (fondo del terreno giallo con annerimento e bolle di gas, becco di clarino rosso) consente di selezionare i trapianti sui quali procedere oltre.
I trapianti su Kligler vanno verificati mediante agglutinazione rapida su vetrino con siero polivalente anti-*Salmonella*.
Una o due provette sospette, positive all'agglutinazione, vanno sottoposte a identificazione biochimica, mediante una serie di *test* che comprenda le principali prove (come indolo, urea, lisina decarbossilasi, ecc).
Solo le colture biochimicamente confermate *Salmonella* vanno tipizzate sierologicamente.

b) ricerca delle salmonelle da alimenti (metodo classico semplificato consigliato)

Dal prodotto da esaminare si preleva con strumenti sterili un campione di 25 grammi (o ml) che viene posto in 225 ml di brodo di pre-arricchimento (Acqua peptonata tamponata o Brodo lattosato). Nel caso del latte, si seminano 2×25 ml di latte direttamente in 2×225 ml di arricchimento.
Dopo omogeneizzazione, il Brodo di pre-arricchimento viene incubato a +37 °C per 18-24 ore.
Segue il trapianto di 1 ml di pre-arricchimento in 10 ml di Brodo dì arricchimento (come il Brodo selenito o il Brodo tetrationato sec. Muller-Kauffmann) con incubazione delle provette a +37 °C per 18-24 ore.
Si usa affiancare al primo arricchimento un secondo terreno d'arricchimento, ad es. il Brodo Rappaport-Vassiliadis, seminato con 0,1 ml di pre-arricchimento e incubato a +43 °C per 18-24 ore.
Dagli arricchimenti si trapianta un'ansata su piastra di terreno solido selettivo e/o differenziale, come Hektoen Enteric Agar, da incubare a +37 °C per 24 ore.
Le fasi successive di isolamento delle colonie sospette in coltura pura su Kligler e la parte di identificazione biochimica sono sovrapponibili alla ricerca di *Salmonella* nei campioni clinici.

NOTA

Per la legislazione italiana qualsiasi *Salmonella*, **indipendentemente dal sierotipo isolato**, deve essere assente in 25 grammi di prodotto alimentare esaminato.
Questa norma nasce dall'estensione delle specifiche riportate in alcune disposizioni di legge sotto riportate:

Latte in polvere per la prima infanzia (O.M. 11/10/78)
Paste alimentari e paste farcite (Circ. Min. San. 03/08/85 n. 32)
Alimenti per animali (D.L.vo 14/12/92 n. 508)
Molluschi bivalvi vivi (D.L.vo 30/12/92 n. 530)
Prodotti d'uovo (D.L. 04/02/93 n. 65)
Prodotti a base di latte (D.P.R. 14/01/97 n. 54)

In queste disposizioni l'analisi è prevista su 5 unità campionarie (n=5) da esaminare (10 per il latte in polvere), con tolleranza zero (c=0).
Altre norme, meno restrittive, prevedono l'assenza delle salmonelle in 10 grammi di carni macinate o in 1 grammo di preparazioni di carni (D.P.R. 03/08/98 n. 309).

c) ricerca delle salmonelle con tamponi

Nel caso dell'uso di tamponi (ad es. cloacali, per la ricerca dei soggetti portatori negli allevamenti avicoli, oppure tamponi ambientali per la verifica dello stato igienico delle superfici nei locali di lavorazione degli alimenti), si semina il tampone

direttamente in provetta di brodo d'arricchimento (ad es. Brodo selenito) che viene incubato a +37 °C per 48 ore, prima della piastratura su terreno selettivo solido (Brillant Gren Agar, Hektoen, ecc).
Per le fasi succesive si rimanda ai punti *a)* e *b).*
Quanto descritto è riassunto schematicamente nella tabella 9.

Cenni su alcune tecniche diagnostiche alternative

Si tratta dei seguenti metodi diagnostici:

- Agglutinazione al lattice
- Immunofluorescenza (FA)
- Conduttanza / Impedenza
- Filtrazione su membrana (MF)
- Isolamento in terreno semi-solido (MSRV)
- *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)*
- *Polymerase Chain Reaction (PCR)*

Sono tecniche che *in prevalenza* consentono di riconoscere la presenza delle salmonelle direttamente nel campione in esame o dopo semina del campione in un terreno liquido (fase di pre-arricchimento o di arricchimento). Il riconoscimento della *Salmonella* avviene a livello di *genere*, per cui si arriva all'*identificazione* del germe ricercato (e non alla *tipizzazione* di specie).

Agglutinazione al lattice

L'avvento degli anticorpi monoclonali, altamente specifici per un determinato antigene da legare, ha consentito di mettere a punto questo tipo di agglutinazione rapida su vetrino, che risulta più facilmente leggibile grazie alla presenza di particelle di lattice sensibilizzate con gli anticorpi medesimi. L'agglutinazione funziona su colture già isolate.

Immunofluorescenza (FA)

La tecnica degli anticorpi fluorescenti (*fluorescent antibody = FA*) o immunofluorescenza si serve di globuline immuni combinate con un colorante fluorescente. L'anticorpo "coniugato" si fissa sull'antigene corrispondente (batterico o virale), dando origine a un complesso fluorescente visibile al microscopio in luce ultravioletta.
Il fenomeno della fluorescenza dipende dalla natura del colorante usato (es. isotiocianato di fluoresceina), che assorbe la luce a bassa lunghezza d'onda e la emette ad una lunghezza superiore nel campo del visibile.
I vantaggi di questa tecnica sono la rapidità di diagnosi, la possibilità di evidenziare microrganismi anche non vitali o difficilmente coltivabili, senza peraltro sottostare ai rischi della coltura, e la visualizzazione degli agenti patogeni all'interno degli organi.
Gli svantaggi sono il costo dei reagenti e la necessità di un microscopio apposito,

corredato da condensatore a campo oscuro, obiettivi ed oculari per fluorescenza, filtri di eccitazione e di sbarramento, lampada a vapori di mercurio.
E' importante avere a disposizione solo anticorpi specifici per evitare false reazioni positive.
In batteriologia esistono due tipi di applicazioni :
1 - procedura diretta : anticorpo coniugato con colorante fluorescente + antigene = fluorescenza ;
2 -procedura indiretta : anticorpo + antigene + secondo anticorpo coniugato anti-specie = fluorescenza.

Gli strisci da colture vengono preparati e fissati alla fiamma nel modo usuale seguito per le comuni colorazioni. Nel caso di organi o tessuti, gli strisci vengono fissati per immersione in acetone (10 minuti) con successivo lavaggio in soluzione fisiologica tamponata (es. PBS) e asciugatura all'aria.
L'anticorpo coniugato viene pipettato sul vetrino da colorare e lasciato agire per 15-30 minuti in un recipiente chiuso (ad es. una piastra di Petri) con una fonte d'umidità (carta bibula bagnata).
Si lava con PBS per tre volte, immergendo il vetrino in recipienti diversi, e si monta il preparato con una goccia di soluzione fisiologica glicerinata (PBS una parte, glicerolo 9 parti) sotto un coprioggetti.
I vetrini vanno letti subito o conservati per tempi limitati in frigorifero dopo sigillatura con adesivo.
Questa metodica non va confusa con la colorazione semplice di strisci mediante un colorante di per sé fluorescente, sul tipo dell'arancio d'acridina, usato per evidenziare in maniera non differenziata i batteri all'interno dei tessuti.

Conduttanza / Impedenza

I metodi basati sulla ***Conduttanza / Impedenza*** tengono conto che i microrganismi, posti in un particolare substrato liquido, producono in fase di crescita cambiamenti di carica elettrica. Misurando le variazioni di conduttanza (o di impedenza, strettamente correlata alla precedente) a intervalli di tempo prefissati e in paragone con una curva di riferimento nota, si può stimare, attraverso un *computer*, la carica batterica originale del campione.
Analogamente, cambiando il terreno e ricorrendo a specifici substrati selettivi, si può determinare la presenza/assenza di alcuni microrganismi dei quali si conoscono le variazioni di impedenza *(Salmonella, Listeria, Campylobacter, Yersinia).*
Questa metodica, meglio conosciuta con il nome di *Malthus* (dall'apparecchio), trova applicazione nel controllo microbiologico degli alimenti ed è approvata dall' AOAC.
Riduce drasticamente i tempi d'analisi : per le salmonelle col metodo tradizionale occorrono 4 giorni, col *Malthus* 6-8 ore.

Filtrazione su membrana (MF)

Il materiale da esaminare, opportunamente diluito, viene fatto passare attraverso

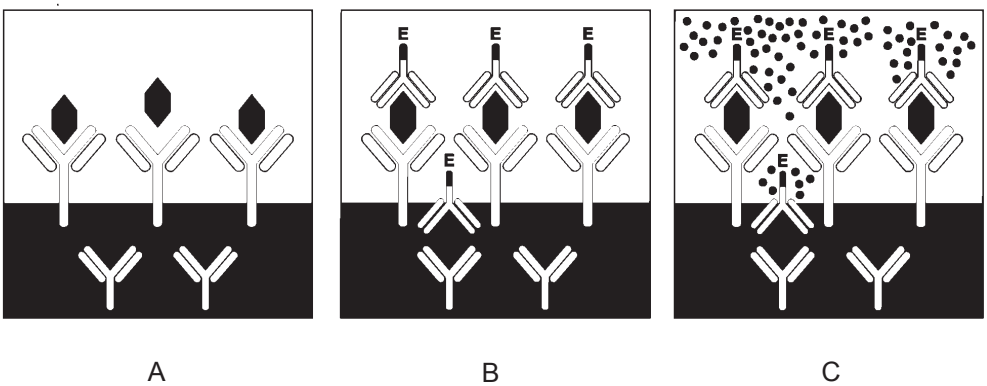
una membrana idrofoba da 0,45 mmicron che trattiene i batteri. La stessa membrana diventa quindi oggetto di semina in terreno di arricchimento per le salmonelle e la ricerca prosegue secondo il metodo convenzionale.

Isolamento su terreno semi-solido (MSRV)

E' stato introdotto per l'analisi sui molluschi. Il pre-arricchimento viene seminato a 0,1 ml in tre punti su una piastra di terreno semi-solido (MSRV) incubato a +42 °C per 24 ore. Eventuali aloni chiari attorno al punto di semina denotano la migrazione di colture mobili di presunta *Salmonella*.
La verifica può essere fatta con un' agglutinazione al lattice seguita da un trapianto su Kligler partendo dalla zona più esterna dell'alone.

Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA)

Il principio del *test* è noto (vedi schema):



A - Un anticorpo anti-*Salmonella* adeso ad un supporto plastico cattura l'antigene presente nella brodocoltura in esame.
B - Un secondo anticorpo anti-specie si lega al complesso iniziale formando un *sandwich*
C - Il secondo anticorpo è coniugato con l'enzima perossidasi, che fa colorare un substrato cromogeno successivamente aggiunto.

Misurando allo spettrofotometro l'intensità di colore, il *test* è giudicato positivo quando la densità ottica supera un certo valore soglia. Le lettura può essere fatta anche ad occhio nudo.

Polymerase Chain Reaction (PCR)

Vedi capitolo 10. Analisi del profilo plasmidico e PCR.

Tabella 9 - Percorso tradizionale per la ricerca delle salmonelle

Campione clinico	**Campione di alimento**	**Tampone**
piastratura diretta e semina in 10 ml di arricchimento (in rapporto 1:10)	* *semina di 25 grammi in 225 ml di pre-arricchimento* *	*semina diretta in 10 ml di arricchimento* *
*+37°C per 18-24 ore	+ 37°C per 48 ore	+37°C per 18-24 ore

1 ml in selenito o in tetrationato e 0,1 ml in Rappaport-Vassiliadis
+37°C per 24 ore (Rappaport = +43°C)

* * *

Piastratura di un'ansata su terreno selettivo e/o differenziale (es. Gassner per i campioni clinici, Hektoen per gli alimenti, Brillant Green Agar per i tamponi, ecc)

*

+37°C per 24 ore

*

Lettura delle piastre

Trapianto in Kligler di una o due colonie sospette. Incubazione a +37°C per 24 ore. Selezione dei trapianti su Kligler (fondo giallo + H_2S, *slant* rosso) confermati con agglutinazione rapida su vetrino (siero **poliagglutinante)**

*

Semina delle prove biochimiche d'**identificazione** (*test* miniaturizzati oppure prove biochimiche tradizionali in provetta). Incubazione a +37°C per 24 ore

*

Tipizzazione sierologica *(vedi capitolo tipizzazione)*

Sui terreni batteriologici più frequentemente usati per la cosiddetta "piastratura" degli arricchimenti, le salmonelle sviluppano con colonie caratteristiche.
Generalmente si tratta di colonie rotonde, convesse, a margine netto, lucenti, del diametro di 2-3 mm dopo 24 ore d'incubazione, dai colori differenti a seconda del terreno in piastra usato, come specificato nella seguente tabella (tabella 10).
È opportuno ricordare che alcune salmonelle crescono con colonie di dimensioni più piccole di quelle accennate in precedenza. Difatti le salmonelle *gallinarum-pullorum, cholerae-suis, typhi-suis, abortus-ovis, abortus-equi* (e poche altre) sviluppano in 24 ore con colonie " nane", del diametro di 0,5-1 mm o anche meno, mostrando viraggi di colore poco pronunciati (se confrontati con quelli delle salmonelle a sviluppo normale), ad esempio verde chiaro invece che giallo su Gassner o rosa invece che rosso su Brillant Green Agar (BGA). Questo fatto può portare ad errori di lettura delle piastre.

Tabella 10 - Colori delle colonie di sospetta *Salmonella* su alcuni terreni selettivi e/o differenziali

Terreno	Colore delle colonie di sospetta *Salmonella*
Mac Conkey Agar	*incolori o rosa pallido*
Gassner Agar	*gialle*
Hektoen Enteric Agar	*incolori con o senza centro nero*
Brillant Green Agar (BGA)	*rosse*
Desossicolato Citrato Agar (DCA)	*incolori con o senza centro nero*
Salmonella-Shigella Agar (SS)	*incolori con o senza centro nero*
Agar solfito di bismuto (BSA)	*nere lucenti*
Rambach Agar	*rosse*
XLD Agar	*rosse*
Endo Agar	*incolori*
XLT4 Agar	*nere*

6.2 Conteggio delle cellule di *Salmonella*

MATERIALE

Soluzione sterile di Ringer
Sacchetto richiudibile sterile per Stomacher
Pipette graduate sterili monouso
Flaconi sterili con tappo a vite della capacità di 100 ml
Terreno di pre-arricchimento Acqua peptonata tamponata a doppia concentrazione (2×) distribuita in provettoni a 10 ml (per una determinazione analitica = 9 provettoni)
Provette di arricchimento Brodo selenito cistina (9 provette) e Brodo Rappaport-Vassiliadis (9 provette)
Provette di terreno Kligler Iron Agar
Piastre Petri di terreno Hektoen Enteric Agar (18 piastre)
Antisiero polivalente *Salmonella*
Materiale per l'esecuzione dei *test* biochimici necessari per l'identificazione di *Salmonella*

METODO DEL NUMERO PIÙ PROBABILE (*MPN*) A 3 PROVETTE

1. Diluire 1:10 il materiale di partenza in soluzione sterile di Ringer (ad esempio 10 grammi o ml + 90 grammi o ml).
2. Omogeneizzare in Stomacher per 1-2 minuti.
3. Allestire dall'omogenato le diluizioni decimali 10^{-1} e 10^{-2} in soluzione di Ringer (10 + 90 ml).
4. Dalla sospensione iniziale del materiale e dalle diluizioni decimali 10^{-1} e 10^{-2} seminare 10 ml in altrettanti provettoni contenenti ciascuno 10 ml di pre-arricchimento (Acqua peptonata tamponata 2×).
5. Incubare il pre-arricchimento a +37 °C per 18-24 ore.
6. Trapiantare da ciascun pre-arricchimento 1 ml in Brodo selenito cistina e 0,1 ml in Brodo Rappaport-Vassiliadis.
7. Incubare gli arricchimenti a +37 °C (Brodo selenito cistina) e a +42 °C (Brodo Rappaport-Vassiliadis) per 18-24 ore.
8. Piastrare ciascuna provetta di arricchimento su una piastra di Hektoen Enteric Agar.
9. Incubare le piastre capovolte a +37 °C per 24 ore.

Procedere per le fasi successive (trapianto delle colonie sospette in Kligler, selezione dei trapianti, identificazione biochimica e sierologica delle colture ottenute) come descritto per la ricerca qualitativa delle salmonelle.
Dalle piastre contenenti *Salmonella,* determinare il numero delle corrispondenti provette di pre-arricchimento da considerare positive.
Calcolare il numero presuntivo di salmonelle per grammo di campione, utilizzando la seguente tabella dell' MPN valevole per grammi 1 - 0,1 - 0,01 di materiale di partenza :

Numero di tubi positivi			MPN in g o ml	Numero di tubi positivi			MPN in g o ml
g o ml	g o ml	g o ml		g o ml	g o ml	g o ml	
1 0,1	0,1 0,01	0,01 0,001	1 0,1	1 0,1	0,1 0,01	0,01 0,001	1 0,1
0	0	0	<0.3	2	2	1	2,8
0	0	1	0,3	3	3	0	2,9
0	1	0	0,3	3	0	0	2
0	2	0	0,6	3	0	1	4
1	0	0	0,4	3	0	2	6
1	0	1	0,7	3	1	0	4
1	1	0	0,7	3	1	1	7
1	1	1	1,1	3	1	2	12
1	2	0	1,1	3	2	0	9
1	2	1	1,5	3	2	1	15
1	3	0	1,6	3	2	2	21
2	0	0	0,9	3	2	3	29
2	0	1	1,4	3	3	0	20
2	1	0	1,5	3	3	1	50
2	1	1	2,0	3	3	2	110
2	2	0	2,1	3	3	3	>110

Esempio di calcolo

Numero di provette di pre-arricchimento, risultate positive per *Salmonella*, inizialmente seminate con:
- omogenato di partenza (contenente 1 grammo di materiale/ml) .....**2** su 3
- diluizione 10^{-1} (0,1 grammi / ml) .....**1** su 3
- diluizione 10^{-2} (0,01 grammi / ml) .....**0** su 3

Confrontando sulla tabella dell' MPN, ai numeri **2 - 1 - 0** corrispondono 1,5 salmonelle per grammo o ml di materiale.
In realtà il calcolo fatto col metodo MPN è soggetto ad una variabilità di risultati. Con il 95% di probabilità quel materiale conteneva da un minimo di 0,4 ad un massimo di 4,4 salmonelle per grammo o ml.

Riferimenti bibliografici

ABRAHAMSSON K. e Coll., Detection of *Salmonella* by single culture technique, Appl. Micr., 1968, 16, 169
AHO M., Problems of *Salmonella* sampling, Int. J. Food Micr., 1992, 15, 225
ALLEN G. e Coll., Recovery of *Salmonella* from high-moisture foods by abbreviated selective enrichment, J. Food Protect., 1991, 54, 492
ANDERSON E., Special methods used in the laboratory for the investigation of outbreaks of *Salmonella* food poisoning, Royal Soc. Hlth. J., 1960, 80, 260
ANDERSON K. e Coll., Comparison of selective media for the isolation of *Salmonellae*, J. Clin. Path., 1965, 18, 747
ANDREWS W.H. e Coll., Comparison of methods for the isolation of *Salmonella* from imported frog legs, Appl. Environm. Microbiol., 1977, 33, 65
ARNDT G. e Coll., Einsatz der MPN - Technik zum quantitativen *Salmonella* - Nachweis, Fleischwirtsch., 1981, 61, 1373
ARTYSEVSKIJ V., Agar al doppio zucchero, bile e glicerina con sale di Mohr e soluzione di Lugol per la differenziazione delle salmonelle, J. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol., 1966, 2, 116
BAILEY J.S. e Coll., Efficiency of selenite cystine and TT enrichment broths for the detection of *Salmonella*, J. appl. Bact., 1981, 51, 409
BANIC S., A new enrichment medium for *Salmonellae*, J. Hyg. Camb., 1964, 62, 25
BANWART G.J., Glassware apparatus for determining motile bacteria, Poultry Sci., 1968, 47, 1209
BANWART G.J. e Coll., Rapid determination of *Salmonella* in samples of egg noodles, cake mixes and candies, Appl. Micr., 1969, 18, 838
BARROW P.A., Serological diagnosis of *Salmonella* serotype *enteritidis* infections in poultry by ELISA and other tests, Int. J. Food Micr., 1994, 21, 55
BAUER W., Uso dell'agar al solfito di bismuto per le salmonelle, Zbl. Bakt. Orig., 1966, 199, 131
BAUMGART J., Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelntechnologie, Fleischwirtsch., 1996, 76, 124
BECKERS H.J. e Coll., Replacement of Muller-Kauffmann's tetrathionate brillant green bile broth by Rappaport-Vassiliadis magnesium chloride malachite green broth in the standard method for the detection of *Salmonellae*, J. Food Microb., 1986, 2, 59
BECKERS H.J. e Coll., Collaborative study on the isolation of *Salmonella* from reference material using selective enrichment media, prepared from individual ingredients or commercial dehydrated products, Int. J. Food Micr., 1987, 4, 1
BECKERS H.J. e Coll., The efficacy of enzyme immunoassays for the detection of *Salmonellae*, Food Micr., 1988, 5, 147
BERSANI G., Note sulle proprietà microbiologiche, metodi di isolamento ed identificazione delle salmonelle, Avicoltura, 1977, 66, 31
BYRNE A., Methods for the detection and estimation of number of *Salmonella* in dried eggs and other food products (dried yeast), Appl. Micr., 1955, 3, 368
BLACKBURN C., Rapid and alternative methods for the detection of Salmonellas in foods, J. appl. Bact., 1993, 75, 199
BLAIS B.W. e Coll., Use of inexpensive O antisera as the detecting antibodies for *Salmonella* antigens in the polymyxin-cloth-enzyme immunoassay, Int. J. Food Micr., 1993, 20, 149
BLOOD R.M., Techniques for the isolation of *Salmonellae* and the quality control of enrichment and selective media, Int. J. Food Micr., 1985, 2, 33
BOOTHROYD M. e Coll., The use of enrichment serology for *Salmonella* detection in human foods and animal feeds, J. appl. Bact., 1973, 36, 165
BRIGMON R.L. e Coll., Detection of *Salmonella enteritidis* in environmental samples by monoclonal antibody-based ELISA, J. Immunol. Methods, 1992, 152, 135
BROOKS W.F. e Coll., Rapid differential testing of the *Enterobacteriaceae* using modified standard

media, Am. J. Med. Techn., 1972, 38, 429
BULLING E. e Coll., Arrichimenti per la diagnosi di *Salmonella*, Berl. Munch. Tierarztl. Woch., 1966, 79, 246
BULLING-PIETZSCH E., Arricchimenti e terreni differenziali per l'esame delle carni, Berl. Munch. Tierarztl. Woch., 1966, 13, 251
BURTON V. e Coll., Application of polymixin-coated polyester cloth to semi-quantitation of *Salmonella* in processed foods, Int. J. Food Micr., 1991, 14, 43
BUSSE M., Media for *Salmonella*, Int. J. Food Micr., 1995, 26, 117
CANDLISCH A.A.G. e Coll., Immuno-detection of *Salmonella* in foods, Food Agric. Immunol., 1993, 1, 61
CANO R.J. e Coll., Fluorescent detection - Polymerase Chain Reaction (FD - PCR) assay on microwell plates as a screening test for Salmonellas in foods, J. appl. Bact., 1993, 75, 247
CATSARAS M. e Coll., Recherche des *Salmonella* par immunofluorescence, Ann. Rech. Vet., 1972, 3, 665
CHAN S. e Coll., Comparative study of colorimetric DNA Hybridization Method and conventional culture procedure for detection of *Salmonella* in foods, J. AOAC, 1990, 73, 419
CHUNG G.T. e Coll., The growth of *Salmonella cholerae-suis* in various enrichment broth, J. appl. Bact., 1970, 33, 449
COOK G., Comparazione di due modifiche dell'Agar al solfito di bismuto per l'isolamento della *S. typhi* e *S. typhimurium*, J. Path. Bact., 1952, 64, 559
COX J.M., Lysine-Mannitol-Glycerol Agar, a medium for the isolation of *Salmonella* spp. including *S. typhi* and atypical strains, Appl. Environm. Microbiol., 1993, 59, 2602
CURIALE M. e Coll., Detection of *Salmonella* and other *Enterobacteriaceae* by commercial Deoxyribonucleic Acid Hybridization and Enzyme Immunoassay Kits, J. Food Protect., 1990, 53, 1037
CURIALE M. e Coll., Colorimetric deoxyribonucleic acid hybridization assay for rapid screening of *Salmonella* in foods : collaborative study, J. AOAC, 1990, 73, 248
DACK G.M., Importanza del pre-arricchimento per incoraggiare lo sviluppo delle salmonelle prima dell'arricchimento selettivo, Bact. Rev., 1955, 19, 275
DACK G.M., Symposium on methodology for *Salmonella* in food, Bact. Rev., 1955, 19, 275
D'AOUST J., Update on pre-enrichment and selective enrichment conditions for detection of *Salmonella* in foods, J. Food Protect., 1981, 44, 369
D'AOUST J., *Salmonella* detection in foods : present status and research needs for the future, J. Food Protect., 1984, 47, 78
D'AOUST J., Performance of the microplate BacTrace ELISA technique for detection of foodborne *Salmonella*, J. Food Protect., 1990, 53, 841
D'AOUST J., A comparison of standard cultural methods for the detection of foodborne *Salmonella*, Int. J. Food Micr., 1992, 16, 41
D'AOUST J. e Coll., Inadequacy of small transfer volume and short (6 h) selective enrichment for the detection of foodborne *Salmonella*, J. Food Protect., 1992, 55, 326
D'AUBERT S. e Coll., Metodi immunologici per l'identificazione delle salmonelle negli alimenti : affidabilità e rapidità, Ind. Alim., 1989, 28, 19
DAVDA C. e Coll., An improved protocol for the detection and rapid confirmation within 48 h of *Salmonella* in confectionery products, Letters Appl. Micr., 1991, 13, 287
DEMISSIE A., Immunofluorescence identification of *Salmonella* in fecal specimens, Acta path. micr. scand., 1965, 65, 271
DEMISSIE A., Studies on epidemiological salmonellosis by fluorescent antibody technique, Acta path. micr. scand., 1966, 67, 393
DEVENISH J.A. e Coll., Novobiocin-Brillant Green-Glucose Agar : new medium for isolation of *Salmonellae*, Appl. Environm. Microbiol., 1986, 52, 539
DEVOTO G.L. e Coll., Utilizzo del terreno SIM ID per l'isolamento delle salmonelle, Boll. Microbiol. Indagini di Laboratorio News, 1995, 1, 29

DICKSON J.S., Enumeration of *Salmonellae* by Most-Probable-Number using the *Salmonella* 1-2 test, J. Food Protect., 1989, 52, 388
DOLZINSKI B. e Coll., Zur Isolierung von Salmonellen unter Verwendung Ammoniumeisen (III) - Citrat haltiger Medien, Arch. Lebens., 1994, 43, 121
DUFFY G. e Coll., A membrane -immunofluorescence-viability staining technique for the detection of *Salmonella* spp. from fresh and processed meat samples, J. Appl. Micr., 2000, 89, 587
ECKNER K.F. e Coll., Use of an elevated temperature and novobiocin in a modified Enzyme-linked Immunosorbent Assay for the improved recovery of *Salmonella* from foods, J. Food Protect., 1992, 55, 758
EHRLICH R., Application of membrane filters, Adv. Appl. Micr., 1960, 2, 95
EIKMANNS K.H., Zur Metodik des Salmonellen-nachweises in Oberflachengewassern, Arch. Hyg., 1968, 152, 350
ELLIS E.M. e Coll., A direct fluorescent antibody technique for the examination of animal by-products, foods and feeds for *Salmonellae*, Proc. U.S. Livestock San. A., 1968, 72, 553
FACH P. e Coll., Evaluation of a Polymerase Chain Reaction - based test for detecting *Salmonella* spp. in food samples : Probelia *Salmonella* spp., J. Food Protect., 1999, 62, 1387
FAGERBERG D.J. e Coll., Enrichment and plating methodology for *Salmonella* detection in food : a review, J. Milk Food Technol., 1976, 39. 628
FANTASIA L.D., Accelerated immunofluorescence procedure for the detection of *Salmonella* in foods and animal by-products, Appl. Micr., 1969, 21, 708
FANTASIA L.D. e Coll., Comparison of two procedures for detection of *Salmonella* in food, feed and pharmaceutical products, Appl. Micr., 1969, 17, 540
FELDSINE P.T., Polyclonal Enzyme Immunoassay Method for detection of motile and non-motile *Salmonella* in foods : collaborative study, J. AOAC, 1992, 75, 1032
FENG P., Commercial Assay Systems for detecting foodborne *Salmonella* : a rewiew, J. Food Protect., 1992, 55, 927
FLOWERS R.S. e Coll., Visual immunoassay for detection of *Salmonella* in foods : collaborative study, J. AOAC, 1988, 71, 973
FREYDIERE A.M. e Coll, Detection of *Salmonellae* by using Rambach Agar and by a C8 Esterase Spot Test, J. Clin. Microb., 1991, 29, 2357
FUNG D. e Coll., Microtiter methods for the evaluation of viable cells in bacterial cultures, Appl. Micr., 1968, 16, 1036
GALTON M., Laboratory procedures for the isolation of *Salmonella* from human and animal food products, Proc. 65th Ann. Meeting USA Liv. San. Assoc., Minneapolis, USA, 1961, 434
GASSNER G., Ein neuer Dreifahr beunahrboden zur Typhus - Ruhr Diagnose, Zbl. Bakt. I Abt. Orig., 1917, 80, 219
GECK P., Metodo rapido di diagnosi per l'identificazione dei germi enterici patogeni : microagglutinazione fluorescente, Acta micr. Acad. Sci. Hung., 1965, 11, 357
GELOSA L. e Coll., Utilità dell'arricchimento a 42 °C per la ricerca delle salmonelle negli esami coprologici di massa, Ann. Sclavo, 1972, 14, 345
GEORGALA D.L., A rapid immunofluorescence technique for detecting *Salmonellae* in raw meat, J. Hyg. Camb., 1964, 62, 319
GEORGALA D.L., Salmonelle nella carne e nei polli. Tecniche rapide di immunofluorescenza, J. Appl. Micr., 1965, 28, 421
GEORGALA D.L., Un sistema per ritrovare le salmonelle nelle carni e nei sottoprodotti di carni, J. Appl. Bact., 1965, 28, 206
GERICHTER C., Pre-arricchimento al brodo desossicolato per l'isolamento delle salmonelle da farina d'ossa, Appl. Micr., 1966, 14, 711
GIBBS P.A. e Coll., The fluorescent antibody technique for the detection of *Salmonella* in routine use, J. appl. Bact., 1972, 35, 405
GIBSON D.M. e Coll., Automated conductance method for the detection of *Salmonella* in food :

collaborative study, J. AOAC, 1992, 75, 293
GILLIES R., Valutazione di due terreni composti per l'identificazione preliminare delle salmonelle e shigelle, J. Clin. Path., 1956, 9, 368
GILLIES R., Terreno di Gillies, J. Clin. Path., 1956, 9, 570
GOEPFERT J.M., *Salmonellae* and the fluorescent-antibody technique : a current evaluation, J. Milk Food Techn., 1969, 32, 465
GOEPFERT J.M., Immunofluorescent staining of *Salmonella* species with flagellar sera, Appl. Micr., 1969, 14, 612
GOEPFERT J.M. e Coll., One-day fluorescent antibody procedure for detecting *Salmonellae* in frozen and dried foods, Appl. Micr., 1970, 20, 977
GOUWS P.A. e Coll., A Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Salmonella* spp. within 24 hours, J. Food Protect., 1998,61, 1039
GREENFIELD J. e Coll., Isolation of *Salmonella* and *Arizona* using enrichment media incubated at 35° and 43 °C, Avian Dis., 1969, 13, 864
GRUENEWALD R. e Coll., Use of Rambach Propylene Glycol containing Agar for identification of *Salmonella* spp., J. Clin. Microbiol., 1991, 29, 2354
GRUMBLES L.C. e Coll., Recommended procedures for the isolation of *Salmonella* organisms from animals, Proc. Sixty-Ninth Ann. Meeting USLSA, 1965, 326
GUINEE P.A. M. e Coll., Influenza dei metodi d'arricchimento per l'isolamento delle salmonelle, Antonie Van Leeuwenhoek, 1962, 28, 417
GUINEE P.A.M. e Coll., Studi recenti sull'influenza delle variazioni nei terreni d'arricchimento per l'isolamento delle salmonelle, Antonie Van Leeuwenhoek, 1965, 31, 1
GUNDSTRUP A.S.P. e Coll., *Salmonella* antagonists and *Salmonella* enrichment media, Health Lab. Sci., 1969, 6, 221
HAGLUND J.R . e Coll., Detection of *Salmonella* in eggs and eggs products with fluorescent antibody, Appl. Micr., 1964, 12, 447
HAMMACK T.S. e Coll., Relative effectiveness of selenite cystine broth, tetrathionate broth and Rappaport-Vassiliadis medium for the recovery of *Salmonella* spp. from foods with a low microbial load, J. Food Protect., 1999, 62, 16
HANAI K. e Coll., Comparison of commercially available kits with standard methods for detection of *Salmonella* strains in foods, Appl. Environm. Microbiol., 1997, 63, 775
HARPER J e Coll., A selective motility medium for routine isolation of *Salmonella*, J. Hyg. Camb., 1969, 67, 181
HARRINGTON R. e Coll., An evaluation of a fluorescent antibody technique for the detrction of *Salmonellae* in animal by-products, feeds and tissues, J.A.M.V.A., 1970, 157, 1898
HARRINGTON R. e Coll., A procedural guide for the performance of the fluorescent antibody test for detection of *Salmonellae* in swine tissue, U.S.D.A., Vet. Serv: Diagnostic Laboratory, Ames, Iowa, 1973
HARWEY R., Un metodo di arricchimento secondario per le salmonelle indipendente dalla selettività di agenti tossici chimici, J. Hyg., 1966, 64, 361
HARWEY R.W.S. e Coll., The examination of samples infected with multiple *Salmonella* serotypes, J. Hyg. Camb., 1967, 65, 423
HARWEY R.W.S. e Coll., Elevated temperature incubation of enrichment media for the isolation of Salmonellas from heavily contaminated materials, J. Hyg. Camb., 1968, 66, 377
HELD R. e Coll., Sensibilità della *Salmonella cholerae-suis* al tetrationato, Mh. Vet. Med., 1965, 20, 262
HERMANS K.H., Metodo per isolare il genere *Salmonella* da campioni molto voluminosi di materiale fortemente inquinato, Tijdschr. Diergeneesk., 1967, 92, 108
HEMMES J., Il terreno "7" per l'identificazione preliminare di *Salmonella* e *Shigella*, Antonie Van Leeuwenhoek, 1966, 32, 442
HILL W. e Coll., Identification of foodborne pathogens by nucleic acid hybridization, Int. J. Food

Micr., 1991, 12, 67
HILKER J.S., Enrichment serology and fluorescent antibody procedures to detect *Salmonellae* in foods, J. Milk Food Technol., 1975, 38, 227
HIRSCH A. e Coll., Vergleisch von ELISA (Lypopolysaccharidic) und Widal Reaktion (O-Antigen) in der Diagnose von *Salmonella*-Infektionen, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1983, 255, 247
HOBBS C., Tecniche per l'isolamento delle salmonelle da uova e sottoprodotti di uova, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 621
HOFFMANN K., Selenite broth compared with Bierbrauer's enrichment medium in bacteriological meat inspection, Inaug. Diss., Hannover, 1965, 59
HOLBROOK E. e Coll., Comparative evaluation of the Oxoid *Salmonella* Rapid Test with three other rapid *Salmonella* methods, Letters Appl. Micr., 1989, 9, 161
HOLME T., Coltura di salmonelle continua, Acta path. micr. scand., 1965, 63, 235
HUMBERT F.S. e Coll., Mise en evidence rapide des Salmonelles à l'aide du MUCAP test, VPC, 1989, 10, 90
HUMBERT F.S. e Coll., Rapid detection of *Salmonella* from poultry meat products using the 1-2 test, Letters Appl. Micr., 1990, 10, 245
HUMBERT F.S. e Coll., Miniaturized Most Probable Number and enrichment serology technique for the enumeration of *Salmonella* spp. on poultry carcasses, J. Food Protect., 1997, 60, 1306
HUSSANG D. e Coll., Modified agar medium for detecting environmental *Salmonellae* by the MPN - method, Appl. Environm. Micr., 1984, 48, 1026
IBRAHIM G. e Coll., Detection of *Salmonellae* using accelerated methods (review), Int. J. Food Micr., 1985, 2, 259
IBRAHIM G.F., A review of immunoassays and their application to *Salmonellae* detection in foods, J. Food Protect., 1986, 49, 299
IBRAHIM G.F. e Coll., Detection of *Salmonellae* in foods with an enzyme immunometric assay, J. Food. Protect., 1987, 50, 59
INSALATA N.F. e Coll., Immunofluorescence technique for detection of *Salmonellae* in various foods, Appl. Micr., 1967, 15, 1145
INSALATA N.F. e Coll., Rapid, direct fluorescent antibody method for the detection of *Salmonellae* in food and feeds, Appl. Micr., 1972, 24, 645
INSALATA N.F. e Coll., Direct fluorescent antibody technique for the microbiological examination of food and environmental swab samples for *Salmonellae*, Appl. Micr., 1973, 26, 268
IVESON J.B. e Coll., A comparative trials of Rappaport enrichment medium for the isolation of *Salmonellae* from faeces, J. Clin. Path., 1967, 20, 290
JAMESON I.E., A study of tetrathionate enrichment technique with particulate reference to two new tetrathionate modifications used in isolating *Salmonella* , J. Hyg, 1962, 60,1
JAMESON J., Nota sull'isolamento delle salmonelle (terreni d'arricchimento e tempo d'incubazione), J. appl. Bact., 1963, 26, 112
JANETSCHKE P. e Coll., Untersuchungen zur Eignung verschiedener Indikator-Nahrmedien in der bakteriologischen Fleischuntersuchungen, Mh. Vet. Med., 1980, 35, 649
JONAS D. e Coll., *Salmonella* Isolierung aus Lebensmitteln tierischer Herkunft. Vergleich Untersuchungen zur Leistungsfahigkeit des modifizierten Rappaportmediums (R10), Arch. Lebens., 1986, 37, 57
JOOSTEN H.M. e Coll., Evaluation of motility enrichment on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium (MSRV) and automated conductance in combination with Rambach agar for *Salmonella* detection in environmental samples of a milk powder factory, Int. J. Food Micr., 1994, 22, 201
KAFEL S. e Coll., Improvement of *Salmonella* recovery from frozen ground meat by transfer of small volumes of pre-enriched samples, Int. J. Food Micr., 1987, 5, 81
KARLSSON K.A. e Coll., Evaluation of the immunofluorescent reagents in the identification of *Salmonella* bacteria, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1974, 228, 474
KING S. e Coll., A new medium for the isolation of enteric pathogens (I-II), Appl. Micr., 1968, 16,

577
KOPP R., Inhibition of swarming of *Proteus* by sodium tetradecyl sulphate, B-phenetil alchool and p-nitrophenilglicerine, Appl. Micr., 1966, 14, 873
KRUSELL L. e Coll., Evaluation of a new semi-automated screening method for the detection of *Salmonella* in foods within 24 h, Int. J. Food Micr., 1993, 20, 123
LANG K., Inhibitory action of Kauffmann's enrichment methods for *Salmonella*, Zbl. Bakt. Orig., 1960, 180, 221
LARAMORE C.R., Fluorescent-antibody technique in detection of *Salmonellae* in animal food and feed ingredients, Appl. Micr., 1969, 17, 352
LEE H.A. e Coll., Enzyme-linked Immunosorbent Assay for *Salmonella typhimurium* in food : feasibility of 1-day *Salmonella* detection, Appl. Environm. Microbiol., 1990, 56, 1541
LIE KIAN J., The dried filter paper technique for sending stools specimens to a laboratory for bacteriological examination, Am J. Trop. Med., 1956, 5, 133
LOUREIRO J.A., Una modificazione dell'agar solfito di bismuto (Wilson e Blair) con soluzioni stabilizzanti, J. Hyg., 1942, 42, 224
LOWE G. e Coll., Un terreno semplice per il riconoscimento rapido dei germi *Salmonella* -paracoli, J. Clin. Path., 1957, 10, 318
MAC COY H.J. e Coll., Bismuth sulphite media in the isolation of *Salmonellae*, Shapton D.A. - Gould G.W., Isolation Methods for Microbiologists, 1969
MAIJALA R. e Coll., Growth of *Salmonella* and competing flora in five commercial Rappaport-Vassiliadis (RV) media, Int. J. Food Micr., 1998, 17, 1
MALO R. e Coll., Evaluation de quatre milieux d'enrichissement pour la mise en évidence des Salmonelles aviaires, Can. J. Comp. Med., 1970, 34, 111
MANAFI M. e Coll., Comparison of three rapid screening methods for *Salmonella* spp. : MUCAP test, Micro Screen Latex and Rambach Agar, Letters Appl. Micr., 1992, 14, 163
MAYER H. e Coll., Untersuchungen uber die Brauchbarkeit verschiedener Metachromgelb - praparate fur den Metachromgelb-Wasserblau-Laktose Agar nach Gassner, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1975, 230
MC CALL C. e Coll., Efficienza delle colture di tamponi rettali e di campioni di feci nel riconoscimento dei portatori di salmonelle, J. Hyg., 1966, 64, 261
MILLER R., Effetti di varie concentrazioni di verde brillante e sali biliari sulle salmonelle e altri germi, Appl.Micr., 1965, 13, 77
MIONI R. e Coll., Ricerca delle salmonelle in campioni alimentari : confronto tra i vari terreni selettivi, Ind. Alim., 1995, 34, 1158
MIONI R. e Coll., Metodiche innovative per la tipizzazione delle salmonelle, Vet. It., 1996, 32, 19
MORRIS K. e Coll., Influence of incubation temperature and sodium heptadecyl sulfate (Tergitol-7) on the isolation of *Salmonellae* from pork sausage, Appl. Micr., 1970, 20, 192
MORRIS-AYRES C., Incidenza delle salmonelle nei polli commercialmente trattati. Metodo sperimentale per la diagnosi, Poultry Sci., 1960, 39, 1131
MOSSEL D.A.A., The total object swab (TOS) technique. A reliable and convenient method for the examination of some proteinaceous staple foods for various typhes of *Enterobacteriaceae*, Lab. Pract., 1964, 13, 1184
MOSSEL D.A.A. e Coll., Les défaillances dans certains cas des milieux d'isolement des *Enterobacteriaceae* des aliments et des médicaments secs, Alimenta, 1972, 11, 29
MUNNICH S.A. e Coll., Enzyme immunoassay for detection of *Salmonellae* in foods, Appl. Environm. Microbiol., 1982, 43, 877
MUNOZ A. e Coll., Isolation of *Salmonella* using three selective enrichment broths from sausages naturally contaminated, Zbl. Bakt. Hyg. Orig. B, 1987, 185, 105
MUNSON T.E. e Coll., Evaluation of an automated fluorescent antibody procedure for detection of *Salmonella* in foods and feeds, Appl. Environm. Micr., 1976, 31, 514
NASTASI A., Detection of *Salmonella* spp. in food by a rapid PCR - Hybridization procedure, Mi-

crobiologica, 1999, 22, 195ù

NATH E.J. e Coll., Evaluation of enrichment protocols for the 1-2 Test TM for *Salmonella* detection in naturally contaminated foods and feeds, J. Food Protect., 1989, 52, 498

NEVOT A., Le basi dell'esame batteriologico delle carni, 1st Symp. W.A.V.F.H., 1956, 65

NORTH W. e Coll., Efficienza del brodo selenito di differente composizione nell'isolamento delle salmonelle, Appl. Micr., 1953, 1, 130

NORTH W., Pre-arricchimento al lattosio per l'isolamento delle salmonelle da albume secco di uova, Appl. Micr., 1961, 9, 188

NOTERMANS S. e Coll., Immunological methods for the detection of foodborne pathogens and their toxins, Int. J. Food Micr., 1991, 12, 91

OGDEN I.D., The effect of air on the response of Salmonellas in conductance media, Letters Appl. Micr., 1990, 11, 193

OSBORNE W. e Coll., A modified selenite brillant-green medium for the isolation of *Salmonella* from egg products, Appl. Micr., 1955, 3, 295

OTTAVIANI F., Esperienze su una tecnica fluoro-enzimatica per lo *screening* rapido di *Salmonella*, Ind. Alim., 1088, 27, 974

PIETZSCH O., Un terreno nutritivo ad azione batteriostatica per la contemporanea distinzione dei batteri *Proteus* dalle salmonelle, Fleischwirtsch., 1967, 47, 31

PIETSCH O., Standardisierung des *Salmonella* Nachweisverfahrens bei Lebensmitteluntersuchungen, Bundesgesudheits., 1976, 19, 148

PIGNATO S. e Coll., Evaluation of new culture media for rapid detection and isolation of *Salmonella* in foods, Appl. Env. Micr., 1995, 61, 1996

P.H.L.S., Routine control of Mac Conkey Agar and Deoxycolate Citrate Agar, Montly Bull., 1966, 25, 289

PLESS P. e Coll., Erweiterte Einsatzmoglichkeiten eines modifizierten Beweglichkeitsmediums (MSRV-medium) fur den Salmonellennachweis, Arch. Lebens., 1993, 44, 125

PLESS P. e Coll., Rapid detection of *Salmonellae* by means of a new impedance-splitting-method, J. Food Protect., 1994, 57, 369

PONTELLO M. e Coll., Evaluation of a new rapid method (Mucap *Test*) for the presumptive identification of *Salmonella* on primary isolation media, Atti Simposio Firenze, 4-6 novembre 1987

PRICE W.R., *Salmonella* testing of pooled pre-enrichment broth cultures for screening multiple food samples, Appl. Micr., 1972, 23, 679

RAMBACH A., New plate medium for facilitated differentiation of *Salmonella* spp. from *Proteus* spp. and other enteric bacteria, Appl. Environm. Micr., 1990, 56, 301

RAPPAPORT F. e Coll., A new enrichment medium for certain *Salmonellae*, J. Clin. Path., 1956, 9, 261

RAPPOLD H. e Coll., Modified Lysine Iron Agar for isolation of *Salmonella* from foods, Appl. Environm. Microbiol., 1979, 38, 162

RAPPOLD H. e Coll., Rapid cultural method to detect *Salmonella* in foods, J. Food Protect., 1984, 47, 46

READ R.B. e Coll., Variation in plating efficiency of *Salmonellae* on eight lots of Brillant Green Agar, Appl. Micr., 1968, 16, 746

REAMER R.H. e Coll., Increased sensitivity of immunofluorescence assay for *Salmonella* in non-fat dry milk, Appl. Micr., 1969, 18, 328

REISSBRODT R. e Coll., Ferrioxamine - E supplemented pre-enrichment and enrichment media improve various isolation methods for *Salmonella*, Int. J. Food Micr., 1996, 29, 81

REUSSE U., Erfahrungen uber die Wirksamkeit von Fertignahrboden bei der Salmonellen - isolierung, Arch. Lebens., 1971, 22, 11

RHODES P. e Coll., Comparison of Muller-Kauffmann tetrathionate broth with Rappaport-Vassiliadis (RV) medium for the isolation of Salmonellas from sausage sludge, J. appl. Bact., 1986, 60, 161

ROZIER J., Ricerca delle salmonelle nelle carni importate controllate per motivi diversi, Fourth Symposium of WAVFH, 1965, 155

SALL B.S. e Coll., Performance of a DNA Probe-based *Salmonella* Test in the AACC Check Sample Program, J. Food Protect., 1988, 51, 579
SCHALCH B. e Coll., Nachweis von Salmonellen mittels MSRV-medium, Fleischwirtsch., 1997, 77, 344
SCHMIDHOFER T. e Coll., Zum Nachweis von Salmonellen im Beweglichkeitskolbchen, Alimenta, 1971, 41
SCHOTORST M. e Coll., Studies on the isolation of injuried *Salmonellae* from foods, Zbl. Bakt. I Abt. Orig. A, 1972, 221, 19
SCHULTE S.J. e Coll., Immunofluorescent screening for *Salmonella* in foods : comparison with culture methods, J. AOAC, 1968, 51, 1334
SIEMS H., Verfahren zur Kultivierung von subletal geshadigten Salmonellen aus lebensmitteln, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1974, 87, 273
SIEMS H. e Coll., Einsatz der Most Probable Number Technik zum quantitativen Salmonellen - Nachweis, Fleischwirtschaft, 1981, 61, 1761
SILLIKER J., Effetto delle feci aggiunte al terreno d'arricchimento al selenito per l'isolamento delle salmonelle, Appl. Micr., 1964, 12, 100
SILLIKER J. e Coll., ICMSF methods studies. VII. Indicator tests as substitutes for direct testing of dried foods and feeds for *Salmonella*, Can. J. Microbiol., 1976, 22, 971
SMITH P.J. e Coll., Detection of Salmonellas in animal feeds by electrical conductance, J. appl. Bact., 1989, 67, 575
SMITH P.J. e Coll., Reproducibility of electrical conductance assay results for the detection of *Salmonella*, Letters Appl. Micr., 1991, 12, 78
SMYSER C.F. e Coll., Isolation of *Salmonellae* from rendered by-products and poultry litter cultured in enrichment media incubated at elevated temperatures, Avian Dis., 1970, 14, 248
SMYSER C.F. e Coll., Fluorescent - antibody methods for detecting *Salmonellae* in animal by-products, Avian Dis., 1973, 17, 99
SOMOGYI A., Wertbemessung und objektiver Vergleisch von bakteriologischen Nahrboden, Arch. Lebens., 1968, 19, 97
STEWART B.J. e Coll., Rapid radiometric method for detection of *Salmonella* in foods, Appl. Environm. Microbiol., 1980, 40, 223
STOCKES J., Terreno al selenito-verde brillante per l'isolamento delle salmonelle, Appl. Micr., 1955, 3, 217
STUART P., Isolamento delle salmonelle per selezione col metodo della mobilità, Appl. Micr., 1965, 13, 365
TAKACS J., L'isolamento delle salmonelle causa di infezioni paratifoidi dai terreni di arricchimento, Fourth Symp. WAVFH, 1965, 167
TAYLOR W., Isolamento delle salmonelle da campioni di alimenti, Appl. Micr., 1958, 6, 189
TAYLOR W., Isolamento delle salmonelle da campioni di alimenti. Comparazione dei metodi d'arricchimento, Appl. Micr., 1961, 9, 484
TAYLOR W.I., Isolation of *Salmonellae* from food samples . V. Determination of the method of choice for enumeration of *Salmonella*, J. appl. Bact., 1961, 9, 487
TAYLOR W., Tecniche di ricerca delle salmonelle nelle carni, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 638
TAYLOR W., Comparazione di due metodi per l'isolamento delle salmonelle da alimenti importati, Appl. Micr., 1964, 12, 53
THOMASON B.M. e Coll., Preparation and testing of polyvalent conjugate for fluorescent - antibody detection of *Salmonellae*, Appl. Micr., 1971, 22, 876
THOMASON B.M. e Coll., Comparison of enrichment procedures for fluorescent antibody and cultural detection of *Salmonellae* in raw meat and poultry, Appl. Environm. Micr., 1976, 31, 787
THOMASON B.M., Current status of immunofluorescent methodology for *Salmonellae*, J. Food Protect., 1981, 44, 381
THOMSON S., The number of bacilli harbored by enteric carriers, J. Hyg., 1954, 52, 67

THOMSON S., The numbers of pathogenic bacilli in faeces in intestinal diseases, J. Hyg., 1955, 53, 217
TSAI H.C. e Coll., Rapid fluorescence concentration immunoassay for detection of *Salmonellae* in chicken skin rinse water, J. Food Protect., 1994, 57, 190
VAN DER ZEE H., Conventional methods for the detection and isolation of *Salmonella enteritidis*, Int. J. Food Micr., 1994, 21, 41
VAN SCHOTORST M. e Coll., Malachite-green pre-enrichment medium for improved *Salmonella* isolation from heavily contaminated samples, J. appl. Bact., 1985, 59, 223
VAN SCHOTORST M. e Coll., *Salmonella* isolation using RVS and MLCB agar, Food Micr., 1987, 4, 11
VASSILIADIS P., *Shigella* spp., *Salmonella cholerae-suis* and *Arizona* in Rappaport's medium, J. appl. Micr., 1968, 31, 367
VASSILIASIS P. e Coll., Isolement de salmonelles à partir de saucisses de porc en utilisant un nouveau procédé d'enrichissement, Rec. Med. Vet., 1977, 153, 489
VON POUCKE L., *Salmonella* - TEK, a rapid screening method for *Salmonella* species in food, Appl. Environm. Micr., 1990, 56, 924
WALKER A.P., A note on the inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* by a modification of Brillan Green Agar for improved *Salmonella* isolation, J. appl. Bact., 1981, 51, 405
WARBURTON D.W. e Coll., A comparison of six different plating media used in the isolation of *Salmonella*, Int. J. Food Micr., 1994, 22, 277
WEBER A. e Coll., Zum Nachweis von Salmonellen mittels Rambach Agar, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1994, 107, 43
WIBERG C. e Coll., Comparison between a cultural procedure using Rappaport-Vassiliadis broth and motility enrichment on modified semisolid Rappaport-Vassiliadis medium for *Salmonella* detection from food and feed, Int. J. Food Micr., 1996, 29, 353
WILLIAMS R. e Coll., Lactose pre-enrichment method for isolation of *Salmonella* from dried egg albumen, Appl. Micr., 1961, 9, 188
ZAVANELLA M., *Test* indiretto d'immunofluorescenza (FAT) e metodo colturale per la ricerca delle salmonelle in alimenti di origine animale, Sel. Vet., 1974, 15, 474
ZAVANELLA M. e Coll., Prove biochimiche su piastra per l'identificazione rapida delle salmonelle, Sel. Vet., 1974, 15, 470

7. TIPIZZAZIONE SIEROLOGICA

Kauffmann ha codificato il sistema di tipizzazione sierologica delle salmonelle attraverso numerosi lavori, pubblicati in oltre trent'anni di studi e mirabilmente riassunti in un'unico testo del 1966 intitolato *"The Bacteriology of Enterobacteriaceae"*, in cui è contenuto anche il famoso schema che da lui prende il nome.
Nello stesso volume l'Autore afferma che "*senza sierologia non è possibile alcuna tipizzazione"*, ribadendo il concetto secondo il quale le salmonelle prima si identificano come genere con le prove biochimiche e poi si tipizzano come specie con le prove sierologiche (in questo caso con le agglutinazioni).

7.1 Procedura consigliata per la tipizzazione sierologica

La reazione sierologica che si impiega comunemente in laboratorio per la tipizzazione delle salmonelle è l'agglutinazione, che può essere praticata in una delle due forme più note, rapida su vetrino o lenta in provetta.
L'agglutinazione rapida si applica correntemente per la diagnosi degli antigeni somatici O oppure degli antigeni flagellari H. È inoltre praticata per saggiare con il siero poliagglutinante anti-*Salmonella* le colture pure su Kligler, realizzate partendo da colonie staccate, isolate sulle piastre dei vari terreni selettivi.
L'agglutinazione lenta può essere applicata alla diagnosi degli antigeni flagellari H, in alternativa all'agglutinazione rapida su vetrino.

> ***NOTA -*** *La scelta del metodo di agglutinazione dipende dalle preferenze del microbiologo e va decisa prima di passare alla realizzazione pratica, in quanto i sieri diagnostici da usare per le agglutinazioni rapide non sono adatti per quelle lente (e viceversa).*
> *Inoltre va tenuto presente quanto segue:*
> - ***il metodo dell'agglutinazione rapida*** *è più veloce e apparentemente più semplice da realizzare, ma richiede una certa abilità ed esperienza nell'operatore, acquisibile solo con una buona pratica.*
> - ***il metodo dell'agglutinazione lenta*** *è più complesso e dispendioso, va bene se il laboratorio tratta costantemente un numero programmabile di tipizzazioni. Richiede da parte dell'operatore una minore esperienza complessiva, ma una certa attenzione specialmente nella lettura dei risultati.*

L'intero percorso per la tipizzazione sierologica delle salmonelle comprende le seguenti tappe:

1. ***Preparazione dell'antigene***
2. ***Agglutinazione somatica O***
3. ***Agglutinazione flagellare H*** *(prima agglutinazione)*

4. ***Separazione, eventuale, tra fase 1 e fase 2***
5. ***Agglutinazione flagellare H*** *(seconda agglutinazione)*

Possono essere ancora necessarie alcune prove biochimiche per distinguere fra loro salmonelle sierologicamente non differenziabili *(ad esempio, S. pullorum e S. gallinarum).*

7.2 Preparazione dell'antigene

Se viene applicato il metodo dell'agglutinazione rapida su vetrino (indifferentemente per la ricerca degli antigeni O e degli antigeni H) va bene la coltura già presente su terreno di Kligler, conservata in frigorifero fino al momento dell'uso.
Se si usa il metodo dell'agglutinazione lenta per la ricerca degli antigeni H, dal Kligler si trapianta un'ansata di patina batterica in una provetta 16×100 mm contenente 2 ml di Trypticase Soy Broth (TSB).
Dopo incubazione in termostato a +37°C per 18-24 ore, si raddoppia la brodocoltura sviluppata con una uguale quantità di soluzione fisiologica 1 % formolata, si agita per mescolare e si conserva la provetta a temperatura ambiente fino all'esecuzione delle agglutinazioni.

NOTA

1. *Le colture di Salmonella su Kligler in attesa di tipizzazione vanno trapiantate dopo una settimana, in modo da avere ceppi freschi che meglio agglutinano.*
2. *Colture di Salmonella conservate per lungo tempo (oltre un mese) in frigorifero su terreni solidi possono perdere le caratteristiche di mobilità iniziali, utili ai fini dell'agglutinazione flagellare. Pertanto in questi casi è opportuno sottoporre il ceppo ad un passaggio in una provetta contenente BHI + agar allo 0,3 % e tubo di Craigie, con incubazione a +37 °C, fino ad avvenuta migrazione per mobilità e quindi trapiantare in TSB.*
3. *Le provette contenenti l'antigene formolato, pronto per l'agglutinazione lenta, possono essere conservate in frigorifero per alcuni giorni se la prova viene rimandata.*

7.3 Agglutinazione somatica O

Nell'agglutinazione somatica le cellule batteriche si uniscono per i poli, formando rapidamente degli aggregati di tipo finemente granulare all'occhio dell'osservatore. Questi aggregati, oltre che di piccole dimensioni, sono piuttosto labili e si lasciano sciogliere se l'operatore eccede nell'agitare la miscela siero-antigene.
In pratica, si pone un vetrino porta-oggetti (ben pulito e sgrassato) su un piano di vetro illuminato da luce trasmessa e si depone sul vetrino una goccia del siero diagnostico da usare.

Con l'ago da batteriologia, sterilizzato e raffreddato, si preleva una piccola quantità di patina batterica dalla superficie della coltura su Kligler, evitando di trascinare nel prelievo frammenti di agar provenienti dal terreno e operando in condizioni di sterilità, vicino alla fiamma del *bunsen*.
Si depone delicatamente la quantità di patina batterica con l'ago vicino alla goccia di siero, senza mettere immediatamente la patina a contatto con il siero stesso, per evitare la formazione di grumi.
Con la punta dell'ago, senza flambare, si procede quindi a trasportare, in più riprese, piccole quantità di siero dalla goccia sulla patina, mescolando con movimento circolare, in modo da disperdere i germi.
Quando la patina si è stemperata, si completa con l'ago la miscelazione dei germi con l'intera quantità di siero presente sul vetrino.
Si continua con l'ago (per 1 minuto circa) a mescolare i germi nel siero, con movimento circolare, evitando di allargare eccessivamente il diametro della goccia.
Prima di procedere alla lettura dell'agglutinazione, è consigliabile abbandonare l'ago (che va flambato) e sollevare con entrambe le mani il vetrino, per completare la miscelazione dell'antigene nel siero con tre o quattro movimenti di oscillazione del vetrino stesso.
In caso di **agglutinazione positiva**, al termine del tempo prefissato si devono poter apprezzare ad occhio nudo piccoli granuli bianchi, omogeneamente dispersi nell'intera goccia di siero, divenuta, attorno alle granulazioni, decisamente trasparente.
In caso di **agglutinazione negativa**, i germi, restando liberamente in sospensione nel siero, provocheranno un'intorbidamento dello stesso, che assumerà un aspetto lattiginoso ed opaco.

NOTA

Per facilitare la prova di agglutinazione rapida, è consigliabile avere a disposizione il seguente materiale:

- Un tavolinetto dotato di illuminazione trasmessa, del tipo usato per visualizzare le diapositive.
- Una micropipetta da 20 microlitri, con puntali per deporre sul vetrino le gocce dei vari sieri.
- Un supporto con puntali per micropipetta. Il puntale già usato va cambiato prima di passare ad un altro siero.
- Un supporto contenente i flaconi dei sieri diagnostici, che devono sostare fuori dal frigorifero per il tempo strettamente necessario all'esecuzione delle prove.
- Ago, *bunsen*, un contenitore per raccogliere i vetrini usati, un foglio di lavoro per annotare immediatamente l'esito delle agglutinazioni, man mano che vengono lette.

ATTENZIONE !! I germi agglutinati non vengono inattivati dai sieri diagnostici e pertanto possono infettare l'operatore distratto.
Si raccomanda quindi di usare i guanti e di eliminare i vetrini usati direttamente nei rifiuti speciali, senza ulteriori manipolazioni.

7.4 Agglutinazione flagellare H

L'agglutinazione H, a differenza di quella somatica, comporta l'aggregazione delle cellule batteriche che si affiancano e si uniscono mediante i flagelli. Gli aggregati formati sono più grossi (e quindi più evidenti), più lenti ad apparire e a scomparire.

Modalità operative

- *mediante agglutinazione rapida su vetrino*
- *mediante agglutinazione lenta in provetta o in piastra*

a) agglutinazione rapida su vetrino

La tecnica è sovrapponibile al metodo descritto per l'esecuzione della ricerca degli antigeni O, usando quindi come antigene la patina colturale sviluppata su terreno di Kligler e come anticorpi i vari sieri H, contraddistinti da lettere minuscole dell'alfabeto (a, b, c, ecc) o da numeri (1,2 ecc).
Va tenuto presente che i sieri H sono in realtà *dei sieri OH, nei quali gli anticorpi contro gli antigeni somatici non sono stati eliminati*. Per evitare agglutinazioni indesiderate (dovute agli anticorpi anti-O) questi sieri *vengono sempre impiegati a diluizioni (o titoli) superiori rispetto a quanto si usa per i sieri O* (in pratica, generalmente diluiti 1:100, mentre per i sieri O si tratta di titoli varianti tra 1:5 e 1:40).

NOTA

- I sieri H per agglutinazione rapida andrebbero, teoricamente, saggiati tutti verso il ceppo in esame. Per motivi pratici, il laboratorista si pone delle priorità, regolandosi in base alla sua esperienza e provando innanzitutto i fattori sierologici più probabili. Ad esempio, considererà, nell'ordine, *la fonte d'isolamento della Salmonella, quali sono i ceppi locali più frequenti, quali sierotipi possono corrispondere agli antigeni O già trovati, ecc.*

- Per l'agglutinazione rapida su vetrino nella ricerca degli antigeni H è necessario miscelare con l'ago germi e siero per circa 2 minuti, prima di leggere il risultato.

b) agglutinazione lenta in provetta o in piastra

La tecnica è più complessa dal punto di vista dell'organizzazione iniziale del lavoro.
Come già riportato, l'antigene è costituito in questo caso da una brodocoltura di 24 ore in Trypticase Soy Broth (TSB), raddoppiata in volume con soluzione fisiologica 1% formolata.

I sieri vengono usati a diluizioni elevate, per evitare reazioni crociate dovute agli anticorpi O (generalmente i sieri H per agglutinazione lenta vengono diluiti ad una diluizione di lavoro pari a 1:500, corrispondente ad una diluizione finale di 1:1000 (considerata l'ulteriore diluizione 1:2 apportata dall'aggiunta dell'antigene in TSB).
Anche in questo caso, teoricamente, il laboratorista dovrebbe saggiare tutti i sieri H disponibili verso il ceppo in esame.
Esiste tuttavia per la prova lenta la possibilità di usare dei *pool* di sieri H, chiamati di *Spicer-Edwards* dal nome dei due Autori che li hanno introdotti.
Si tratta di sette *pool* di sieri, distribuiti nei vari *pool* secondo una scacchiera, in modo tale che dalle varie combinazioni risultanti sono riconoscibili 35 fattori antigenici.

Lo schema della composizione dei *pool* di Spicer-Edwards è la seguente (tabella 11):

Tabella 11 - Composizione dei *pool* di Spicer- Edwards

antigeni H	*pool 1*	*pool 2*	*pool 3*	*pool 4*
a	+	+	+	-
b	+	+	-	+
c	+	+	-	-
d	+	-	+	+
e,h	+	-	+	-
G *complex* *	+	-	-	+
i	+	-	-	-
k	-	+	+	+
r	-	+	-	+
y	-	+	-	-
z	-	-	+	+
z_4 *complex* **	-	-	+	-
z_{10}	-	-	-	+
z_{29}	-	+	+	-

e, inoltre, per i rimanenti tre *pool* la composizione è la seguente :

antigeni H	nome del *pool*	numero del *pool*
e, n, x, ; e, n, z_{15}	EN *complex*	5
l, v ; l, w ; l, z_{13}; l, z_{28}	L *complex*	6
1,2 ; 1,5 ; 1,6 ; 1,7 ; z_6	1 *complex*	7

NOTA
**G complex comprende i seguenti antigeni :*
f, g ; f, g, s ; f, g, t ; g, m ; g, m, q ; g, m, s ; g, m , t ; g, p ; g, p, s ; g, p, u ; g, q ; g, s, t ; g, t ; m, p, t, u ; m, t.

***z_4 complex comprende i seguenti antigeni :*
z_4, z_{23} ; z_4, z_{24} ; z_4, z_{32}

Il rapporto tra sieri e antigeni è sempre di 1:1.
Il tempo d'incubazione delle prove è di un'ora.
La temperatura d'incubazione è di +50 °C in bagnomaria.

NOTA
Dopo la lettura delle agglutinazioni H con i *pool* di Spicer-Edwards è consigliabile ripetere l'agglutinazione con il singolo siero individuato responsabile dell'avvenuta agglutinazione. Si usa lo stesso procedimento.

La ripetizione delle agglutinazioni con i singoli sieri è indispensabile quando i *pool* che hanno agglutinato sono: G *complex*, z_4 *complex*, EN *complex*, L *complex*, 1 *complex.*

Modalità pratiche per l'allestimento dell'agglutinazione lenta H su piastra, secondo un micrometodo economico di facile standardizzazione

L'agglutinazione lenta è nata come agglutinazione da effettuare nelle classiche provette da sierologia (8×120 mm). Tuttavia con l'avvento della plastica monouso sono apparse più convenienti le ***piastre*** a 48 pozzetti impiegate per le colture cellulari.

Anticorpi - Per allestire la prima agglutinazione H, ciascuno dei sette *pool* di Spicer-Edwards viene distribuito su una colonna verticale di pozzetti della piastra in ragione di ml 0,25 per pozzetto, usando una micropipetta a ripetizione.
I puntali utilizzati non devono venire a contatto con più di un siero e pertanto vanno allontanati, subito dopo l'uso, per essere accuratamente lavati e riutilizzati *(vedi avvertenza più avanti).*
Antigeni - Per ogni ceppo da esaminare si pratica la distribuzione della brodocoltura (in TSB raddoppiato con soluzione fisiologica 1% formolata) in ragione di ml 0,25 per pozzetto su una fila orizzontale di sette pozzetti, avvalendosi delle stesse micropipette ripetitive sulle quali, per ogni ceppo, si monta un puntale diverso.
Incubazione - Dopo aver delicatamente miscelato il contenuto dei pozzetti con un leggero scuotimento orizzontale della piastra, si procede all'incubazione della stessa per 1 ora in bagnomaria termostatato a +50 °C, avendo cura di controllare il livello dell'acqua che deve arrivare a metà circa dei pozzetti della piastra.

Lettura - Al termine dell'incubazione, le agglutinazioni appaiono come grossi agglomerati a forma di fiocco biancastro, ben visibili ad occhio nudo, all'interno del siero che rimane limpido. I fiocchi non scompaiono nemmeno dopo un leggero scuotimento della piastra.
Le reazioni negative presentano invece una sospensione torbida e lattescente.

Attenzione!

La presenza di soluzione formolata non garantisce l'inattivazione immediata delle Salmonelle.
Pertanto si raccomanda, per la sicurezza dell'operatore, l'uso di guanti e di un recipiente contenente una soluzione disinfettante, nella quale gettare i puntali da micropipetta usati (recuperabili in un secondo tempo, previo accurato lavaggio in acqua calda e detersivo, seguito da due risciacqui in acqua demineralizzata).

7.5 Separazione delle fasi 1 e 2

Dopo aver effettuato le agglutinazioni O e la prima agglutinazione H, il laboratorista conosce già una parte della struttura antigenica del ceppo in esame, ad esempio la struttura *1,9,12 : g,m-*.
Dalla consultazione dello schema di Kauffmann-White si può desumere che a questa struttura antigene corrisponde il sierotipo *Salmonella enteritidis,* che possiede una fase sola e per questo è detto *monofasico.*
In casi come quello portato ad esempio la tipizzazione è già conclusa.
Tuttavia, dallo schema citato si può vedere che la maggior parte delle salmonelle è bifasica, vale a dire possiede due fasi antigeniche H, chiamate *fase 1 e fase 2.*
Al momento della prima agglutinazione H non si può prevedere con quale fase il ceppo in esame si presenterà.
Difatti, esistono uguali probabilità che esso mostri gli antigeni della fase 1 oppure quelli della fase 2; raramente, il ceppo può anche mostrare contemporaneamente entrambe le fasi 1 e 2.

Procedimento pratico consigliato per la separazione delle fasi H

Sono stati elaborati più metodi per evidenziare la fase che non ha reagito alla prima agglutinazione H.
Tra questi si ricorda il metodo di *Swen-Gard*, che consiste nel seminare il ceppo al centro di una piastra contenente un terreno nutritivo agarizzato semi-solido addizionato con una piccola quantità di siero anti-*Salmonella* corrispondente alla fase H conosciuta (e quindi da inibire). Dopo incubazione, la *Salmonella*, essendo mobile, si svilupperà formando una patina batterica di forma circolare, alla cui periferia saranno presenti cellule batteriche dotate di fase sierologica H differente da quella iniziale (passaggio da fase 1 a fase 2 o viceversa).

Trapiantando con l'ansa dalla patina periferica entro una provetta di brodo, sarà possibile ripetere l'agglutinazione H per trovare la fase mancante.

Più recentemente (Cruickshank, 1965) è stato introdotto il metodo di *Craigie,* che riprende lo stesso principio di Swen-Gard, ma in provetta. Questo metodo prevede quanto segue:

1. Si preparano delle provette per sierologia (mm 8×120), complete di tappo, contenenti un tubetto di vetro (della lunghezza di circa 4 cm e del diametro esterno di circa 4 mm) aperto alle due estremità e si sterilizzano in stufa a secco per 1 ora a +160 °C.
2. Si prepara il terreno semi-solido BHI + agar allo 0,15% che viene sterilizzato in autoclave a +121°C per 15 minuti.
3. Dopo raffreddamento a circa +50 °C, si unisce sterilmente al terreno, in un recipiente sterile, il siero corrispondente alla fase H già nota che si vuole inibire. La quantità ottimale di siero da miscelare al terreno è pari a ml 0,1 di siero contro ml 25 di terreno (diluizione siero / terreno = 1/250).
4. In ciascuna provetta sterile contenente un tubo di Craigie si dispensano circa ml 2 di terreno + siero.
5. Le provette realizzate (non utilizzate subito) sono conservabili in frigorifero per 1 mese.
6. Il ceppo viene seminato con l'ago all'interno del tubetto e la provetta viene incubata a +37 °C in termostato fino a quando la *Salmonella*, mobile, si sarà sviluppata completamente all'interno del tubetto, risalendo poi verso la superficie del terreno, fuori dal tubetto stesso.
7. Generalmente questo percorso richiede da 24 a 48 ore di incubazione.
8. Si trapianta con l'ansa il ceppo in TSB, prelevandolo dalla superficie.
9. Si incuba a +37°C per 18-24 ore e si ripete l'agglutinazione H.

NOTA

- **Non sempre la separazione di fase H riesce al primo tentativo.**

Si consiglia di ripetere (fino a tre volte) il metodo di Craigie, partendo sempre dalla coltura pura in Kligler e seminando ogni volta una nuova provetta con il tubo di Craigie per la separazione delle fasi. Dopo ciascun tentativo vi saranno i necessari trapianti in TSB e l'agglutinazione H. Questo metodo è applicabile anche alla procedura di tipizzazione con agglutinazione rapida su vetrino, adoperando al posto del TSB un terreno solido (come il TSA).

- *Si consiglia di preparare periodicamente dei gruppi di provette per la separazione delle fasi, contenenti, ciascuno, gli anticorpi corrispondenti ai più frequenti antigeni da inibire (ad es. gli antigeni d ; e,h ; k ; i ; L complex ; EN complex ; 1 complex, ecc.*
- *Le provette per la separazione delle fasi vanno conservate in frigorifero e rinnovate mensilmente.*

Solo nel caso di sierotipi riconosciuti nello schema di Kauffmann-White come bifasici è necessario procedere alla ricerca dell'altra fase, rispetto a quella già trovata.
La procedura è la seguente:

1. Dalla provetta di separazione delle fasi si trapianta in TSA (se si intende procedere all'agglutinazione rapida su vetrino) oppure in TSB (per l'agglutinazione lenta).
2. Si incuba in termostato a +37 °C per 18-24 ore.
3. Se si usa il trapianto in TSA non occorrono altre operazioni intermedie e si può usare subito la patina colturale per effettuare l'agglutinazione rapida su vetrino con i sieri H.
4. Nel caso dell'agglutinazione lenta, la brodocoltura in TSB va raddoppiata con soluzione fisiologica 1% formolata.
5. La tecnica dell'agglutinazione lenta per la seconda agglutinazione ripete esattamente quanto descritto in precedenza per la prima agglutinazione flagellare H.
6. Al termine della seconda agglutinazione si consulta lo schema di Kauffmann-White per ricavare, dalla formula antigenica ottenuta (comprendente la struttura antigene O e la struttura antigene H, divisa in fase 1 e fase 2) la tipizzazione finale.
7. La maggior parte delle salmonelle possiede nello schema un nome (dato dall'Autore che ha effettuato il primo isolamento di quel dato sierotipo, adoperando nomi di fantasia o denominazioni geografiche o relative all'animale portatore, ecc).
   La denominazione completa di un sierotipo comprende la sequenza illustrata nel seguente esempio:

Salmonella	***typhimurium***	***4, 5, 12***	***:***	***i***	***-***	***1,2***
		(antigeni O)		*(antigeni H) fase 1*		*(antigeni H) fase 2*

8. I sierotipi senza nome sono indicati con la sola struttura antigene (es. *Salmonella* 43 : a - z_6)

AVVERTENZA IMPORTANTE !

Non sempre la tipizzazione di un ceppo di *Salmonella* si conclude senza difficoltà, come può apparire dalla descrizione fin qui fatta.
Esistono ceppi che necessitano di un lavoro più complesso. Il laboratorista deve mettere in conto imprevisti che ritardano la conclusione dell'analisi.
Nella casistica sotto riportata è contenuto un repertorio di possibili situazioni anomale.

7.6 Casi particolari

Vengono descritti qui di seguito i possibili comportamenti anomali dei ceppi da tipizzare, preceduti dal simbolo • e, per ogni caso che si presenti, *viene schematicamente tratteggiato il percorso da applicare* per tentare la tipizzazione sierologica, integrabile con prove biochimiche differenziali. In qualche caso il laboratorista si potrà trovare nell'impossibilità di tipizzare in maniera convincente un ceppo di *Salmonella* e dovrà optare per la conclusione di "*Salmonella non tipizzabile*".

1) Ricerca antigeni O (metodo: agglutinazione rapida su vetrino)

Il ceppo da tipizzare presenta il seguente comportamento:

Caso 1

● **Non agglutina con i sieri O - È poliagglutinante negativo o dubbio.**

Cosa fare:

Sospensione in soluzione fisiologica da originale
Semina a colonie staccate su Hektoen
+37° C per 24 ore
Trapianto di due colonie in Kligler
+37 °C per 24 ore
Poliagglutinante
Prove biochimiche

Caso 2

● **Agglutina parzialmente con un siero O - Risponde ai sieri H.**

Cosa fare:

Trapianto diretto da originale su *slant* di agar glicerinato e semina Enterotube o API 20 E o altro metodo equivalente
+37 °C per 24 ore
Ripetizione delle agglutinazioni O

Caso 3

● **Agglutina con più sieri O.**

Cosa fare:

Sospensione da originale
Semina in Hektoen
+37 °C per 24 ore
Vedi caso 1 per il seguito

Caso 4

● **Non agglutina con i principali sieri O - È poliagglutinante positivo.**

Cosa fare:
Proseguire con la ricerca degli antigeni H
Consultare lo schema di Kauffmann-White
Saggiare i sieri O delle possibili combinazioni

2) Ricerca antigeni H (metodo: agglutinazione lenta a +50 °C per 1 ora)

Il ceppo da tipizzare presenta il seguente comportamento:

Caso 1

● **Non agglutina con nessun siero H - È poliagglutinante + e 9,12 +**
Presenta caratteristiche colturali e anamnestiche proprie della *S. gallinarum-pullorum*.

Cosa fare:
Da originale semina le prove biochimiche (Enterotube o API 20E o altro metodo equivalente)
Semina un tubo di Craigie per la mobilità (BHI + siero 5% + agar 0,3 %)
+37 °C per 7 giorni
Semina prove biochimiche differenziali (dulcite, lisina / ornitina / arginina decarbossilasi, H_2S, d-tartrato)
+37 °C per 7 giorni

Caso 2

●**Non agglutina - È diverso come antigeni O da 9,12.**

Cosa fare:
Da originale semina le prove biochimiche (Enterotube o API 20E o altro metodo equivalente)
Semina il *test* della mobilità
+37 °C per 24 ore (per le prove biochimiche)
+37 °C per 48 ore (per il *test* della mobilità)
Trapianto da mobilità in TSB
+37 °C per 24 ore
Agglutinazione
Semina tubetto per separazione fasi
In caso di mancata agglutinazione, trapianto da mobilità in mobilità per due volte consecutive (totale = 3 tubi per *test* mobilità)
Dal terzo passaggio della mobilità semina un TSB
+37 °C per 24 ore
Agglutinazione

Caso 3

● **Agglutina con più sieri e non corrisponde come struttura antigene H allo schema di Kauffmann-White.**

Cosa fare:
Sospensione da originale in soluzione fisiologica
Semina su piastra di Hektoen
+37 °C per 24 ore
Trapianto di due colonie su Kligler
+37 °C per 24 ore
Semina prove biochimiche (Enterotube o API 20E o altro metodo equivalente)
Semina dai Kligler in due TSB
+37 °C per 24 ore
Ripetizione delle agglutinazioni con poliagglutinante, sieri O e sieri H

Caso 4

● **Agglutina, ma sullo schema di Kauffmann-White esistono più sierotipi con la stessa struttura antigene.**

Cosa fare:
Dal Kligler semina le prove differenziali descritte da Kauffmann (1966)
+37 °C per 7 giorni
Per differenziare i ceppi del *sub-genus* (o sottospecie) II (indicati come *Salmonella II*) è sufficiente seminare una provetta di malonato
+37 °C per 24 ore
Se positivo, viraggio al blu (= *Salmonella II*)

NOTA *- TRA I CASI PIÙ FREQUENTI DI SIEROTIPI DA DIFFERENZIARE MEDIANTE PROVE BIOCHIMICHE, SE NE EVIDENZIANO ALCUNI (TABELLA 12).*

Tabella 12 - Casi più frequenti di sierotipi con la stessa struttura antigene che necessitano di prove biochimiche per essere differenziati

gruppo B (= antigeni O 4,5,12) in presenza di struttura antigene H = b - e,n,x

Salmonella	malonato	inosite	ramnosio	m-tartrato
sofia	+	-	+	-
abony	-	+	+	*v*
sladun	-	-	+	-
abortus-bovis	-	-	*v*	-

gruppo D (=antigeni O 1,9,12) in assenza di antigeni H

Salmonella	dulcite	H_2S	lisina	ornitina	d-tartrato
gallinarum	+	+/-	+	-	+
pullorum	-	+	+	+	-

gruppo C (=antigeni O 6,7) in presenza di struttura antigene H = c - 1,5

Salmonella	arabinosio	dulcite	trealosio	d-tartrato	mucato
cholerae-suis	-	*v*	-	+	*v*
typhi-suis	+	*v*	+	-	-
decatur	+	+	+	+	+

v = comportamento variabile
inosite, ramnosio, dulcite, arabinosio, trealosio = *test* di fermentazione dei carboidrati
d-tartrato, m-tartrato, mucato = *test* di utilizzazione degli acidi organici
lisina, ornitina = *test* di decarbossilazione degli aminoacidi
H_2S = *test* di produzione dell'idrogeno solforato

Riferimenti bibliografici

BAILEY W., Un metodo per separare colture miste di salmonelle, Can. J. Microbiol., 1955, 1, 288
ELLIS E.M., The Spicer-Edwards technique and its application in *Salmonella* identification, Proc. 70th Annual Meeting USLSA, 1966, 597
FINDERSEN H., Ein einfaches Verfahren zur Diffenzierung der *Salmonella* Geisselphasen, Arch. Hyg., 1968, 152, 542
GUINEE P.A.M. e Coll., Mechanized procedures for the serology of *Salmonella*, Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1983, 255, 258
MORRIS G.K. e Coll., Evaluation of plastic multi-well plates for serological screening of *Salmonella* cultures with Spicer-Edwards pooled antisera, Appl. Micr., 1972, 24, 846
MULLER H., A method for developing flagellate H - forms of *Salmonella*, Zbl. Bakt. Orig., 1962, 187, 322
SATO-ADLER C., Test sierologici per l'identificazione delle *Arizona*, Avian Dis., 1966, 10, 247
SPICER C.C., A quick method of identifying *Salmonella* H antigens, J. Clin. Path., 1956, 9, 378
VAN DER WALL G., Beitrag zur Salmonellen-schnelldiagnostik und uber die Verbreitung seltener Salmonellentypen, Arch. Lebens., 1965, 16, 102
WINKLE S., Bakteriologiske Fleichuntersuchung : hier serum zur bestimmung von Salmonellen schreiben des BMGes, Vorschr. Vet. Verwalt., 1964, 12, 50

8. RICONOSCIMENTO DI BIOTIPI

Alcune salmonelle, statisticamente molto frequenti, sono state sottoposte a studi accurati per cercare di suddividerle ulteriormente in *tipi*, allo scopo di riconoscere meglio il loro "tracciato" epidemiologico ed eventualmente particolari attitudini alla virulenza.
Le specie più indagate sono state le salmonelle *typhimurium, wien, panama.*
La prima di queste ha dato luogo ad una casistica che può considerarsi esemplare come modello di studio. Detta ricerca è stata portata avanti da Autori dell' Istituto Pasteur di Parigi (Le Minor, Cordano) negli anni 1970-71, con l'intento di mettere a disposizione dei laboratori meno attrezzati uno strumento diagnostico di facile esecuzione, considerando la tipizzazione fagica (lisotipia) troppo indaginosa.
Il protocollo operativo proposto suddivide la *S. typhimurium* in 8 biotipi, attraverso l'allestimento di quattro reazioni biochimiche classiche, comprendenti: tetrationato-reduttasi, fermentazione di carboidrati (inosite e trealosio), utilizzazione di acidi organici (d-tartrato), come si vede dalla tabella 13.
Per la composizione dei terreni si rimanda in APPENDICE.

Tabella 13 - Caratteri differenziali dei biotipi riconoscibili nella *Salmonella typhimurium*

BIOTIPI	tetrationato-reduttasi	inosite	trealosio	d-tartrato
a	+	+	+	+
b	+	-	+	+
c	+	+	-	+
d	+	+	+	-
e	+	-	+	-
f	-	+	+	+
g	-	+	-	+
h	-	-	+	+

Dagli studi condotti in Francia, i biotipi più frequentemente presenti in focolai epidemici di salmonellosi umana di notevoli proporzioni appartenevano ai biotipi "a" (45%) oppure "b" (25,5%). La maggior parte dei ceppi classificati all'interno di questi biotipi possedeva l'antigene somatico O 5, ritenuto un indice significativo di patogenicità, in quanto espressione di un particolare cromosoma batterico.
Importante è l'osservazione degli Autori francesi secondo la quale i ceppi di *S. typhimurium,* isolati nello stesso periodo e nelle stesse regioni da polli, sono risultati sprovvisti dell'antigene somatico O 5, pur appartenendo ai biotipi "a" oppure "b".

Riferimenti bibliografici

CORDANO A.M. e Coll., Biotypes de *S. typhimurium* : enquete sur 513 souches isolées en France en 1969-1979, Ann. Inst. Pasteur, 1971, 121, 473

DUGUID J.R. e Coll., A new biotiping scheme for *Salmonella typhimurium* and its phylogenetic significance, J. Med. Microbiol., 1975, 8, 149

LE MINOR L. e Coll., Récherche de la tétrathionate-réductase chez les bacteries gram-negatives anaérobies facultatives (*Enterobacteriaceae*, *Aeromonas* et *Pasteurella*), Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 384

LE MINOR L. e Coll., Méthodes simples permettant de rechercher la tétrathionate-réductase en cultures liquides ou sur colonies isolées, Ann. Inst. Pasteur, 1970, 119, 733

9. TIPIZZAZIONE FAGICA O LISOTIPIA

9.1 Nozioni di base

I batteriofagi sono dei grossi *virus*, delle dimensioni di 8-120 *millimicron*, che parassitano i batteri. Quando vengono adsorbiti da questi ultimi, si infiltrano nel citoplasma attraverso pori della membrana cellulare e si moltiplicano a spese delle sostanze vitali del germe. Non sono visibili all'interno dei batteri, in quanto la loro sostanza si mescola con quella dell'ospite. Dopo un certo tempo si formano delle strutture nuove, dette *profagi*, dalle quali traggono origine i veri fagi infettanti, che diventano liberi, visibili e capaci di parassitare altre cellule batteriche. Ogni fago conserva in sè una parte del materiale genetico del batterio-madre, da usare per una successiva replicazione. Pertanto i fagi possono trasmettere da un batterio all'altro alcune proprietà indesiderabili legate al genoma (patogenicità, resistenza agli antibiotici, ecc).
Da una cellula batterica parassitata possono nascere circa 100 fagi. Il tempo di generazione medio è di 40 minuti.
Germi e batteriofagi convivono in natura, spesso senza conseguenze reciproche. Solo se un germe contiene dei recettori specifici per determinati fagi, questi ultimi possono attaccarlo e distruggerlo attraverso il fenomeno della lisi. Il possesso di recettori specifici per determinati fagi costituisce uno strumento diagnostico utile alla classificazione di un microrganismo a livello di genere, di specie oppure di sottotipo.

9.2 L'esempio del batteriofago polivalente O1 per le salmonelle

La tipizzazione fagica è stata applicata in batteriologia nei confronti di numerose specie, massimamente appartenenti ai generi *Staphylococcus* e *Brucella*, ma anche *Pseudomonas*, *Listeria*, *Escherichia coli,* micobatteri e *Salmonella.*
All'interno di quest'ultimo genere sono stati studiati con i fagi parecchi sierotipi, tra i quali *S. enteritidis, typhimurium, dublin, cholerae-suis,* sulla scia degli studi storici di Felix e Callow sui sottotipi delle *S. typhi* e *paratyphi B.* Alcuni "fago-tipi" di *Salmonella* sono diventati importanti epidemiologicamente (come, ad esempio, *S. typhimurium* DT 104 e *S. enteritidis* PT4).
L'attuazione pratica della lisotipia applicata alla diagnostica richiede tuttavia un laboratorio specializzato, che lavori esclusivamente su questo settore in maniera continuativa. Per questa ragione è preferibile che il batteriologo, operante in un laboratorio medico o veterinario di normali dimensioni, si rivolga per il riconoscimento dei fagotipi di *Salmonella* ad un Centro di Referenza per gli Enterobatteri.
Esiste tuttavia qualche applicazione inerente i fagi che può essere presa in considerazione per la normale *routine.* Si tratta del batteriofago polivalente anti-*Salmonella* denominato O1, in grado di sostituire, con qualche vantaggio temporale, la tradizionale agglutinazione rapida con i sieri poliagglutinanti.
La storia di questo batteriofago è interessante, essendo iniziata negli USA con gli studi di Cherry, Davis, Edwards e Hogan (1954), per poi proseguire in Svezia con Thal e Kallings (1955) e concludersi in Svizzera con Fey (1966).

Con queste premesse, si è ritenuto opportuno, per motivi di fattibilità, limitare la trattazione dell'argomento "lisotipia" solamente all'uso del batteriofago polivalente O1.
Di conseguenza, questo fago viene preso come esempio illustrativo dei metodi che, con opportune variazioni, servono in generale alla tipizzazione fagica delle salmonelle.

Propagazione del batteriofago
Si coltiva un ceppo di *S. paratyphi B* (fagotipo 1) su BHI Agar. La patina, raccolta con soluzione fisiologica sterile, viene seminata in Trypticase Soy Broth (TSB). Dopo incubazione a +37 °C per 6 ore, si aggiunge il batteriofago O1 (10 ml su un litro di brodocoltura) e si continua l'incubazione per altre 18 ore. La brodocoltura viene poi centrifugata a 4000 rpm per 30 minuti ed il soprastante filtrato attraverso Seitz EKS1.

Conservazione del batteriofago
La sospensione contenente il batteriofago O1 può essere conservata per almeno 6 mesi in frigorifero a +4 °C, oppure in congelatore a -20 °C, dopo aggiunta dell' 1% di cloroformio.

Titolazione del batteriofago
Si effettua la titolazione di un batteriofago per stabilire la sua diluizione ottimale da usare nella *routine* (*Routine Test Dilution, RTD*).
Dalla sospensione prodotta si allestiscono in TSB le diluizioni decimali (ml 1 + 9) da 10^{-1} a 10^{-12}. Da ciascuna diluizione si seminano con 1 ml due piastre Petri sterili vuote, nelle quali vengono poi introdotti ml 0,1 di brodocoltura di 24 ore in TSB della *S. paratyphi B* e 15 ml di Nutrient Agar, autoclavato e raffreddato a circa +45 °C. Si mescola il contenuto delle piastre e si lascia solidificare a temperatura ambiente per circa mezz'ora. Dopo incubazione delle piastre capovolte a +37 °C per 24 ore, si scelgono le due piastre che mostrano un numero di "placche di lisi" conteggiabile. Per "placca di lisi" si intende una piccola area circolare trasparente, in cui è assente la crescita batterica.
La media del numero di placche di lisi osservato sulle due piastre, moltiplicata per il reciproco della corrispondente diluizione, rappresenta il titolo per ml della sospensione originale del batteriofago.

Determinazione della RTD del batteriofago
Il batteriofago O1 raggiunge titoli di 10^{10} - 10^{11} per ml di sospensione. Nella *routine* viene consigliata una diluizione del batteriofago inferiore di due logaritmi rispetto al titolo. Pertanto l'esperienza degli Autori suggerisce di diluire in TSB la sospensione originale fino a 10^{-8} o 10^{-10}.

Impiego diagnostico del batteriofago

I ceppi di sospetta *Salmonella* da saggiare vengono seminati in 1 ml di TSB ed incubati a +37 °C per 2-3 ore. Da ciascuna provetta un'ansata di brodocoltura viene strisciata su un settore di piastra Petri contenente un terreno non selettivo (come il Kligler Iron Agar) oppure selettivo (come l'Hektoen Enteric Agar), in modo da coprire una striscia di circa 2×1 cm. Si lasciano asciugare gli strisci a temperatura ambiente per circa mezz'ora e quindi si depone al centro di ciascuno di essi un' ansata di batteriofago preventivamente diluito alla RTD.

Non appena le piastre si presentano asciutte, è possibile capovolgerle ed incubarle a +37 °C per 5-6 ore, eventualmente per una notte.

In caso di esito positivo (cioè di lisi), si osserva, in corrispondenza dell'ansata di batteriofago O1 deposta, una piccola area circolare trasparente in cui manca la patina batterica.

Qualsiasi modificazione subita dalla patina batterica dei ceppi in esame va interpretata come lisi. Reazioni incomplete sono state segnalate da Stellmacher ed altri Autori in presenza di ceppi di *Salmonella* del gruppo E di Kauffmann (*S. litchfield, new brunswich, newington, adelaide, monschaui, berge, niarembe, milwaukee*).

In questi casi dubbi è consigliabile verificare l'agglutinabilità della patina batterica adiacente la zona, in qualche modo modificata, con un siero polivalente, mediante un *test* rapido su vetrino.

Riferimenti bibliografici

BUCHMEISER R. e Coll., Untersuchungen uber die spezifitat des polyvalenten *Salmonella* - Phagen O-1, Mon. Tierheilk., 1963, 15, 324

BULLING E., Die Bakteriophagen-Differenzierung von *Salmonella typhimurium*, Berl. Munch. Tierarztl. Woch., 1960, 4, 69

CASTRO D. e Coll., Development and application of a new scheme of phages for typing and differentiating *Salmonella* strains from different sources, J. Clin. Micr., 1992, 30, 1418

CHERRY W.B. e Coll., A simple procedure for the identification of the genus *Salmonella* by means of a specific bacteriophage, J. Lab. Clin. Med., 1954, 44, 51

ESCHMANN K.H., Die Schaffung von Referenzmethoden und die Erstellung mikrobiologischer Beuerteilungsnormen fur das schweizerisce Lebensmittelbuch, Arch. Lebens., 1968, 19, 4

FEY H., Erfahrungen mit den polyvalenten *Salmonella* - Phag O-1, Rontgen Lab. Praxis, 1961, 14, 154

FEY H., *Salmonella* - lysotipie, ein epidemiologisches Instrument, Schweitz. Archiv, 1966, 108, 657

KATOULI M. e Coll., Variations in biochemical phenotypes and phage - types of *Salmonella enteritidis* in Germany 1980 - 1992, Epidemiol. Infect., 1993, 111, 199

KUNTER E. e Coll., Die Verwendung des O-1 Phagentestes in der *Salmonella* - Diagnostik, Arch. Exp. Vet. Med., 1961, 15, 1012

MEYNELL E., The significance of bacteriophage in bacterial classification. A review, J. gen. Micr., 1964, 36, 461

NICOLLE P., Valore e utilità dei metodi di lisotipia in certe salmonellosi umane d'origine alimentare, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 678

PICKETT M., Screening for *Salmonella* with a bacteriophage, Am. J. Clin. Path., 1960, 33, 298
SEIDEL G., Uber die Spezifizitat des O-Phagentestes fur die *Salmonella* - Diagnostik, Arch. Lebans., 1956, 7, 265
SIMONELLA P. e Coll., Identificazione delle salmonelle mediante un batteriofago, Vet. It., 1956, 7, 1051
STELLMACHER W., Zur Diagnostik von Salmonellabakterien, Mon. Vet. Med., 1957, , 12, 349
STELLMACHER W., Der O-1 Phage in der *Salmonella* - Diagnostik, Mon. Vet. Med., 1958, 13, 358
THAL E. e Coll., Zur Bestimmung des genus *Salmonella* mit Hilfe eines Bakteriophagen, Nord. Vet. Med., 1955, 7, 1063
VAN LEEUWEN W.J. e Coll., Frequency distribution of *S. typhimurium* phage types in variuos countries, Zbl. Bakt. I Abt. Orig. A, 1975, 230, 320

10. ANALISI DEL PROFILO PLASMIDICO E PCR

Biologia molecolare e profili plasmidici

I plasmidi sono particelle presenti nel citoplasma di numerosi batteri. Contengono materiale ereditario extracromosomico che durante la coniugazione può essere trasferito ad altri individui. Vengono in questo modo trasmesse proprietà specifiche del microrganismo donatore, ad esempio l'antibiotico-resistenza o la produzione di tossine.
L'analisi dei plasmidi consente di mettere in evidenza eventuali relazioni genetiche esistenti fra salmonelle.
Il profilo plasmidico di un germe può essere usato come *marker* epidemiologico, ad esempio nello studio delle relazioni fra due ceppi, sierologicamente uguali, isolati in una tossinfezione, oppure per distinguere i ceppi epidemici da quelli che non lo sono.
La metodica è stata applicata con successo per studiare le analogie fra ceppi di *S. enteritidis* e di *S. typhimurium.* Presenta l'inconveniente di dipendere da elementi mutevoli nel tempo, in quanto i plasmidi si lasciano influenzare dalle condizioni ambientali.
La tecnica consiste nell'estrazione del DNA plasmidico dal germe, seguita da elettroforesi. Nella lettura del percorso elettroforetico viene definita la dimensione di ogni plasmide visualizzato, espressa in kilobasi, mediante confronto con plasmidi *standard* di grandezza nota.
Due ceppi vengono ritenuti identici quando mostrano una sequenza di plasmidi di uguali dimensioni.
Un metodo d'analisi valido per le salmonelle è quello di Kado e *Coll*. modificato (Mioni, 2001):

TECNICA PER LA DETERMINAZIONE DEL PROFILO PLASMIDICO NELLE SALMONELLE

1 - Trasferire una singola colonia batterica in 2 ml di Luria Broth e incubare a +37 °C per una notte.
2 - Trasferire 1,5 ml di brodocoltura in una microprovetta e centrifugare a 14000 rpm per 5 minuti a temperatura ambiente.
3 - Rimuovere il sedimento per aspirazione e risospendere il *pellet* batterico in 20 mcl di EDTA 0 mM a pH 8.
4 - Aggiungere 100 mcl di soluzione di lisi preparata al momento.
5 - Incubare per 27 minuti a +58 °C in bagnomaria.
6 - Aggiungere 100 mcl di fenolo/cloroformio ed agitare delicatamente fino a che la soluzione assume una colorazione biancastra. Lasciare decantare alcuni minuti.
7 - Centrifugare a 14000 rpm per 30 minuti a 20 °C.
8 - Rimuovere il surnatante ed aggiungervi Sample Buffer nel rapporto 1 : 10 (1 mcl di buffer ogni 10 di campione) e conservare a -20 °C.

9 - Caricare 25 mcl della preparazione di DNA così ottenuta su *gel* di agarosio allo 0,8%.
10 - Effettuare una pre-corsa elettroforetica di 15 minuti a 50 V, seguita da una corsa di 2 ore a 100 V.
11 - Colorare il gel per un'ora con soluzione di bromuro di etidio (1 mcg/ml).
12 - Osservare con *trans*-illuminatore a UV. Fotografare con pellicola Polaroid.

Soluzione di lisi (in acqua bidistillata)
3% SDS (sodium dodecyl sulphate)
50 mM Tris (tris-hydroxymethil-aminomethane)
0,075 N NaOH

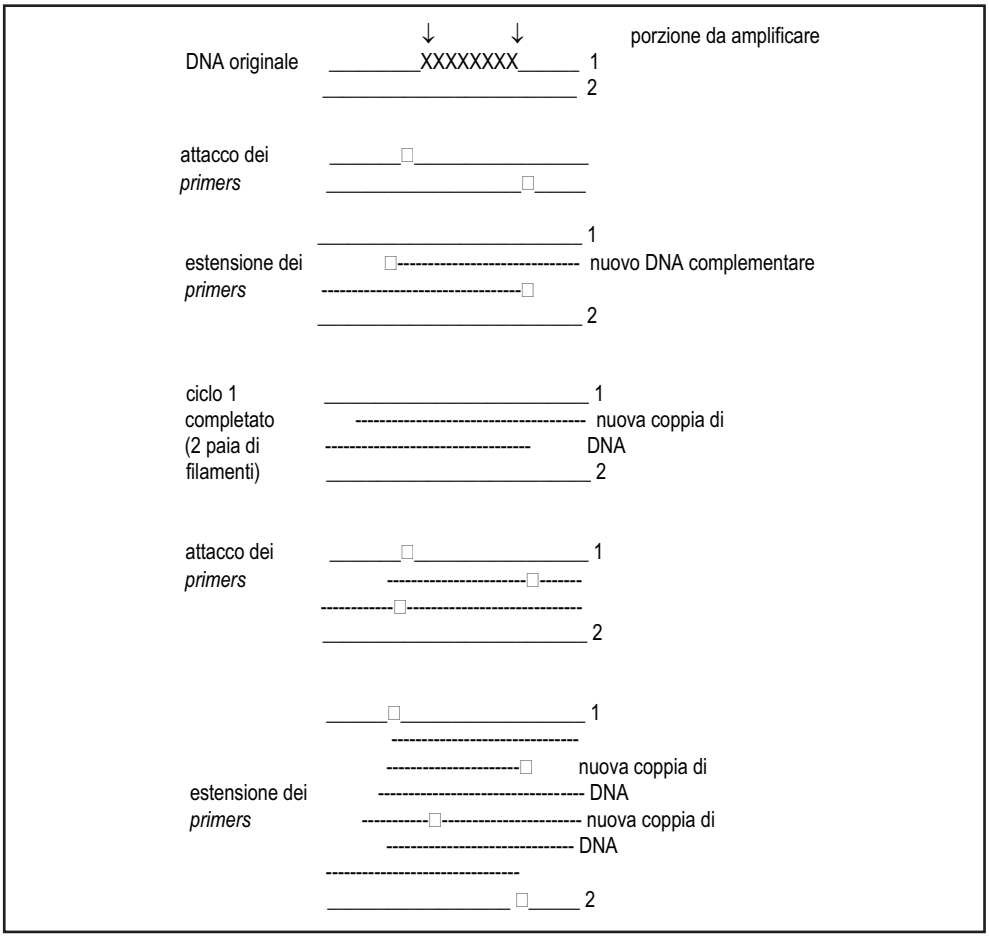
DNA sample buffer (in acqua bidistillata)
15% Ficoll
5% Blu di bromofenolo

Electroforesis buffer (10x per 1 litro)
109,0 g Tris
55,6 g Boric acid
9,3 g EDTA

Polymerase Chain Reaction (PCR)

E' una tecnica che può essere usata per trovare infinitesimali quantità di un agente infettivo presente in un campione, aumentando la quantità di una specifica sequenza nucleotidica contenuta nel microrganismo, attraverso un processo di sintesi diretta del DNA.
I metodi diagnostici basati sul ***riconoscimento del DNA*** si rifanno al principio essenziale della formazione di una molecola di acido nucleico a doppio avvolgimento, partendo da due molecole complementari a semplice avvolgimento, attraverso un procedimento di laboratorio chiamato "ibridizzazione del DNA".
La tecnica passa attraverso tre successive fasi:

1. Estrazione del DNA dai batteri dopo pre-arricchimento tradizionale a +37 °C per 6 ore.
2. Amplificazione della sequenza di una coppia di geni (selezionati perchè caratteristici) mediante aggiunta di appropriati oligonucleotidi (*primers*).
3. Ibridizzazione dei prodotti amplificati con oligonucleotidi (*probes*) coniugati con un enzima capace di far colorare un substrato.



La novità della PCR sta nella fase 2, dove intervengono i *primers*, corti segmenti di DNA complementari alle terminazioni 5' e 3' della sequenza da amplificare e dove l'estensione dei *primers* ad opera della DNA polimerasi produce due filamenti di DNA che sono copie identiche del filamento originale. Ad ogni ciclo, il numero di copie del DNA aumenta di 2^n, dove n è il numero dei cicli. Quindi dopo 30 cicli si ottiene un'amplificazione del segmento specifico del DNA di circa 10^6 volte, consentendo di visualizzare alcune sequenze di nucleotidi capaci di dare informazioni utili per individuare un genere o una specie batterica.
E' possibile evidenziare le salmonelle già da una brodocoltura del campione in pre-arricchimento, oppure da un ceppo già isolato. Sfortunatamente questa tecnica non distingue le cellule batteriche morte da quelle vive.

Una metodica valida per la diagnosi di salmonella è quella proposta di Rahn e *Coll.* modificata (Mioni, 2001).

PCR - TECNICA PER LA RICERCA DELLE SALMONELLE DA PRE-ARRICCHIMENTO

Preparazione dei campioni da sottoporre a PCR

1. Inoculare il campione in acqua peptonata in rapporto di 1 : 10 e incubare a +37 °C per 18-24 ore (pre-arricchimento).
2. Centrifugare 1,5 ml di brodocoltura a 14000 rpm per 5 minuti.
3. Eliminare il surnatante e risospendere il *pellet* in acqua bidistillata sterile.
4. Bollire per 10-15 minuti.
5. Centrifugare a 14000 rpm per 2 minuti.
6. Prelevare il surnatante (contenente DNA) e conservare a -20 °C.

Gli inneschi oligonucleotidici della reazione di amplificazione (*primers inv*A1 e *inv*A2) sono stati scelti interni al gene *inv*A di *Salmonella typhimurium*, rispettivamente in posizione 287-312 e 571-550. generano un prodotto di amplificazione di 284 bp e presentano la seguente sequenza nucleotidica:

*inv*A1 = 5' - GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA - 3'
*inv*A2 = 5' - TCATCGCACCGTCAAAGGAAACC - 3'

5 mcl di DNA vengono aggiunti alla miscela di reazione contenente 50 mM KCl, 10 mm Tris-HCl (pH 8,3), 100 microM di ciascun nucleotide (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), 0,075 microM di ciascun *primer*, 0,625 unità di Amplitaq polymerasi, 1,25 mM $MgCl_2$

La reazione di amplificazione viene realizzata in un DNA Thermal Cycler secondo le seguenti modalità:
una pre-denaturazione di 94 °C per 2 minuti, seguita da 35 cicli di amplificazione (ciascuno dei quali caratterizzato da una denaturazione di 1 minuto a 94 °C, una fase di *primer annealing* di 1 minuto e 30 secondi a 60 °C, un'estensione di 1 minuto e 40 secondi a 72 °C) seguiti da una fase di *post*-estensione di 7 minuti a 72 °C.

Elettroforesi e visualizzazione dell'amplificato

10 mcl dell'amplificato così ottenuto vengono caricati su gel di agarosio al 2% e fatti migrare per 1 ora a 100 V.
Seguono la colorazione del gel per 20 minuti in una soluzione di bromuro di etidio (1 mcg/ml) e la successiva visualizzazione su trans-illuminatore a UV.

Riferimenti bibliografici

BALOWS A. e Coll., Manual of Clinical Microbiology, ASM, Washington, USA, 1991
CANO R.J. e Coll., Fluorescent detection - Polymerase Chain Reaction (FD - PCR) assay on microwell plates as a screening test for Salmonellas in foods, J. appl. Bact., 1993, 75, 247
DOM C.R. e Coll., Plasmid analysis and epidemiology of *Salmonella enteritidis* infection in three commercial layer flocks, Avian Dis., 1992, 36, 844
FACH P. e Coll., Evaluation of a Polymerase Chain Reaction - based test for detecting *Salmonella* spp. in food samples : Probelia *Salmonella* spp., J. Food Protect., 1999, 62, 1387
GOUWS P.A. e Coll., A Polymerase Chain Reaction for the Detection of *Salmonella* spp. within 24 hours, J. Food Protect., 1998,61, 1039
HILL W. e Coll., Identification of foodborne pathogens by nucleic acid hybridization, Int. J. Food Micr., 1991, 12, 67
MAYER L.W., Use of plasmid profiles in epidemiologic surveillance of disease outbreaks and in tracing the transmission of antibiotic resistance, Clin. Microbiol. Rev., 1988, 1, 228
MIONI R. e Coll., Metodiche innovative per la tipizzazione delle salmonelle, Vet. It., 1996, 32, 19
MIONI R. (2001, *Com. pers.*), Analisi del profilo plasmidico. Modifica della metodica descritta in: Kado C.I. e Coll., Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, J. Bacteriol., 1981, 145, 1365
MIONI R. (2001, *Com. pers.*), PCR per rilevazione delle salmonelle in campioni di acqua peptonata. Modifica della metodica descritta in: Rahn K. e Coll., Amplification of an invA gene sequence of *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction as a specific method of detection of *Salmonella*, Molecular and Cellular Probes, 1992, 6, 271
NASTASI A., Detection of *Salmonella* spp. in food by a rapid PCR - Hybridization procedure, Microbiologica, 1999, 22, 195ù
SALL B.S. e Coll., Performance of a DNA Probe-based *Salmonella* Test in the AACC Check Sample Program, J. Food Protect., 1988, 51, 579

11. PROVE DI SENSIBILITA' AI FARMACI

PREMESSA

I farmaci antibatterici si dividono in antibiotici (di origine biologica) e chemioterapici (di sintesi).
La scelta di uno piuttosto che di un altro principio attivo dipende, nella pratica medica, dal tipo di batteri in causa, dalle possibilità di somministrazione, dalla distribuzione specifica negli organi, dagli effetti collaterali indesiderati, dalla tossicità.
L'antibiogramma è un *test* di laboratorio in cui una serie di sostanze antibatteriche viene messa a contatto con il microrganismo ritenuto causa dell'infezione.
Non è un criterio di scelta per una terapia, in quanto la risposta *in vitro* non coincide necessariamente con quella nell'individuo.
Inoltre la scelta degli antibiotici da somministrare non deve dipendere dall' antibiogramma, ma dalle valutazioni del clinico in relazione alle condizioni dell'ammalato.
Poichè gli antibiotici vengono somministrati prima di avere il risultato dell' antibiogramma, quest'ultimo serve ad orientare il medico o il veterinario circa la sospensione del farmaco che *in vitro* non ha effetto.

Le prove di sensibilità ai farmaci non rientrano nella tipizzazione delle salmonelle. Tuttavia, essendo il comportamento verso determinate sostanze antibatteriche un possibile corredo di notizie atte a caratterizzare meglio un ceppo, si è ritenuto di fare cosa utile riportando qui, brevemente riassunte, due metodiche ben conosciute dai laboratoristi: l'antibiogramma standardizzato secondo Kirby-Bauer e la determinazione della concentrazione minima inibente (MIC) in piastra. Seguono alcuni dati statistici riportati come esemplificazione di nozioni generali sul fenomeno dell'antibiotico-resistenza, con particolare riguardo alle salmonelle.

11.1 ANTIBIOGRAMMA SECONDO KIRBY-BAUER

In sintesi, il metodo di Kirby-Bauer consiste nell'inoculare una brodocoltura del germe in esame (opportunamente diluita fino a una certa densità) sulla superficie del Mueller-Hinton Agar (un terreno in piastra con determinato spessore dell'agar), sovrapponendo poi dei dischetti di carta impregnati con concentrazioni *standard* di antibiotici.
Dopo incubazione in termostato, vengono misurati i diametri delle zone di inibizione alla crescita che si producono attorno ai dischetti.
Dal confronto dei diametri misurati in millimetri (mm) con una scala di lettura, si definisce il microrganismo sensibile (S), intermedio (I), resistente (R). È stato dimostrato da Kirby-Bauer che i diametri di inibizione sono inversamente proporzionali alla concentrazione minima inibente (MIC) degli antibiotici.

Per allestire l'antibiogramma secondo Kirby-Bauer occorre:

- una brodocoltura di *Salmonella* in brodo BHI (4 ml) già sviluppata
- una provetta-nefelometro per antibiogramma
- due provette sterili 16×160 mm per controllo di torbidità
- una provetta con 10 ml di brodo BHI
- una piastra di Mueller-Hinton Agar
- un tampone sterile
- dischetti di antibiotici
- una pinza sterile
- Pipette da 1 ml
- Righello millimetrato

La metodica è la seguente:

1. Partendo da una coltura pura (controllata con il Gram) seminare una provetta con 4 ml di brodo BHI.
2. Incubare a +37°C fino ad intorbidamento percettibile (da alcune ore fino ad una notte).
3. Confrontare la torbidità con un nefelometro preparato aggiungendo 0,5 ml di soluzione all'1% di $BaCl_2 . 2 H_2O$ a 99,5 ml di acido solforico all'1%, usando provette dello stesso diametro.
4. Diluire di conseguenza la brodocoltura con brodo BHI.
5. Agitare per mescolare e seminare una piastra di Mueller-Hinton agar su tutta la superficie, usando un tampone sterile. Lo spessore del terreno nella piastra deve essere di 4 mm.
6. Far asciugare l'inoculo tenendo la piastra a temperatura ambiente per 30 minuti circa.
7. Deporre i dischetti degli antibiotici facendoli aderire al terreno con una pinza sterile, disponendoli in cerchio, a circa 2 cm dal bordo della piastra.
8. Incubare la piastra, senza capovolgerla, a +37°C per 18÷24 ore. La lettura è possibile già dopo 6÷8 ore in caso d'urgenza.
9. Misurare e annotare il diametro in mm della zona chiara d'inibizione attorno ai dischetti. Nel caso dei sulfamidici (dove si forma un doppio alone) si misura l'alone esterno.
10. Confrontare i risultati con la tabella di Kirby-Bauer ed esprimere il risultato come sensibile, intermedio, resistente (S,I,R) accanto al nome e alla concentrazione dell'antibiotico (espressa in mcg, mg, U.I.).

NOTA

Il controllo di qualità del metodo va allestito periodicamente provando alcuni degli antibiotici tra quelli più frequentemente usati verso almeno due ceppi batterici di riferimento (come *S. aureus ATCC 25923* ed *E. coli ATCC 25922).*
Il diametro delle zone d'inibizione con questi ceppi di referenza non deve discostarsi più di 2 mm (per penicillina e ampicillina 3 mm) dal diametro riportato sulla tabella di Kirby-Bauer.

ESEMPIO DI CONTROLLO DI QUALITÀ

Antibiotico	S. aureus ATCC 25923	E. coli ATCC 25922
Streptomicina	14÷22	12÷20
Tetraciclina	19÷28	18÷25

11. 2 DETERMINAZIONE DELLA CONCENTRAZIONE MINIMA INIBENTE (MIC) SU PIASTRA

Esiste la possibilità di stabilire, per un dato farmaco, la quantità minima capace di inibire *in vitro* il microrganismo patogeno contro il quale è destinato. Questa alternativa è preferibile all'antibiogramma, in quanto consente di minimizzare il dosaggio del principio attivo al livello indispensabile per mantenere l'efficacia, riducendo di conseguenza gli effetti indesiderabili (tossicità e induzione della resistenza).
Il metodo classico per stabilire la concentrazione minima inibente (MIC) prevede di saggiare una brodocoltura batterica contro diluizioni in provetta del farmaco.
Attualmente si possono miniaturizzare le diluizione in piastra "*microtiter*". Nei pozzetti di ogni colonna si dispongono diluizioni scalari in base 2 degli antibiotici da provare.
Introducendo la brodocoltura del germe in esame opportunamente dosata nei pozzetti, si diluisce ulteriormente il principio attivo e dopo incubazione si legge lo sviluppo batterico dalla torbidità del mezzo.
Si prende in considerazione la diluizione più alta di antibiotico che denuncia, dalla trasparenza del pozzetto, assenza di crescita batterica. Questa diluizione (espressa in microgrammi di farmaco per millilitro, mcg/ml) corrisponde alla concentrazione minima inibente (MIC) di quell'antibiotico.

Per allestire una determinazione di concentrazione minima inibente su piastra occorre:

- una brodocoltura di *Salmonella* in 5 ml di Brodo Mueller-Hinton
- tre provettoni sterili vuoti
- 100 ml di Brodo Mueller-Hinton
- una piastra *microtiter* sterile a 96 pozzetti con fondo a U e relativo coperchio sterile
- una micropipetta da 50 mcl
- puntali sterili per micropipetta
- pipette graduate sterili da 1 e da 10 ml

La metodica è la seguente:

1. Il ceppo da esaminare viene seminato in una provetta con 5 ml di Brodo Mueller-Hinton.
2. La brodocoltura, incubata a +37 °C per 24 ore, viene diluita 1:10000 con Brodo Mueller-Hinton (ml 1+9), in modo da avere una concentrazione finale di circa 10^5 germi per ml.
3. Nelle colonne di una piastra *microtiter* vengono dispensate le diluizioni al raddoppio, opportunamente prestabilite e allestite in brodo Mueller-Hinton, degli antibiotici selezionati da provare, in ragione di 50 microlitri per pozzetto. Nei

pozzetti dell'ultima colonna si mettono 50 microlitri di diluente (vedi schema sotto riportato ad esempio).

4. La brodocoltura diluita viene introdotta in tutti i pozzetti della piastra a 50 microlitri.
5. La piastra, chiusa col proprio coperchio, viene incubata a +37 °C per 18 ore.
6. La lettura viene fatta osservando la piastra per trasparenza. L'ultima colonna (controllo negativo) apparirà torbida. Analizzando le altre colonne, si vedranno, partendo dal basso, i primi pozzetti torbidi (= sviluppo batterico) e quelli nella parte superiore limpidi (= assenza di crescita). La MIC, per ogni antibiotico, corrisponde al primo pozzetto limpido che si incontra leggendo dal basso verso l'alto la rispettiva colonna. Si possono presentare alcuni casi particolari:
   - nessun pozzetto limpido = MIC > della più alta fra le concentrazioni provate (si deve riprovare cambiando il *range* delle diluizioni dell'antibiotico).
   - tutti i pozzetti limpidi = MIC < della più bassa fra le concentrazioni provate (si deve riprovare cambiando il *range* delle diluizioni dell'antibiotico).
   - non si vede nettamente il *break-point*, cioè il passaggio tra pozzetti con sviluppo batterico e pozzetti sterili, avendo alcuni di essi un aspetto sfumato. Si prende come MIC il primo pozzetto completamente trasparente.
   - alternanza di pozzetti torbidi e limpidi = inquinamento (il *test* è da ripetere).

SCHEMA ESEMPLIFICATIVO DI UNA PIASTRA *MICROTITER* NELLA QUALE SONO STATE ALLESTITE LE DILUIZIONI DI ALCUNI ANTIBIOTICI (CONCENTRAZIONI ESPRESSE IN MCG/ML) ED E' STATO SEMINATO UN CEPPO DI *SALMONELLA* (FASE DI LETTURA E DI INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI).

	Colonna 1	Colonna 2	Colonna 3	Colonna 4 Diluente + ceppo
A	64	32	64	-
B	32	16	32	-
C	16	8	16	-
D	8	4	8	-
E	4 ↖	2	4	-
F	2	1	2	-
G	1	0,5	1	-
H	0,5	0,25	0,5	-
	amoxicillina	ampicillina	cefotaxime	controllo negativo

LETTURA

La concentrazione minima inibente (MIC) dell'amoxicillina sarà, ad esempio, di 4 mcg/ml se nella colonna 1 il primo pozzetto senza sviluppo batterico, apprezzabile ad occhio nudo, è quello indicato dalla freccia.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il giudizio di sensibilità o di resistenza verso un antibiotico si desume confrontando il valo-

re di MIC letta con apposite tabelle. In pratica, nell'esempio, un ceppo si considera resistente quando cresce anche nei pozzetti compresi nella fascia di concentrazioni superiore (non tratteggiata, indicata come fascia di resistenza).

FASCIA DI SENSIBILITA'
FASCIA INTERMEDIA
FASCIA DI RESISTENZA

11.3 ALCUNI DATI STATISTICI SULLE RELAZIONI FRA CEPPI DI *SALMONELLA* E ANTIBIOTICI

Per tutti i ceppi di *Salmonella* i farmaci considerati attualmente di prima scelta, in quanto più attivi, sono: amoxicillina, ampicillina, cefoperazone, cefotaxime, ceftriaxone, ciprofloxacina, trimethoprim-sulfametossazolo.
Per la *S. typhi* è da prendere in considerazione anche il cloramfenicolo.
I ceppi resistenti alla tobramicina sono resistenti anche alla netilmicina. Così pure i ceppi che mostrano resistenza verso amikacina non sono sensibili a nessun altro aminoglicoside. Inoltre, se un ceppo mostra resistenza verso ciprofloxacina o afloxacina oppure sparfloxacina, esso risulta insensibile verso tutti i chinoloni.
Almeno *in vitro*, i ceppi che sono sensibili a tetraciclina mantengono questa caratteristica anche verso gli altri membri della famiglia (clortetra-, ossitetra-, doxi- e minociclina).
A titolo indicativo, il risultato che, sempre *in vitro*, orienta verso un giudizio di sensibilità verso gli antibiotici di prima scelta è il seguente (Tabella 14):

Tabella 14 - Parametri utili per il giudizio di sensibilità dei ceppi *Salmonella* verso alcuni antibiotici attualmente ritenuta di prima scelta

SOSTANZA	MIC (mcg/ml)	DIAMETRO D'INIBIZIONE (mm)
Cloramfenicolo	<8	>18
Amoxicillina	<8	>17
Ampicillina	<8	>17
Cefoperazone	<16	>21
Cefotaxime	<8	>23
Ceftriaxone	<8	>21
Ciprofloxacina	<1	>21
Trimethoprim-sulfametossazolo	<2/38	>16

Il fenomeno della resistenza è presente, come in tutte le *Enterobacteriaceae*, anche nelle salmonelle, con percentuali ritenute piuttosto consistenti dalle segnalazioni di parecchi Autori. Soprattutto i ceppi di provenienza non umana (cioè da animali, alimenti, ambiente) dimostrano scarsa sensibilità verso farmaci di grande diffusione.

Di questa realtà si attribuisce la colpa all'uso massiccio di antibiotici a scopo auxinico in zootecnia. Un esempio è dato da questa ricerca (tabella 15):

Tabella 15 - Ceppi *Salmonella* di provenienza non umana resistenti a 10 antibiotici (Pontello *e Coll.*, 1982)

GRADUATORIA	ANTIBIOTICO	% DI CEPPI RESISTENTI (su un totale di 184)
1	tetraciclina	60
2	streptomicina	52
3	colistina	42
4	sulfamidico	28
5	nitrofurantoina	22
6	kanamicina	16
7	cloramfenicolo	15
8	carbenicillina	9
9	ampicillina	8,6
10	acido nalidixico	6,5

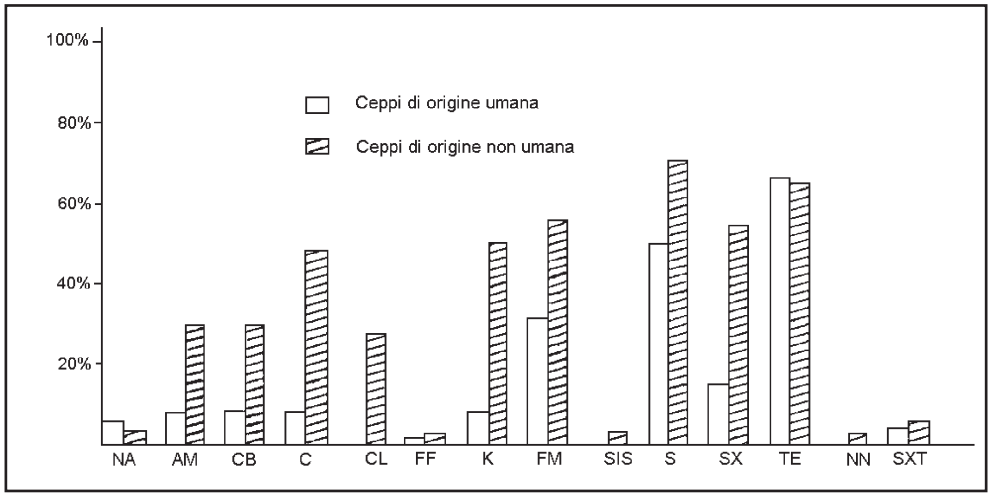
Certamente i rapporti di resistenza fra salmonelle ed antibiotici si instaurano negli animali e nell'uomo principalmente *dopo l'uso prolungato* di alcune sostanze ad azione antibatterica. Lo studio del fenomeno è molto interessante, ma poiché gli antibiotici usati in campo veterinario non sono generalmente gli stessi impiegati in medicina umana, la resistenza deve essere valutata *separatamente* per ceppi isolati dall'uomo, da animali e da alimenti. Difatti la ricerca di relazioni nella resistenza fra salmonelle provenienti da fonti d'isolamento differenti il più delle volte non dà gli esiti sperati. L'esempio riportato nella tabella 16 serve a chiarire meglio questa circostanza:

Tabella 16 - Confronto fra ceppi di *S. typhimurium* antibiotico-resistenti isolati da animali e dall'uomo (Bisicchia *e Coll.,* 1979)

antibiotico	% di ceppi resistenti isolati da animali	% di ceppi resistenti isolati da uomo
TETRACICLINA	70	35
CLORAMFENICOLO	33	6
RIFAMPICINA	7	25
CEFALORIDINA	7	75

Ad analoghe conclusioni sono giunti anche altri Autori, che hanno operato sempre sulla *S. typhimurium* con una gamma più ampia di antibiotici (tabella 17):

Tabella 17 - Confronto sulla resistenza verso 14 antibiotici di *S. typhimurium* isolate dall'uomo e da fonti non umane (Pontello *e Coll.,*1982)



LEGENDA

NA	acido nalidixico	AM	ampicillina	CB	carbenicillina	C	cloramfenicolo
CL	colimicina	FF	fosfomicina	K	kanamicina	FM	nitrofurantoina
SIS	sisomicina	S	streptomicina	SX	sulfamidico	TE	tetraciclina
NN	tobramicina	SXT	co-trimoxazolo				

Negli anni '90 sono stati isolati con crescente frequenza in Europa e Stati Uniti ceppi di *Salmonella typhimurium* appartenenti a definiti fago-tipi (DT), tra cui DT 29, DT 204, DT 193, DT 204c e DT 104. In breve DT 104 è divenuto in Gran Bretagna il sierotipo di *Salmonella* al primo posto per frequenza in bovini, pecore, suini e al secondo nei polli e nell'uomo, dopo *S. enteritidis* PT4.
DT 104, spesso responsabile di tossinfezioni alimentari, era caratterizzato da resistenza verso ampicillina, cloramfenicolo, streptomicina, sulfamidici e tetraciclina (penta-resistenza).
Successivamente la multi-resistenza si è estesa ad acido nalidixico (chinolone) e ciprofloxacina (fluorchinolone), con una prevalenza progressivamente aumentata dall' 1% dei ceppi del 1994 al 16% del 1998. Come già anticipato nell'introduzione, il fenomeno sarebbe legato ad una mutazione genetica indotta probabilmente dall'avvento dell'enrofloxacina (fluorchinolone) nei mangimi medicati usati in zootecnia.
Si registra in Gran Bretagna anche la comparsa di ceppi di *Salmonella hadar* e *Salmonella virchow* multi-resistenti verso ampicillina, cloramfenicolo, gentamicina, kanamicina, streptomicina, sulfamidici, tetraciclina, trimethoprim.

L'area geografica di provenienza delle salmonelle certamente influisce sulle percentuali di resistenza trovate. I dati raccolti in differenti paesi (in periodi ravvicinati) da alcuni Autori testimoniano questa affermazione (tabella 18):

Tabella 18 - Differenti percentuali di resistenza in salmonelle isolate da animali in vari paesi (Zavanella *e Coll.*, 1973)

AUTORE	*ANNO*	*PAESE*	*ANTIBIOTICI E RELATIVE PERCENTUALI DI RESISTENZA*			
			AMPICILLINA	CLORAM-FENICOLO	STREPTO-MICINA	TETRA-CICLINA
POHL *e Coll.*	1970	Francia			84	78
VOOGD *e Coll.*	1970	Olanda	2	0,2		11
POCURULL *e Coll.*	1971	USA	69	77	96	
SOJKA *e Coll.*	1972	Inghilterra	1		13	3,5
ZAVANELLA *e Coll.*	1973	Italia		12	78	97

Un tentativo di ricerca su eventuali relazioni nell' antibiotico-resistenza fra ceppi isolati da mangimi verso ceppi isolati da animali e, ancora, fra salmonelle provenienti da alimenti verso salmonelle provenienti dall'uomo è presentato nella tabella 19. Da qui si vede che è stato possibile presentare un confronto accettabile solamente su tre sostanze (delle otto provate).
Questa limitazione conferma la difficoltà che si incontrano nel tracciare parallelismi tra ceppi provenienti da fonti diverse, seppure epidemiologicamente legate fra loro. Trovare delle dimostrazioni sull'insorgenza del fenomeno e sui meccanismi di trasmissione dell'antibiotico-resistenza è, in definitiva, piuttosto difficile.

Tabella 19 - Ricerca di relazioni nell'antibiotico-resistenza confrontando ceppi *Salmonella* isolati da mangimi verso ceppi isolati da animali, oppure ceppi da alimenti verso ceppi umani (Bisicchia *e Coll.*,1979; Zavanella *e Coll.*,1973)

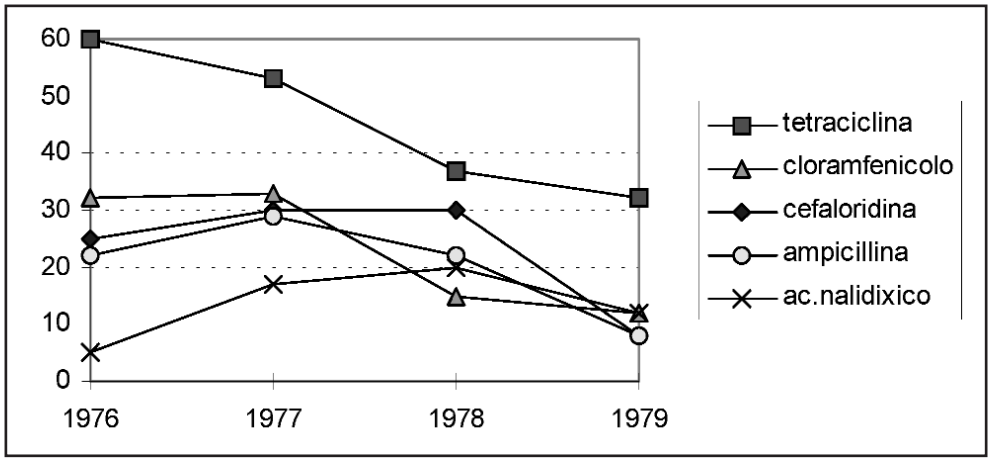
FONTI D'ISOLAMENTO : MANGIMI-ANIMALI			*FONTI D'ISOLAMENTO : ALIMENTI-UOMO*		
% DI CEPPI RESISTENTI			*% DI CEPPI RESISTENTI*		
	mangimi	animali		alimenti	uomo
tetraciclina	99	97	tetraciclina	48	37
streptomicina	78	41	ampicillina	3,8	11,9
neomicina	9	1	cefaloridina	15,3	22,1

Come è noto, la resistenza di una salmonella può essere verso uno o più antibiotici contemporaneamente. In questo caso si parla di *multiresistenza*. Ad esempio, nella statistica sopracitata il 21% dei ceppi provenienti da animali era resistente verso un solo antibiotico, il 52% verso due, il 20% verso tre, il 4% verso quattro.
Parimenti, dei ceppi provenienti da mangimi il 59% era resistente verso un solo antibiotico, il 39% verso due, l'1% verso tre.
Va inoltre precisato che il fenomeno della resistenza ha, nel corso degli anni, delle variazioni altalenanti, per cui una sostanza giudicata poco efficace può ritornare col tempo ad avere buone *performances.*

Un esempio è quello della tetraciclina, seguita da alcuni altri antibiotici, illustrato nella tabella 20:

Tabella 20 - Variazioni annuali nelle percentuali di resistenza fra ceppi *Salmonella* nei confronti di alcuni antibiotici (Zavanella *e Coll*., 1980)

Percentuali di ceppi Salmonella resistenti isolati negli anni indicati				
antibiotico	1976	1977	1978	1979
⬇ tetraciclina	60	53	37	32
cloramfenicolo	32	33	15	12
cefaloridina	25	30	30	8
ampicillina	22	29	22	8
acido nalidixico	5	17	20	12



Da un'analisi sulla resistenza osservata in sierotipi di *Salmonella* isolati da pazienti ricoverati per gastroenterite (su un totale di 111 ceppi) emerge il seguente quadro (Colombrita *e Coll*., 2001):
- antibiotici con moderate percentuali di resistenza (fra 1 e 10%): aztreonam, cloramfenicolo (1%); piperacillina/tazobact. (2%); cefmenoxime, metronidazolo (3%); gentamicina, tobramicina (4%); cefalotina, trimethoprim/sulfametoxazolo (8%); amoxicillina/clavulan (10%).
- antibiotici con notevoli percentuali di resistenza (oltre il 10%): ticarcillina/clavulan (13%); ampicillina (20%); mezlocillina (23%); piperacillina (24%); tetraciclina (30%).

Nella stessa indagine statistica sono risultati sempre efficaci: amoxicillina, ciprofloxacina, ceftazidime, ceftriaxone, cefotaxime, cefepime, imipenem, meropenem.

Riferimenti bibliografici

ABBATE G.F. e Coll., Salmonelle inconsuete : profilo epidemiologico e fisionomia dell'antibiotico-resistenza, Nuovi Ann. Igiene Microbiol., 1976, 27, 219
BRIGGS C.E. e Coll., Molecular characterisation of the antibiotic resistance gene cluster of *Salmonella typhimurium* DT 104, Antimicr. Agents Chemoter., 1999, 43, 846
BULLING E. e Coll., Die Entwicklung der Antibiotikaresistenz von Salmonellabakterien tierischer Herkunft in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West), Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1973, 225, 245
CHIU C.H. e Coll., In vitro evaluation of intracellular activity of antibiotics against non-typhoid *Salmonella*, Int. J. Antimicrob. Agents, 1999, 12, 47
COLOMBRITA D. e Coll., Antibiotico-resistenza in salmonelle isolate da pazienti ricoverati con gastroenterite, Com. pers., 2001
DAVIES E.H. e Coll., Nalidixic acid resistance in salmonellae isolated from turkeys and other livestock in Great Britain, Vet. Rec., 1999, 144, 320
GIAMMANCO G., Fattori trasmissibili di resistenza agli antibiotici (fattori R) negli stipiti di *Salmonella* isolati nell'Italia Meridionale, Giorn. Mal. Infett. Parass., 1972, 24, 727
IMBERECHTS H. e Coll., Apparent loss of enrofloxacin resistance in bovine *Salmonella typhimurium* strains isolated in Belgium, 1991 to 1999, Vet. Rec., 2000, 147, 76
MANTEN A. e Coll., An eleven-year study of drug resistence in *Salmonella* in the Netherlands, Bull. Org. Mond. Sant., 1971,45, 85
MARRANZANO M. e Coll., Resistenza agli antibiotici e fattori di resistenza in stipiti di *Salmonella wien* isolati in Sicilia, Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1976, 55, 187
MOLBAK K. e Coll., An outbreak of multidrug resistant *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* DT 104, New Engl. J. Med., 1999, 341, 1420
MOYED H.S., Biochemical mechanisms of drug resistance, Ann. Rev. Micr., 1964, 18, 347
PIDDOCK L.J.V. e Coll., Quinolone resistance in *salmonella* : clinical experience, Lancet, 1990, 335, 1459
PIDDOCK L.J.V. e Coll., Role of mutation in the *gyrA* and *parC* genes of nalidixic acid resistant *Salmonella* serotypes isolated from animals in the United Kingdom, J. Antimicr. Chemother., 1998, 41, 635
PITZUS E. e Coll., Considerazioni sull'attività antibiotica (CMI) rilevata su 247 sierotipi di *Salmonella*, Boll. Ist. Sieroter. Mil., 1975, 54, 448
PONTELLO M. e Coll., Frequenze e chemio-antibiotico resistenze di sierotipi di *Salmonella* non umani, Giorn. Batt. Virol. Immunol., 1982, 75, 135
RAVIZZOLA G. e Coll., Basi microbiologiche della terapia antibiotica, Bayer, Milano, 2000
RIDLEY A. e Coll., Molecular epidemiology of antibiotic resistance genes in multiresistant epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104, Microb. Drug Resist., 1998, 4, 113
STEPHAN R. e Coll., Die Entwicklung der Antibiotikaresistenz von Salmonellabakterien tierischen Herkunft in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West), Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A, 1973, 225, 257
THRELFALL E.J. e Coll., Multiresistant *Salmonella typhimurium* DT 104 and *Salmonella* bacteraemia, Lancet, 1998, 352, 287
THRELFALL E.J. e Coll., The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria in the United Kingdom, Alliance for the prudent use of antibiotics Newsletter, 1999, 17, 1
THRELFALL E.J. e Coll., The emergence and spread of antibiotic resistance in food-borne bacteria, Int. J. Food Micr., 2000, 62, 1
VOOGD C.E. e Coll., Incidence of resistance to tetracycline, chloramphenicol and ampicillin among *Salmonella* species isolated in the Netherlands in 1965 and 1966, Antonie van Leeuwenhoek, 1968, 34, 357
WALKER R.A. e Coll., Decreased susceptibility to ciprofloxacin in outbreak-associated multiresi-

stant *Salmonella typhimurium* DT 104, Vet. Rec., 2000, 147, 395
ZAVANELLA M. e Coll., Antibiotico-resistenza di ceppi *Salmonella* isolati da animali e da alimenti di origine animale, , Nuova Vet., 1973, 49, 2
ZAVANELLA M. e Coll., Antibiotico-resistenza di ceppi *Salmonella* isolati da animali, alimenti ambiente e dall'uomo in provincia di Brescia negli anni 1978 - 1979, Giorn. Mal. Infett. Parass., 1982, 34, 79

12. PREPARAZIONE E USO DI ALCUNI ANTIGENI DIAGNOSTICI

La diagnosi sierologica non ha avuto per le salmonelle un grande seguito, a causa di frequenti reazioni crociate provocate da anticorpi aspecifici circolanti.
E' tuttavia da ricordare in medicina umana l'agglutinazione lenta (Widal) nei confronti delle *Salmonelle typhi* e *paratyphi B.*
In veterinaria è noto il *test* della pullorosi, mediante agglutinazione rapida o lenta, rispettivamente col sangue o col siero, dei volatili.
Qualche utilizzo ha avuto inoltre l'agglutinazione lenta col siero verso *S. abortus-ovis* negli ovini e *S. abortus-equi* negli equini.
Più recentemente si è diffuso un *test* immuno-enzimatico (ELISA) verso il lipopolisaccaride (LPS) della *S. enteritidis* per le galline ovaiole.

Si è ritenuto interessante descrivere, a titolo esemplificativo, la preparazione e l'uso di alcuni antigeni impiegati nelle prove sopra citate:

- antigene lento *S. pullorum* (ceppo TI 184/64)
- antigene lento *S. abortus-ovis* oppure *S. abortus-equi*

I rispettivi ceppi *Salmonella* liofilizzati vengono coltivati su BHI Agar e quindi in BHI Brodo con incubazioni di 24 ore a +37 °C. Dopo centrifugazione a 3000 rpm per 20 minuti, il sedimento, lavato due volte in soluzione fisiologica 0,5% fenicata mediante centrifugazione, viene diluito fino a concentrazione 4 del nefelometro di Mc Farland *.
Segue la colorazione, aggiungendo all'antigene, in ragione dello 0,5%, una soluzione acquosa allo 0,1% di blu di metilene. Le preparazioni hanno validità annuale, se conservate in frigorifero a +4 °C.
La prova consiste nel diluire al raddoppio con soluzione fisiologica 0,5% fenicata i sieri in esame (prediluiti 1:10) entro pozzetti di una piastra "*microtiter*", usando per dispensare la quantità fissa dei reagenti di 50 microlitri una micropipetta munita di puntali da sostituire ad ogni passaggio.
I controlli positivi e negativi sono costituiti, rispettivamente, dagli opportuni sieri diagnostici somatici (O 9,12 ed O 4,5,12) e da soluzione fisiologica.
L'aggiunta dell'antigene colorato a 50 microlitri per pozzetto precede l'incubazione della piastra, sigillata con un foglio adesivo, a +37 °C per 24 ore.
La reazione positiva appare come un precipitato a forma di bottone. La soglia, al di sopra della quale un siero è da ritenere positivo, equivale alla diluizione 1 : 20 per la *S. pullorum* e 1 : 80 per le altre *Salmonelle.*

* Il nefelometro di Mc Farland al valore 4 corrisponde, approssimativamente, a $1{,}2 \times 10^9$ germi per ml e si prepara mescolando ml 0,4 di $BaCl_2$ all' 1% con ml 9,6 di H_2SO_4 all' 1%.

- antigene rapido *S. pullorum*

Si tratta di un antigene colorato, che viene preparato con un ceppo di *Salmonella*

pullorum (1,9,12 : -) nel quale il fattore 1 è scarso, mentre abbonda il fattore 12_3. Il ceppo viene coltivato in coltura liquida agitata ed aereata per 24 ore, centrifugato e precipitato in alcool etilico per almeno sei mesi, in modo da liberare meglio gli antigeni O (rispetto a quanto avviene per i tradizionali antigeni semplicemente formolati e perciò meno sensibili). L'antigene viene quindi lavato con soluzione fisiologica sterile mediante centrifugazione, colorato con cristalvioletto e portato ad una concentrazione batterica del 3% di cellule secondo le norme CEE. Il controllo viene effettuato con sieri positivi e negativi da pollo e con una titolazione in parallelo rispetto ad un antigene *standard* preparato a Weybridge (Inghilterra). Conservato in frigorifero ha la validità di un anno.

Riferimenti bibliografici

BLAXLAND R., Preparazione dell'antigene *Salmonella typhimurium* rapido, Vet. Rec., 1958, 70, 374

CEE, Normes en matière de fabrication de l'antigène *Salmonella pullorum*, 1973 oH

DAVIDSON I. e Coll., International Standars for anti-*Salmonella pullorum* sera, J. Biol. Stand., 1973, 1, 321

GEISSLER H. e Coll., Un metodo per differenziare le reazioni non specifiche dell'agglutinazione *pullorum*, Deutsche Tierarztl. Wochenschr., 1964, 9, 234

KASHIWAZAKI M., Un caso di paratifosi in polli adulti dovuta a *Salmonella typhimurium*, Nat. Inst. Animal Health Quart., 1966, 6, 144

KAUFFMANN F., Preparazione dell'antigene *Salmonella typhimurium* lento, The Bacteriology of Enterobacteriaceae, Munksgaard ed., Copenhagen, 1966

KOSTERS J., Ricerca sulla struttura antigene e sul comportamento sierologico della *Salmonella gallinarum*, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1965, 11, 211

KOSTERS J. , Die Auswahl von *Salmonella gallinarum-pullorum* Stamm TI 184/64 zur Produktion eines standardisierten Agglutinationsantigen, Berl. Munch. Tierarztl. Woch., 1966, 14, 276

JACKSON C.A.W. e Coll., Progress in *pullorum* disease control in Australia, Austral. Vet. J., 1968, 44, 195

NIELS OLOF LIENDGREN, Infezioni da *S. typhimurium* nei polli, Atti V° Congr. Patologia Aviare, Varese, 1966

ORLIC N., Infezioni da *Salmonella typhimurium* negli uccelli, Vet. Arch., 1958, 28, 86

SATO H. e Coll., A rapid quantitative microtitration of *Salmonella* antibody, Am. J. Clin. Path., 1971, 55, 729

THORNS C.J. e Coll., The use of latex particle agglutination to specifically detect *Salmonella enteritidis*, Int. J. Food Micr., 1994, 21, 47

VAN ROECKEL H., Tecnica di preparazione dell'antigene *pullorum* lento, Biester-Schwarte, Disease of Poultry, 5a. ed., 1966, 243

WILLIAMS J.E. e Coll., Serological diagnosis of *pullorum* disease with the Microagglutination System, Appl. Micr., 1971, 21, 394

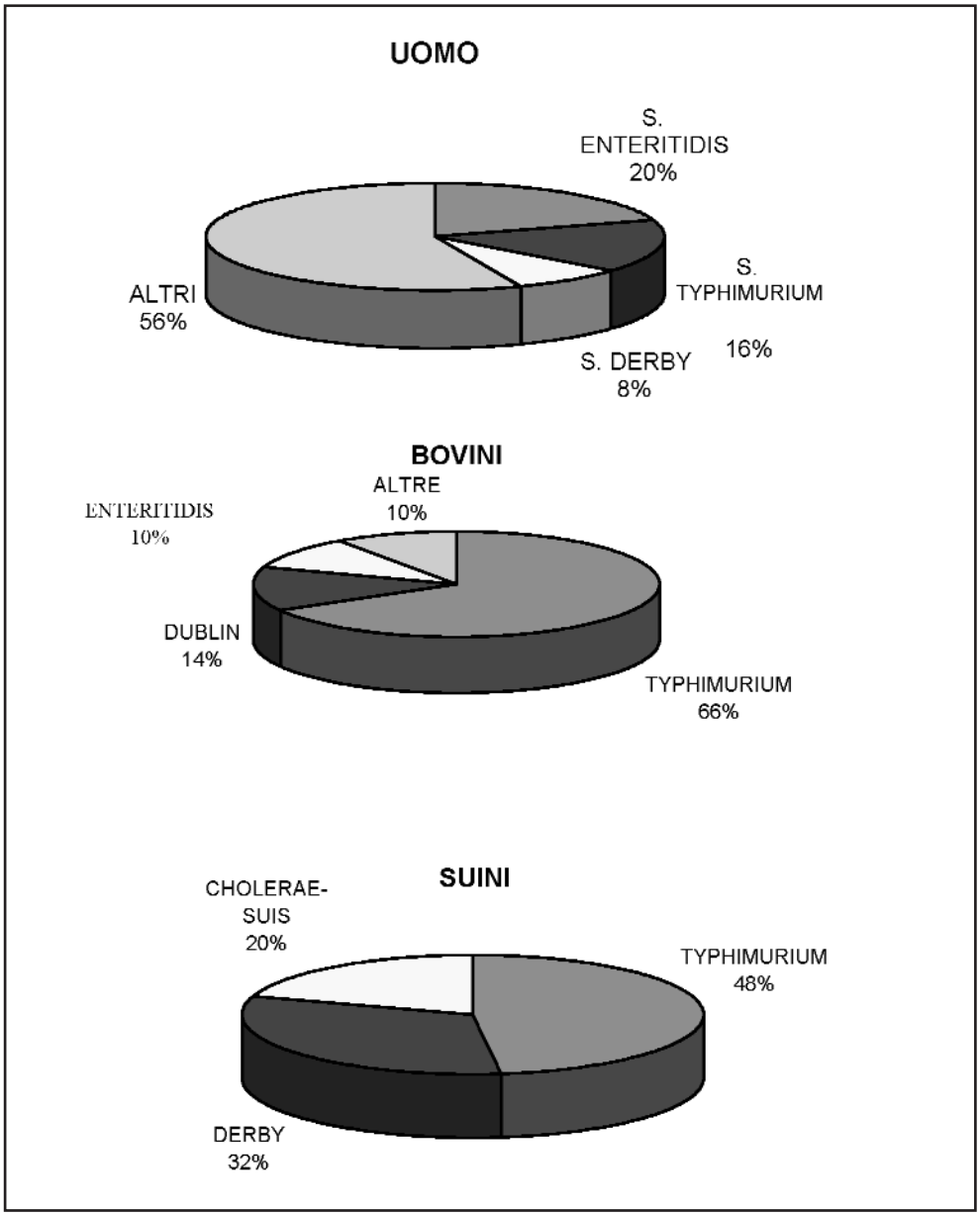
WILLIAMS J.E. e Coll., Avian *Salmonella* - stained Microtest Antigens produced on solid media, Appl. Micr., 1973, 26, 1

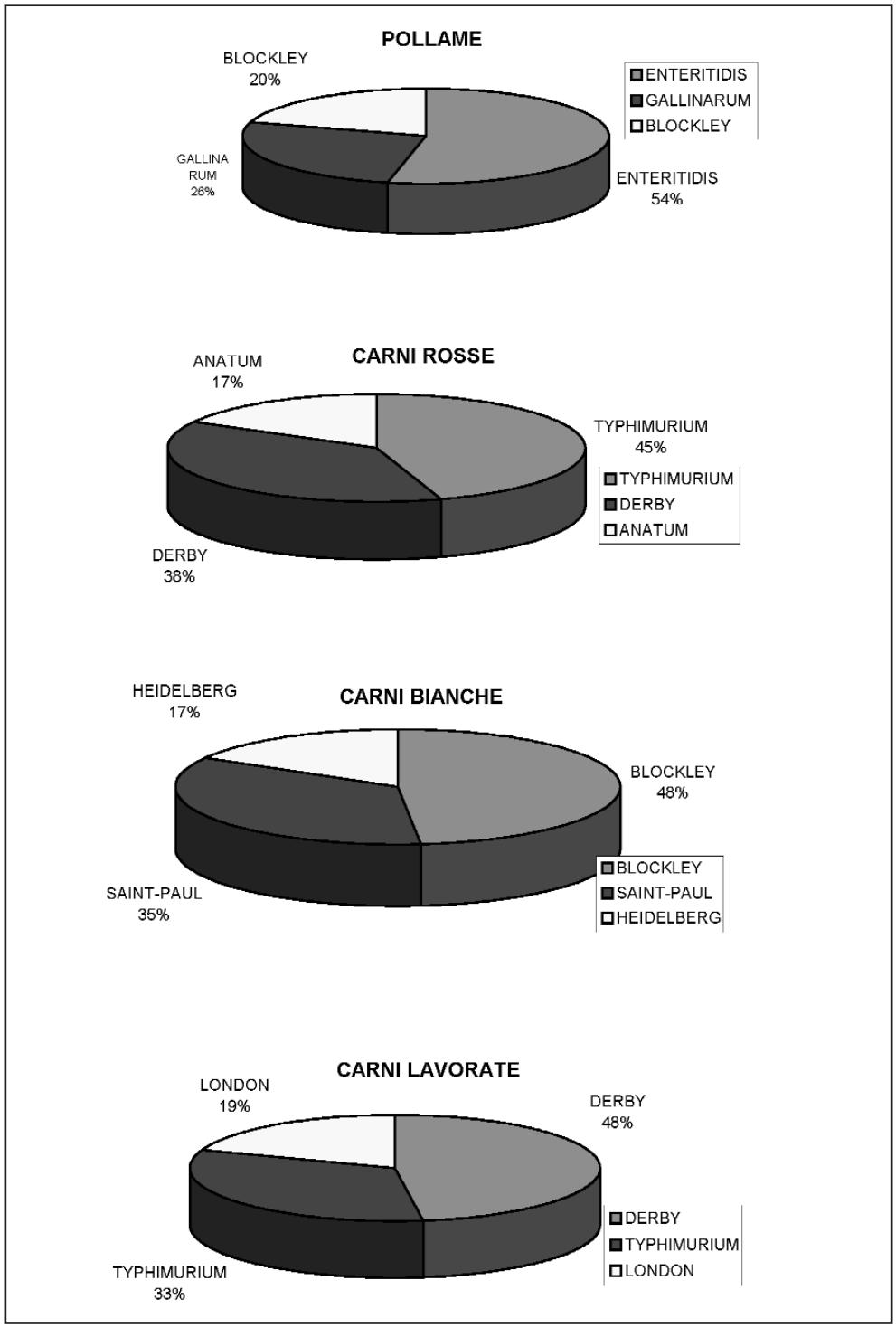
WILSON J., Isolamento della *Salmonella typhimurium* da polli che avevano dato agglutinazione positiva con l'antigene *pullorum*, Vet. J., 1957, 103, 101

ZAVANELLA M. e Coll., Diagnosi diretta e indiretta della pullorosi : preparazione degli antigeni, Sel. Vet., 1983, 24, 1133

13. LE STATISTICHE

Un esempio di statistica riguardante ceppi tipizzati è riportato qui di seguito. In questo modello di statistica, per ciascuna fonte d'isolamento ritenuta interessante ai fini di uno studio epidemiologico sulle salmonelle, vengono messi in evidenza esclusivamente 3 sierotipi predominanti, isolati nell'arco di un'annata.




POLLAME
BLOCKLEY 20%
GALLINA RUM 26%
ENTERITIDIS 54%
ENTERITIDIS
GALLINARUM
BLOCKLEY
CARNI ROSSE
ANATUM 17%
TYPHIMURIUM 45%
DERBY 38%
TYPHIMURIUM
DERBY
ANATUM
CARNI BIANCHE
HEIDELBERG 17%
BLOCKLEY 48%
SAINT-PAUL 35%
BLOCKLEY
SAINT-PAUL
HEIDELBERG
CARNI LAVORATE
LONDON 19%
DERBY 48%
TYPHIMURIUM 33%
DERBY
TYPHIMURIUM
LONDON

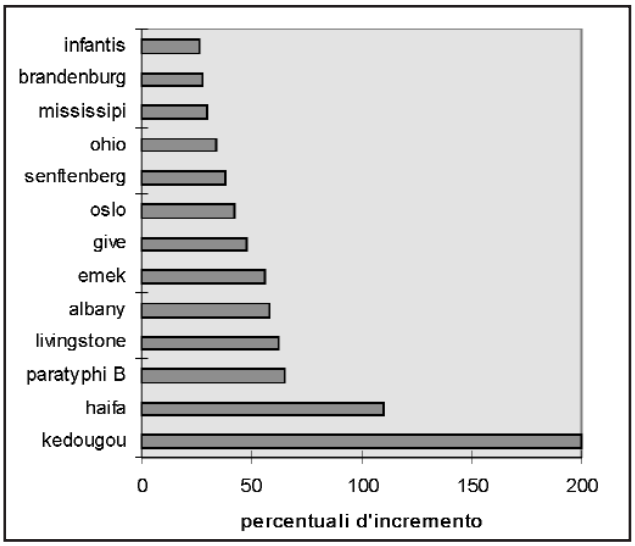
Se si vogliono fare delle tabelle statistiche sulle salmonelle isolate, è da tener presente quanto segue:

1. I sierotipi si avvicendano nel tempo. Le statistiche che enumerano gli isolamenti avvenuti in *periodi molto lunghi sono scarsamente interessanti*, perché rischiano di perdere d'attualità.
2. Per creare una tabella valida dal punto di vista statistico, bisogna disporre di un numero congruo di isolamenti ed evitare di disperdere i dati su una griglia *eccessivamente frammentata quanto a fonti d'isolamento.*
3. Generalmente da una matrice si isola un gruppetto di sierotipi predominanti e una lunga serie di "altri" sierotipi, differenti fra loro, ma di scarsa consistenza numerica. La statistica è più significativa se si mettono in risalto *solo i sierotipi isolati con discreta frequenza.*

Pertanto si suggerisce di abbreviare la stesura di una tabella statistica riportando solo:

- *un anno di osservazioni*
- *pochissime fonti d'isolamento dei ceppi*
- *i sierotipi ai primi 3 posti della classifica per ogni fonte*
- *i rimanenti sierotipi non singolarmente, ma indistintamente come "altri".*

Due esempi molto significativi (dalla rassegna sintetica di Rabsch *e Coll*., 2001):
Stati Uniti. Anno 1995. Fonte: il CDC di Atlanta. Il 60% dei ceppi *Salmonella* umani è racchiuso in quattro sierotipi: *enteritidis* (24,7%); *typhimurium* (23,5%); *newport* (6,2%); *heidelberg* (5,1%). Questi quattro sierotipi rappresentano anche il 46,4% dei ceppi provenienti da fonti non-umane nello stesso anno.
Germania. Anno 1995. Fonte: il Robert Koch Institute di Wernigerode. Oltre l'80% dei ceppi umani è composto da due sierotipi: *enteritidis* (61,3%) e *typhimurium* (23,4%).
Un' interessante applicazione della statistica riguarda la segnalazione dei sierotipi che hanno registrato, in un periodo breve, un incremento d'isolamenti eccezionale. Ad esempio, si riportano i dati di un trimestre raccolti in Europa (PHLS, 2000):



Riferimenti bibliografici

NOTA - Per agevolare la consultazione dei titoli elencati in questa selezione bibliografica, i lavori segnalati sono stati divisi secondo lo schema seguente :

INDAGINI STATISTICHE SUGLI ISOLAMENTI DI SALMONELLE PROVENIENTI DA :

1. ANIMALI	1.2 VOLATILI	1.2.1 POLLI
		1.2.2 TACCHINI
		1.2.3 ANITRE ED OCHE
		1.2.4 ALTRI VOLATILI ALLEVATI
	1.3 BOVINI	
	1.4 SUINI	
	1.5 EQUINI	
	1.6 OVINI	
	1.7 CONIGLI	
	1.8 ALTRI D'ALLEVAMENTO	
2. UOMO		
3. ALIMENTI	3.1 ALIMENTI PER L'UOMO	3.1.1 CARNI
		3.1.2 LATTE E DERIVATI
		3.1.3 UOVA E DERIVATI
		3.1.4 ACQUA
		3.1.5 ALTRI ALIMENTI PER L'UOMO
	3.2 ALIMENTI PER GLI ANIMALI	3.2.1 MANGIMI
4. AMBIENTE	4.1 ACQUE LIBERE	
	4.2 VEGETALI	
	4.3 AMBIENTI CONFINATI	
	4.4 ANIMALI SELVATICI	

AVVERTENZA
Nei *riferimenti bibliografici* parte dei titoli di lavori pubblicati su riviste estere si presenta tradotto in italiano. Si tratta prevalentemente di pubblicazioni originali in lingua tedesca.

1. ANIMALI

1.2. VOLATILI

1.2.1. POLLI

ADINARAYANAN N., Campo e studio di laboratorio delle salmonellosi negli uccelli, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 134
AGRIMI P. e Coll., *Salmonella bareilly* infection in chicks, Zooprofilassi, 1957, 12, 399

AKIYAMA Y., Studi sull'infezione da salmonelle nei polli, Jap. J. Bact., 1961, 16, 430
ATANASSOVA V. e Coll., Molekularbiologische Charaktrisierung von Salmonellaisolaten aus Hahnchenprodukten, Arch. Lebens., 1994, 45, 1
AVERBECK W., Infection of fowls with *Salmonella* present in foodstuffs and not specific for poultry and its diagnosis, Deutsch. Tierarztl. Wochenschr., 1964, 71, 627
BAILEY J.S. e Coll., Improved selective procedure for detection of *Salmonellae* from poultry and sausage products, J. Food Protect., 1988, 51, 391
BARNES E.M. e Coll., *Clostridia* and *Salmonellae* in poultry processing, Poultry Diseases, Gordon ed., Edimburg, England, 1971, 47
BARROW P., Serological analysis for antibodies to *S. enteritidis*, Vet. Rec., 1991, 128, 43
BAUMGARTNER A. e Coll., *Salmonella* contamination of poultry carcasses and human salmonellosis, Arch. Lebens., 1992, 43, 121
BERARDI P. e Coll., Rari tipi di salmonelle nei polli, Zooprofilassi, 1963, 18, 779
BIERER B.W., A method of inducing *Salmonella typhimurium* infections in chicks, J.A.M.V.A., 1961, 139, 790
BIERER B.W. e Coll., Clinical salmonellosis accidentally induced by feed and water deprivation of one-week-old broiler chicks, Poultry Sci., 1965, 44, 1606
BLANCHFIELD B. e Coll., Nurmi concept for preventing infections of chicks by *Salmonella* : comparison of fecal suspensions and fecal cultures administered into the crop and in drinking water, J. Food Protect., 1982, 45, 345
BLAXLAND J., Prevenzione dell'infezione da *Salmonella pullorum* e della coccidiosi nei polli, Bull. Off. Int. Epizoot., 1955, 44, 188
BLAXLAND J., Studio dei ceppi di *Salmonella gallinarum* e *Salmonella pullorum* isolati da un focolaio di malattia, J. Comp. Path., 1956, 66, 270
BLAXLAND J., Salmonellosi aviare in Inghilterra e nel Galles dal 1948 al 1956. Prevenzione e controlli, Vet. Rec., 1958, 70, 374
BOZHILOV B., Isolamento di salmonelle da pulcini importati in Bulgaria, Izv. Vet. Inst. Zaraz. Parazit. Bolesti, Sofia, 1963, 7, 91
BROBST D., Salmonelle nei polli e negli impianti di lavorazione del pollame nella Pennsylvania dell'Ovest, J.A.V.M.A., 1958, 133, 435
BROWN R.H., NBC rebuts meat inspectors' chicken *Salmonella* campaign, Feedstuffs, 1987, 59, 1
BYGRAVE A.C., Transmission of *Salmonella enteritidis* in poultry, Vet. Rec., 1989, 124, 571
BYRD J.A. e Coll., Comparison of drag-swab environmental protocols for the isolation of *Salmonella* in poultry houses, Avian Dis., 1997, 41, 709
CALDWELL D.J. e Coll., Evaluation of persistence and distribution of *Salmonella* serotype isolation from poultry farms using drag-swab sampling, Avian Dis., 1995, 39, 617
CALIC R., Incidenza della *Salmonella pullorum* negli organi e nell'ovaio delle galline, Vet. Glasn., 1955, 9, 2
CARLS G., Isolamento delle salmonelle dal sangue e dagli organi di polli portatori, Inaug. Diss., Giessen, 1950
CARRAMINANA J.J. e Coll., *Salmonella* incidence and distribution of serotypes throught processing in a spanish poultry slaughterhouse, J. Food Protect., 1997, 60, 1312
CASTAGNOLI B. e Coll., Salmonellosis of poultry in Italy, Bull. Off. Int. Epizoot., 1965, 63, 1643
CHART H. e Coll., Serological response of chickens to *Salmonella enteritidis* infection, Epidemiol. Infect., 1990, 104, 63
CHART H. e Coll., Serological test for *Salmonella enteritidis* in chickens, Vet. Rec., 1991, 126, 20
CHRISTENSEN J.P. e Coll., Correlation between viable counts of *Salmonella gallinarum* in spleen and liver and the development of anaemia in chickens as seen in experimental fowl typhoid, Avian Path., 1966, 25, 769
CLARENBURG A. e Coll., *Salmonella bareilly* infection in chicks, Tijdschr. Diergeneesk., 1952, 77, 174

CLARENBURG A. e Coll, On the occurrence of *Salmonella bareilly* in man and animals and the mode of transmission of the salmonellose caused by this species, Leeuwenhoekned. Tijdschr., 1952, 18, 171

CLARENBURG A., *Salmonella bareilly* in poultry. Its relation to public health, Proc. 15th Int. Vet. Congr., Stockholm, 1953, 1175

COOPER G.L. e Coll., Serological and bacteriological investigation on chickens from flocks naturally infected with *Salmonella enteritidis*, Vet. Rec., 1989, 125, 567

DADRAST H e Coll., Egg yolk antibody detection in identification of *Salmonella* infected poultry, Vet. Rec., 1990, 125, 219

DAS M., Isolamento di una rara spcie di *Salmonella* da un focolaio acuto d'infezione tra polli in India, Poultry Sci., 1955, 34, 1948

DASCANI E., Salmonelle isolate da allevamenti infetti, Zooprofilassi, 1960, 15, 675

DAVIDSON S. e Coll., Comparison of environmental monitoring protocols for the detection of *Salmonella* in poultry houses, Avian Dis., 1995, 39, 475

DIXIT S., Salmonellosi nei pulcini. Studi di laboratorio su tre focolai, Indian Vet. J., 1952, 28, 425

DOUGHERTY T.J., *Salmonella* contamination in a commercial poultry (broiler) processing operation, Poultry Sci., 1974, 53, 814

DRUCE C., *Salmonella enteritidis* in poultry, Vet. Rec., 1988, 476

ELLEMANN G., Esame della cloaca per l'isolamento delle salmonelle, Nord. Vet. Med., 1960, 12, 47

EL-MALEK A.S., *Salmonella gallinarum*. Virulenza e metodi di diagnosi in laboratorio, Vet. Med. J. Giza, 1964, 9, 37

ERIKSSON B., Incidenza delle salmonelle in polli macellati in salute, Nord. Hyg. Tijdskr., 1963, 44, 99

FADDOLUL G. e Coll., Controllo in cinque anni dell'incidenza delle salmonelle negli uccelli, Avian Dis., 1966, 10, 296

FEDERAL REGISTER , Poultry affected by *Salmonella enteritidis*, Dairy Food Environm. Sanitat., 1990, 10, 282

FERGUSON A. e Coll., Isolamento della *Salmonella pullorum* dalle articolazioni di pulcini broiler, Canad. Vet. J., 1961, 2, 143

FORSYTHE R.H. e Coll., Safe meat and poultry : an industry achievement, Dairy Food Env. Sanitat., 1992, 12, 149

GAGLIARDI G. e Coll., Salmonelle isolate da allevamenti infetti, Atti SISV, 1960, 14, 707

GEORGALA W., Salmonelle nella carne e nei polli. Tecniche rapide d'immunofluorescenza, J. Appl. Micr., 1965, 28, 421

GIESSEN A.W. e Coll., The identification of *Salmonella enteritidis* infected poultry flocks associated with an outbreak of human salmonellosis, Epidemiol. Infect., 1992, 109, 405

GLAZEN W.P. e Coll., *Salmonella* in two poultry processing plants, J.A.V.M.A., 1966, 148, 550

GOETZ J., Alcune osservazioni sul problema delle infezioni da *Arizona* nei polli, Vet. Med., 1953, 48, 59

GOETZ J., Ricerca sulle infezioni da *Arizona* paracolon nei polli, J.A.V.M.A., 1954, 124, 120

GORET P., Isolamento della *Salmonella cholerae-suis* in pulcini con manifestazioni cliniche della pullorosi, Am. Nutrition, 1954, 3, 393

GRANVILLE H. e Coll., Clinical and bacteriological aspects of paratyphoid in birds, Ann. Med. Vet., 1962, 22, 508

GRAUSGRUBER W., *Salmonella bareilly* infection in fowls, Wiener Tierarztl. Monat., 1954, 41, 441

GUALTIERI M. e Coll., Salmonelle isolate da allevamenti infetti, Atti I° Simp. Pat. Aviare, 1962

HARBOURNE J., Isolamento di *Salmonella gallinarum* negli uccelli, J. Comp. Path., 1955, 65, 250

HARBOURNE J., Epidemiologia dei paratifi negli uccelli, Vet. Rec., 1958, 70, 443

HAWA S.G. e Coll., Method to rapidly enumerate *Salmonella* on chicken carcasses, J. Food Protect.,

1984, 47, 932
HILBRICH P., Rari tipi di salmonelle nei polli, Deutsch. Tierarztl. Wochenschr., 1963, 70, 684
HILL C.H., Amino-acid deficiencies and reaction of chicks to *Salmonella gallinarum*, Avian Dis., 1966, 10, 383
HINTON M. e Coll., Experimental *Salmonella enteritidis* infection in chicks, Vet. Rec., 1989, 223
HOLT P.S., Horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in melted and unmelted laying chickens, Avian Dis., 1995, 39, 239
HOSIC B.D. e Coll., *Salmonella enteritidis* infection in pheasant chicks and poults, Vet. Rec., 1990, 125, 39
HUMBERT F. e Coll., Rapid identification of *Salmonella* from poultry meat products by using "Mucap test", Int. J. Food Micr., 1989, 8, 78
HUME M.E. e Coll., Reduction of *Salmonella* crop and cecal colonization by a characyerized competitive exclusion culture in broilers during grow-out, J. Food Protect., 1996, 59, 688
HUMPHREY T.J. e Coll., *Salmonella* and *Campylobacter* contamination of broiler chicken carcasses and scald tank water : the influence of water pH, J. Appl. Bact., 1987, 63, 21
KASHIWAZAKI M., Un focolaio di paratifosi in polli adulti dovuto a *Salmonella typhimurium*, Health Quart., 1966, 6, 144
KEAST J., Alcuni problemi riguardanti il controllo della pullorosi nel Nuovo Galles del Sud, Austral. Vet. J., 1966, 42, 109
KIM J.W. e Coll., Attachment of *Salmonella typhimurium* to skin of chicken scalded at variuos temperatures, J. Food Protect., 1993, 56, 661
KIM J.W. e Coll., Cetylpyridinium chloride (CPC) treatment on poultry skin to reduce attached *Salmonella*, J. Food Protect., 1996, 59, 322
KNIVETT V.A., *Salmonella typhimurium* contamination of processed broiler chickens after a subclinical infection, J. Hyg. Camb., 1971, 69, 497
KNIVETT V.A. e Coll., Comparison of oral vaccination of furazolidone prophylaxis for *Salmonella typhimurium* infection in chicks, Br. Vet. J., 1972, 128, 24
KRABISCH P., Zum qualitativen und quantitativen Vorkommen von Salmonellen beim Masthanchen (Broiler), Arch. Lebens., 1986, 37, 1
IZAT A.L. e Coll., Production and processing studies to reduce the incidence of *Salmonellae* on commercial broilers, J. Food Protect., 1989, 52, 670
JAMES W.O. e Coll., Profile of selected bacterial counts and *Salmonella* prevalence on raw poultry in a poultry slaughter establishment, J.A.V.M.A., 1992, 200, 57
JOCKEL J. e Coll., Geflugelfleisch in der Fleischtheke. Ein Beitrag zur Einschatzung des Salmonellenrisiko, Fleiscwirtsc., 1992, 72, 1135
JORDAN F., Presenza della *Salmonella gallinarum* nelle feci di animali infetti, Poultry Sci., 1956, 35, 1026
JORDAN F., Sopravvivenza della *Salmonella gallinarum* in carcasse di polli, Brit. Vet. J., 1954, 110, 387
JORGENSEN A., Infezioni da salmonelle nei polli. Studi sierologici, colturali ed epidemiologici, Nord. Vet. Med., 1951, 3, 271
LINDERHOLM K.G., Methods to reduce the risk of *Salmonellae* contamination in poultry slaughterhouses, 5th Symp. W.A.V.F.H., Opatija, 1969, 243
MALLINSON E.T. e Coll., Monitoring poultry forms for *Salmonella* by drag-swab sampling and antigen capture immunoassay, Avian Dis., 1989, 33, 684
MARUCCI F. e Coll., Studio di un sistema di verifica in ambito HACCP da applicarsi a macelli avicoli, Ind. Alim., 1995, 34, 1164
MC GARR C. e Coll., Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolates from the broiler chicken industry in Ontario, Canad. J. Comp. Med., 1977, 41, 107
MEAD G.C. e Coll., Recommended assay for treatment of chicks to prevent *Salmonella* colonization by competitive exclusion, J. Food Protect., 1989, 52, 500

MEAZZA M. e Coll., Isolamento di sierotipi di salmonelle nel pollame e derivati, Arch. Vet. It., 1994, 45, 9
MONDINI S. e Coll., Studies on *Salmonella* in slaughter poultry, Atti SISV, 1964, 118, 481
MONDINI S. e Coll., Ricerche sulle salmonelle nei polli macellati, Nuova Vet., 1964, 40, 129
MORRIS-AYRES M., Incidenza delle salmonelle nei polli commercialmente trattati. Metodo sperimentale per la diagnosi, Poultry Sci., 1960, 39, 1131
MORRISON G.J. e Coll., Reduction of *Salmonella* on chicken carcasses by immersion treatments, J. Food Protect., 1985, 48, 939
MULLER G., Le salmonelle nelle feci dei polli, Nature, 1965, 207, 1315
MULLER H., Controllo dell'infezione da *Salmonella pullorum*, Mh. Vet. Med., 1955, 10, 557
NASSAL J., Controllo dell'infezione da *Salmonella pullorum* nella Baviera meridionale dal 1949 al 1955, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1957, 70, 25
NICHOLAS R.A.J. e Coll., Development and application of an ELISA for detecting antibodies to *Salmonella enteritidis* in chicken flocks, Vet. Rec., 1991, 128, 74
NURMI E. e Coll., New aspects of *Salmonella* infection in broiler production, Nature, 1973, 241, 210
OBERHAUSER M., Untersuchungen uber den Salmonellenbefall des im Handel feilgehalten Geflugels, Fleischwirtsc., 1975, 55, 1424
O' BRIEN J.D.P., Control of *Salmonella enteritidis* in poultry, Vet. Rec., 1989, 124, 333
OLD D.C. e Coll., A possible association between *Salmonella livingstone* strains from man and poultry in Scotland, Vet. Rec., 1995, 137, 544
PAPPARELLA V. e Coll., Ricerche sulla presenza di salmonelle in impianti di macellazione del pollame, Acta Med. Vet., 1971, 17, 331
PETRENKO R.K., Tecnica di isolamento della *Salmonella pullorum*, Trudy Sratov. Zootekh. Vet. Inst., 1958, 7, 77
PRICE J., *Salmonella* isolations from stuffed natural poultry toys, Publ. Hlth. Rep., 1966, 81, 387
PRINCE W. e Coll., An investigation of the resistence of White Leghorn chicks to *Salmonella gallinarum*, Poultry Sci., 1966, 45, 1149
QUESADA A. e Coll., Salmonelle isolate da polli, Atti SISV, 1960, 14, 538
QUESADA A. e Coll., Su di alcuni focolai di infezione pullurotica con particolari localizzazioni articolari e alari, Atti SISV, 1966, 20, 847
RATHGEBER B.M. e Coll., Antibacterial activity of a sodium acid pyrophosphate product in chiller water against selected bacteria on broiler carcasses, J. Food Protect., 1995, 58, 530
SADLER W., Infezione da Salmonelle e controllo nei polli commerciati, Appl. Micr., 1961, 9, 72
SADLER W., Controllo del pollame commerciato per l'infezione da *Salmonella*, Appl. Micr., 1965, 13, 348
SADLER W. e Coll., Influence of age and inoculum level on shed pattern of *Salmonella typhimurium* in chickens, Avian Dis., 1969, 13, 793
SARAIS I. e Coll., Valutazione comparativa di metodiche rapide per la ricerca di *Salmonella* da carni avicole, Ing. Alim., 1994, 6, 22
SHARMA V.K. e Coll., *Salmonella bareilly* e *Salmonella chester* da uno scoppio di malattia nei polli, Indian J. Microbiol., 1963, 3, 85
SIDDIQUI Y., Study of *Salmonella* serotypes isolated from feedstuffs and their relative pathogenicity for turkeys and chickens, M.S. Thesis, Univers. of Minnesota, 1964
SIEBURTH J.N., The indirect hemagglutination test in the avian *Salmonella* problem, Am. J. Vet. Res., 1958, 729
SIEMS H. e Coll., Erhebungen uber das Vorkommen von Salmonellen bei gefrorenem Schlachtgeflugel auf dem Deutschen Markt, Zbl. Bakt. Hyg., 1975, 160, 84
SING R.P., Incidence of *Salmonella* in poultry farms and hatcheries and their pathogenicity, Ind. Vet. J., 1967, 44, 833
SLAVIK M.F. e Coll., A membrane blotting procedure for detection of *Salmonella* on chicken car-

casses, J. Food Protect., 1992, 55, 548
SLAVIK M.F. e Coll., Reduction of *Salmonella* and *Campylobacter* on chicken carcasses by changing scalding temperature, J. Food Protect., 1995, 58, 689
SLAVKOW I. e Coll., I portatori di *Salmonelle* tra i polli, Vet. Med. Navky, Sofia, 1964, 1, 73
SMYSER C. e Coll., Campo e osservazioni di laboratorio sull'infezione da *Salmonella heidelberg* in tre allevamenti di polli, Avian Dis., 1966, 10, 314
SMITH H.W., The epizootiology of *Salmonella* infection in poultry, Poultry Diseases, Gordon ed., Edimburg, England, 1971, 37
SMITH P.J. e Coll., Bacteriological and serological diagnosis of salmonellosis of fowls, Res. Vet. Sci., 1972, 13, 460
SMITH W. e Coll., The effect of feeding diets containing permitted antibiotics on the faecal excretion of *Salmonella typhimurium* by experimentally infected chickens, J. Hyg. Camb., 1975, 75, 293
SNOEYENBOS G.H., Principi fondamentali per il controllo dei paratifi nei polli, Proc. 27th Ann. Meet. N:E:Conf. Lab. Wkrs. Pullorum Dis. Contr., Durham, New Hampshire, England, 1955
SNOEYENBOS G.H. e Coll., An epidemiological study of salmonellosis of chickens, Avian Dis., 1967, 11, 653
SNOEYENBOS G.H., An approach to identifying and mantaining *Salmonella* - free chickens, Avian Dis., 1971, 15, 28
STEPHENS J. e Coll., Infezione concomitante da *Salmonella typhimurium* ed *Eimeria necatrix* nei polli, Poultry Sci., 1963, 42, 1310
STEPHENS J.F. e Coll., Concomitanza di *Salmonella typhimurium* ed *E. necatrix* nei polli, Poultry Sci., 1964, 43, 352
STEPHENS J.F., Incidence of *Salmonella* in breeder flocks, Feedstuffs, 1965, 37, 20
SUMNER S.S. e Coll., Inhibition of *Salmonella typhimurium* on agar medium and poultry skin by ultraviolet energy, J. Food Protect., 1966, 59, 319
SUZUKI S., Pathogenicity of *Salmonella enteritidis* in poultry, Int. J. Food Micr., 1994, 21, 89
TAMBLYN K. e Coll., Bactericidal activity of organic acids against *Salmonella typhimurium* attached to broiler chicken skin, J. Food Protect., 1997, 60, 629
TELLO G., Controllo dell'infezione da *Salmonella pullorum*, Vet. Zootecn., 1957, 9, 37
TESTI B., Presenza della *Salmonella pullorum* nei pulcini allevati in batteria, Zooprofilassi, 1958, 13, 85
TIECCO G. e Coll., Search for *Salmonella* in market fowls, Atti SISV, 1964, 118, 567
TIECCO G. e Coll., Further studies on the hygienic qualities of the meat of fowls fed rations artificially contaminated with *Salmonella typhimurium*, Atti SISV, 1965, 19, 733
TIWARI B.K. e Coll., Enteric infection in livestock and poultry by *Salmonellae* and *Shigellae*, Vet. Rec., 1972, 91, 510
VAN ULSEN F.W., *Salmonella bareilly* infection in chicks, Tijdschr. Diergeneesk., 1952, 77, 636
VAN ULSEN F.W., Mixed infection with *Salmonella bareilly* and intestinal parasites in fowls, Tijdschr. Diergeneesk., 1954, 79, 715
VELAUDAPILLAI T., *Salmonella* in bones of slaughtered cattle and poultry, Z. Hyg. Infekt. Kr., 1964, 150, 10
VESTAL O.H. e Coll., The relative pathogenicity of selected paratyphoids for chicks, Avian Dis., 1966, 10, 502
VILLAREAL M. e Coll., The incidence of *Salmonella* on poultry carcasses following the use of slow release chlorine dioxide (Alcide), J. Food Protect., 1990, 53, 465
VIRAT B. e Coll., *Salmonella* infections in fowls, Ann. Inst. Pasteur, 1955, 88, 133
VUKOVIC V., Prevenzione della pullorosi, Veterinaria, Sarajevo, 1958, 6, 646
WALTMAN W.D. e Coll., Isolation of *Salmonella* from poultry tissue and environmental samples. A nationalwide survey, Avian Dis., 1995, 39, 45
WEIS J., Beobachtungen bei der Salmonellose der Huhner, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1967, 18, 360

WILDER A.N. e Coll., Isolation of *Salmonella* from poultry, poultry products and processing plants in Massachussets, New Engl. J. Med., 1966, 274, 1453
WILLIAMS S., The isolation of *Salmonellae* from the bursa of Fabricious of chickens latently infected with these organisms, J. Appl. Bact., 1971, 34, 593
WILSON J.E., *Salmonella* infection in poultry, Poultry Rev., 1961, 1, 31
WILSON J.E., *Salmonella* infections in poultry, Vet. Rec., 1962, 13, 75
YOSHIDA I. e Coll, L'isolamento di ceppi di *Salmonella pullorum* desossicolato sensibili da polli naturalmente infetti, Avian Dis., 1964, 8, 394
ZAKARIJA D. e Coll., Tenacitet *S. typhimurium* u mesu zaklane zivine i razlicitim uslavima spoliasnje sredine, Vet. Glasnik, 1988, 42, 227
ZAGAEVKII I.S., Portatori di *Salmonella* nei polli, specie nei riguardi dell'ispezione delle carni, Veterinariya, Moscow, 1961, 12, 31
ZIEBA T., Diagnosi di laboratorio dell'infezione da *Salmonella pullorum*, Med. Vet. Varsovie, 1955, 11, 279

1.2.2 TACCHINI

ANON., *Salmonella typhimurium* isolate da tacchini, Appl. Micr., 1961, 9, 188
BANWART G.J., Rapid detection of *Salmonella* in turkeys rolls and on fresh chicken parts, Poultry Sci., 1969, 48, 1528
BERNATH J., *Salmonella bareilly* infection in turkeys, Magy. Allatorv. Lap., 1966, 21, 402
BRYAN F.L. e Coll., Contributory sources of *Salmonellae* on turkey products, Am. J. Epidemiol., 1968, 87, 578
BRAYAN F.L. e Coll., Destruction of *Salmonellae* and indicator organisms during thermal processing of turkey rolls, Poultry Sci., 1968, 47, 1966
BRUNER G., An outbreak of paracolon infection (*Arizona*) in turkey poults, Cornell Vet., 1952, 42, 22
CERRUTI C. e Coll., Presenza della *Salmonella pullorum* negli organi di galline infette, Atti SISV, 1959, 13, 671
CLOUSER C.S. e Coll., The role of defeathering in the contamination of turkey skin by *Salmonella* species and *Listeria monocytogenes*, Poultry Sci., 1995, 74, 723
GOETZ J., Il controllo delle infezioni da paratifi e paracolon nei tacchini, Avian Dis., 1962, 6, 93
GREENFIELD J. e Coll., The genus *Arizona* with special reference to *Arizona* disease in turkeys, Vet. Bull., 1971, 41, 605
GREENFIELD J. e Coll., Control of *Arizona* disease in turkeys by poult iniection, Poultry Sci., 1972, 51, 523
KOWALSKI L.M. e Coll., *Arizona* 7 : 1,7,8 infection in young turkeys, Avian Dis., 1968, 12, 317
LAMONT P.H. e Coll., Experimental infection of turkey poults with *Arizona* serotype 7 : 1,7,8, Br. Vet. J., 1972, 128, 129
NAGARAJA K. e Coll., Detection of *S. arizonae* in turkey flocks by ELISA, 27th Ann. Meet. Am. Assoc. Vet. Lab. Diagn., Fort Worth, 1984, 185
NIVAS S.C. e Coll., *Salmonella* recovery from three turkey processing plants in Minnesota, Avian Dis., 1973, 17, 605
SATO G. e Coll., A study on the efficacy of *Arizona* bacterin in turkeys, Avian Dis., 1966, 10, 239
SATO G. e Coll., Esame batteriologico e sierologico dei tacchini naturalmente infetti con *Arizona* 7 : 1,7,8, Avian Dis., 1966, 10, 291
SATO G. e Coll., Infezione sperimentale di tacchini adulti con germi *Arizona*, Avian Dis., 1966, 10, 329
SNOEYENBOS G.H. e Coll., Research note : isolation of *Arizona* 7 : 1,7,8 from litter of pens housing infected turkeys, Avian Dis., 1968, 13, 223

YAMAMOTO R., Comparazione dei metodi e dei terreni per l'isolamento della *Salmonella typhimurium* dai tacchini, Appl. Micr., 1961, 9, 76
ZOTTOLA E.A. e Coll., Isolation of *Salmonellae* and other air-borne microorganisms in turkey processing plants, J. Milk Food Technol., 1970, 33, 395

1.2.3 ANITRE ED OCHE

BERNAU U. e Coll., Isolamento della *Salmonella infantis* in un'anitra, Deutsch. Tierarztl. Wochenschr., 1966, 73, 630
PESINO L. e Coll., Incidenza di *Salmonella* in differenti organi di anatra, Riv. It. Igiene, 1968, 27, 481
PULST H., Incidenza delle salmonelle nelle feci di oche e di anitre, Mh. Vet. Med., 1960, 15, 226

1.2.4 ALTRI VOLATILI ALLEVATI

GASPARINI V. e Coll., Salmonelle nelle faraone, La Nuova Igiene, 1966, 5, 261
GASPARINI V. e Coll., Sulla presenza di salmonelle in faraone regolarmente macellate, Nuova Vet., 1966, 5, 260
LUTHGEN W., Salmonelle nei fagiani, Praxis, 1966, 11, 203

1.3 BOVINI

ALOSI A- e Coll., Ricerca dei portatori sani di *Salmonella* fra gli animali da macello, Zooprofilassi, 1966, 21, 177
CHILDERS A.B. e Coll., Sources of *Salmonella* contamination of meat following approved livestock slaughtring procedures, J. Milk Food Technol., 1970, 33, 10
DICKSON J.S. e Coll., Control of *Salmonella* on beef tissue surfaces in a model system by pre- and post- evisceration washing and sanitizing, with and without spray chilling, J. Food Protect., 1991, 54, 514
EDEL W. e Coll., *Salmonella* infection in fattering calves at the farm, Zbl. Vet. Med., 1971, 18, 617
FEY H. e Coll., Nachweis von Salmonellen in Fluss- und Abwassern sowie bei gesunden Schlachtweinen in Genf, Schweiz. Arch. Tierheil., 1961, 103, 519
GIBSON E.A., Reviews of the progress of dairy science. Section E : diseases of dairy cattle, *Salmonella* infection in cattle, J. Dairy Res., 1965, 32, 97
GOTZE U., Latente *Salmonella*-Infektionen bei Schlachttieren, Zbl. Vet. Med., 1968, 15, 878
GRONSTOL H. e Coll., Experimental *Salmonella* infections in calves. I. The effect of stress factors on the carrier state, J. Hyg. Camb., 1974, 72, 155
GUINEE P.A.M. e Coll., Studi su un'infezione da *Salmonella* nei vitelli, Tijdschr. Diergeneesk., 1967, 3, 158
HERGESIC B., A contribution to knowledge of the dicovery of *Salmonellae* in the organs of unsound slaughter animals, Vet. Archiv, 1966, 36, 283
HINTON M., *Salmonella dublin* abortion in cattle, J. Hyg. Camb., 1973, 71, 459
IANUZZI L., Ricerca dei portatori sani di *Salmonella* fra gli animali da macello, Acta Med. Vet., 1967, 13, 170
JONES P.W. e Coll., Intensive long term bacteriological studies of outbreaks of salmonellosis in adult cattle and calves, Commission Europ. Communities Agricult., Brussels, Belgium, 1983
LADIGES W.C. e Coll., Incidence of *Salmonella* in beef and chicken, J. Milk Food Technol., 1974, 37, 213

MC CAUGHEY W.J. e Coll., Some observations on *Salmonella dublin* infection in clinically healthy beef cattle, Br. Vet. J., 1971, 127, 549
MEDANIC B e Coll., Fodder contaminated with *Salmonella typhimurium* as source of enzootic salmonellose in calves, Veterinarski Archiv, 1966, 36, 272
MUNCH B., On monitoring Salmonella in livestock and environment, Commission Europ. Communities Agricult., Brussels, Belgium, 1983
ODDI P. e Coll., Ricerca di *Salmonelle* nella bile di bovini adulti, Atti SISV, 1983, 37, 591
PESINO L. e Coll., Ricerca di *Salmonella* nel contenuto ruminale di bovini assegnati al libero consumo, Riv. It. Igiene, 1968, 27, 488
RANKIN J., Protezione del bestiame dall'infezione con *Salmonella typhimurium* per mezzo del vaccino prodotto con *Salmonella dublin* (ceppo 51), Vet. Rec., 1966, 78, 765
RANKIN J., Estimazione della dose di *Salmonella typhimurium* necessaria per provocare sperimentalmente la malattia nelle bovine, Vet. Rec., 1966, 78, 706
RANKIN J., Experiments in calves to determine the safety of a strain of *Salmonella dublin* (strain 51) used in the commercial production of a vaccine, Vet. Rec., 1967, 80, 247
RIEMER R., Der Einfluss des Gefrierprozess auf die Uberlebensfahigkeit von Salmonellen in zerkleinertem Rind und Schweinefleisch, Tesi, Berlin, 1977
ROBINSON R.A., Salmonellosis in young calves, New Zealand Vet. J., 1966, 14, 33
RUDE T.A., *Salmonella typhimurium* infections in cattle, J.A.V.M.A., 1963, 142, 751
SAMUEL L. e Coll., A small-scale *Salmonella* survey among healthy slaughter cattle in Northern Israel, Refuah Vet., 1970, 27, 2
SMELTZER T. e Coll., *Salmonellae* on posts, hand-rails and hands in a beef abattoir, Austral. Vet. J., 1980, 56, 184
SMITH B.P. e Coll., Detection of *Salmonella dublin* mammary glandinfection in carrier cows, using an enzyme-linked immunosorbent assay for antibody in milk or serum, Am. J. Vet. Res., 1989, 50, 1352
STEVENS A. e Coll., Recent observations on field aspects, Vet. Rec., 1967, 80, 154
SZMUNESS W., Proprietà microbiologiche ed epidemiologiche delle infezioni causate da *Salmonella enteritidis*, J. Hyg.,1966, 64, 9

1.4 SUINI

BAGER F. e Coll., Sensitivity and specificity of different methods for the isolation of *Salmonella* from pigs, Acta Vet. Scand., 1991, 32, 473
BERSANI G. e Coll., Isolamento di *Salmonella wien* da suino, Igiene Mod., 1976, 69, 83
CARLSON A.R. e Coll., In-herd prevalence of *Salmonella* in 25 selected Minnesota swine farms, J. Swine Health Product., 2001, 9, 7
CORTESI M.L. e Coll., Indagini sulla situazione attuale dei portatori di *Salmonelle* fra i suini regolarmente macellati, Arch. Vet. It., 1984, 35, 233
DAVIES P.R. e Coll., Prevalence of *Salmonella* in finishing swine raised in different production systems in North Carolina, Epidemiol. Infect., 1997, 119, 237
DAVIES P.R. e Coll., Isolation of *Salmonella* serotypes from feces of pigs raised in a multiple-site production system, JAVMA, 1998, 212, 1925
FRICK J.F., The effect of pelleting mixed feeds on the incidence of *Salmonella* infections in pigs, Neth. J. Vet. Sci., 1970, 3, 107
FUNK J.A. e Coll., The effect of fecal sample weight on detection of *Salmonella enterica* in swine feces, J. Vet. Diagn. Invest., 2000, 12, 412
GNOSH A.C., An epidemiological stusy of the incidence of *Salmonellas* in pigs, J. Hyg. Camb., 1972, 70, 151
HEARD T.W., The incidence of *Salmonella* excretion in various pig populations from 1966 to 1968,

Brit. Vet. J., 1969, 125, 635
JAYAROO B.M. e Coll., Prevalence of *Salmonella* serotypes in pigs and evaluation of a rapid, presumptive test for detection of *Salmonella* in pig faeces, Acta Vet. Hung., 1989, 37, 39
KASBOHRER A. e Coll., Pilot studi on the prevalence of *Salmonella* in slaughter pigs in Germany. I. Prevalence of *Salmonella* in swine carcasses by cultural methods, Proc. 2nd Symp. Epidemiol. Control Salmonella Pork, Copenhagen, 1997, 225
LATELLIER A. e Coll., Prevalence of *Salmonella* spp. in finishing swine in Canada, Proc. 2nd Symp. Epidemiol. Control Salmonella Pork, Copenhagen, 1997, 266
LEE J.A. e Coll., Salmonellas on pig farms and in abattoirs, J. Hyg. Camb., 1972, 70, 141
LO SCHIAVO A. e Coll., *Salmonella wien* ed altri sierotipi isolati da suini, Igiene Mod., 1977, 70, 246
MAFU A.A. e Coll., The incidence of *Salmonella*, *Campylobacter* and *Yersinia enterocolitica* in swine carcasses and the slaughterhouse environment, J. Milk Food Protect., 1989, 52, 642
MC ERLEAN B.A., Salmonella dublin. Meningitis in piglets, Vet. Rec., 1968, 82, 111
PHS WORKING GROUP, Salmonellas in pigs and animal feedingstuffs in England and Wales and in Denmark, J. Hyg. Camb., 1972, 70, 127
ROBINSON R.A. e Coll., Age susceptibility and excretion of *Salmonella typhimurium*, J. Hyg. Camb., 1968, 66, 207
SINELL H.J. e Coll., Estimation of Most Probable Number of *Salmonella* in retail samples of minced pork, Int. J. Food Micr.,
SANFORD S.E., Isolations of *Salmonella cholerae-suis* var. *kunzendorf* from swine herds in southwestern Ontario, Can. Vet. J., 1994, 35, 303
WILLIAMS L.P. e Coll., Sources of Salmonellas in market swine, J. Hyg. Camb., 1968, 66, 281

1.5 EQUINI

CELANO G. e Coll., Ricerca di *Salmonella* spp. in linfonodi inguinali profondi di equini e suini regolarmente macellati, Obiett. Docum. Vet., 1996, 2, 79
MONTEVERDE J.J. e Coll., Microbiologia de alimentos. VI. Salmonelas en carne y ganglios linfaticos de equinos recién sacrificados. Bacteriologia de agua y liquidos residuales, Rev. Fac. Agronomia y Veterinaria, Buenos Aires, 1969, 17, 57
PIRE' E. e Coll., Ricerca di portatori sani di salmonelle in equini macellati a Bari, Igiene Mod., 1976, 69, 150
SATO G. e Coll., Clinical reactions and antibody responses of horses to chrome vaccine of *Salmonella abortus-equi*, Japan. J. Vet. Res., 1954, 2, 21
SEIDEL G. e Coll., *Salmonella* smear infections (dissemination of *Salmonella* in the abattoirs), Mh. Vet. Med., 1964, 19, 262

1.6 OVINI

COLOMBO M. e Coll., Phenotypie features and molecular characterisation of plasmids in *Salmonella aborus-ovis*, J. Gen. Micr., 1992, 138, 725
JACK J., *Salmonella abortus-ovis* : an atypical *Salmonella*, Vet. Rec., 1968, 82, 558
SIERRA M. e Coll., Evaluation of selective enrichment and plating media for detection of *Salmonella* and *Yersinia enterocolitica* on fresh lamb carcasses, Arch. Lebens., 1996, 47, 57
UZZAU S. e Coll., Host adapted serotypes of *Salmonella enterica*, Epidemiol. Infect., 2000, 125, 229

1.7 CONIGLI

BULLING E., Verbreitung der Salmonella-Infektionen bei Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln in Bundesrepublik Deutschland (1963, 1964, 1965), Bundesgesundheits., 1966, 2, 17
BUXTON A., Salmonellosis in fur-bearing animals (ind. Rabbits), Salmonellosis in animals, 1957, 53, 103
CECH A., Metritis paratyphosa bei Kaninchen. Ein Beitrag zu dem paratyphuser Krankungen der Versuchstiere, Zbl. Bakt. Abt., 1927, 71, 2
COHORS P. e Coll., Salmonellosen (Kaninchen), Patologie der Laboratoriumstiere, 1958, 14
CORSICO G., *Salmonella* in the organs of rabbits, Clin. Vet., 1960, 83, 257
GAROFOLO C., Enzoozia da Bac. Paratifo B Breslavia in un allevamento di conigli, Clin. Vet., 1936, 59, 527
GOSH G., Salmonellosis in guinea-pigs, rabbits and pigeons, Indian Vet. J., 1960, 37, 144
GUALANDI G.L., Le carni di coniglio quale fonte di tossinfezione alimentare nell'uomo, Clin. Vet., 1948, 71, 313
HAJE N., Salmonellosis in rabbits caused by *Salmonella typhimurium*: Preliminary report, Proc. 8th Nord. Vet. Congr., Helsinki, 1958, 140
INTERNAT. ENCYCLOP. VET. MED., Diseases of rabbits (Salmonellosis), 1966, 4, 2511
LESBOUYRIES M., Paratyphose du lapin, Rec. Med. Vet., 1931, 107, 257
OLNEY J., Pullorosi nei conigli, J.A.V.M.A., 1928, 73, 631
PIGOURY L., Outbreak of *Salmonella typhimurium* var. *copenhagen* infection in rabbits, Rev. Cps. Vet. Armée, 1959, 14, 127
ROSSI E., *Salmonella typhimurium* nei conigli, Atti SISV, 1952, 6, 599
SALM. REF. LAB. COLINDALE, Ceppi di *Salmonella* isolati da conigli e lepri negli anni 1951-1953, Monthly Bull., 1965, 24, 166
SANDFORD J.C., *Salmonella* infections in rabbits, The Domestic Rabbit, 1963, 242
SPREHN C., Salmonellosensepsis (Vorkommen und Diagnose), Kaninchen Krankheiten, 1956, 43
VAITKUS J., Pathology of *Salmonella typhimurium* infection in rabbits, Trudy Litovsk. Vet. Akad., 1958, 4, 83
WITTE J., Beitrag zur Infektionen des Kaninchen mit dem *Bakterium enteritidis breslaviense*, Arch. Tierheilk., 1932, 65, 344

1.8 ALTRI D'ALLEVAMENTO

CHEYNE I.A. e Coll., An outbreak of salmonellosis in camels in the north-east of the Somali Democratic Republik, Trop. Animal Hlth. Prod., 1977, 9, 238
COMINAZZINI C., Salmonellosi negli animali domestici, Giorn. Mal. Inf. Parass., 1964, 16, 28
GROSSKLAUS B. e Coll., I batteri *Salmonella* presenti nelle lepri e nei polli vengono distrutti con la cottura arrosto e alla griglia ?, Fleischwirtsch., 1967, 47, 114
HAGEN O., Presenza delle salmonelle in trote iridee in acque infette con *Salmonelle*, Nord. Vet. Med., 1966, 18, 516
HOSZOWSKY A., Evaluation of *Salmonella* isolation methods from animal faeces, Bull. Vet. Inst. Pulawy, 1990, 32-33, 1
INTERNAT. ENCYCLOP. VET. MED., Salmonellosi negli animali domestici, 1966, 5, 2642
KARLOVIC M. e Coll., Salmoneloza americkog minka, Vet. Arhiv, 1975, 45, 225
KARSTEN A., Zur Atiologie der paratyphuser Krankungen unserer Haustiere auf grund der im Tierseucheninstitut zu Hannover festgestellten Paratyphusbefunden, Deutsch. Tierarztl. Wochenschr., 1927, 1, 781
KRESSMANN H., Untersuchungen von importiertem tiefgefrorene Hasenfleisch argentiniscer Herkunft, Arch. Lebans., 1963, 14, 81

LOTFI Z., Un focolaio di salmonellosi in bufali d'Egitto, J. Arab. Vet. Med. Assoc., 1965, 25, 219
MARGARD W. e Coll., Occurrence of unusual *Salmonellae* in laboratory mice, J. Bacteriol., 1963, 85, 1451
MATSUMOTO H., Studi sulle Salmonelle nei cani, Bull. Univ. Osaka Prefect., 1966, 818, 71
NABB P., Influence of dietary factors upon *Salmonella typhimurium* infection in the guinea-pig, J. Nutrition, 1964, 84, 2
ROMANO R. e Coll., Valutazioni eziologiche delle salmonellosi degli animali domestici nella regione Campania, Atti SISV, 1984, 38, 669
SMITH H. e Coll., Isolamento delle salmonelle dalle feci di animali domestici, Brit. Med. J., 1951, 1, 1478
STOLL L. e Coll., *Salmonella* - Isolierung bei Katzen, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1975, 88, 455

2. UOMO

ANON., Salmonelles on Suisse 1984 - 1989, Bull. Off. Fed. Santé Publ., 1990, 681
ALOSI C e Coll., Ricerche sui portatori sani diffusori di *Salmonella*, Ann. Fac. Med. Vet. Univ. Messina, 1973, 10, 87
ANDREONI O. e Coll., Isolamento delle salmonelle *stanley*, *haifa*, *saint-paul* in casi sporadici di enteropatie infantili, Igiene Mod., 1964, 57, 627
BANFFER R.J., Comparison of the isolation of *Salmonellae* from faeces by enrichment at 37 °C and at 43 °C, Zbl. Bakt. I Abt., 1971, 217, 35
BISICCHIA R. e Coll., Confronto fra biosierotipi di *Salmonella* isolate dall'uomo, dagli animali e dagli alimenti nel periodo aprile 1976 - maggio 1977 rispetto ai biosierotipi isolati nel periodo 1973 - 1975, Giorn. Mal. Infett. Parass., 1979, 31, 276
BREUNUNG M. e Coll., Die Bedeutung des in vitro Antibiogramms bei der Sanierung von Kindern mit Enteritis-*Salmonella*-Infektionen, Zbl. Bakt. Orig., 1967, 204, 355
CAROLI G. e Coll., Su un episodio epidemico di *Salmonella oranienburg* in una collettività infantile, Riv. Ital. Igiene, 1966, 26, 95
CASTAGNOLI G., Carica batterica necessaria per l'insorgenza della malattia nell'uomo, dopo somministrazione a volontari di varie cariche batteriche, Giorn. Avicole Varesine, V° Conv. Soc. Ital. Patol. Aviare
EDEL W. e Coll., Epidemiological studies on *Salmonella* in a particular area : the presence of *Salmonella* in man, swine, insects and seagulls as well as in foods and effluents, Tijdschr. Diergeneesk., 1975, 24, 1304
EDWARDS P., The occurrence of bacteria of the *Arizona* group in man, Canad. J. Micr., 1956, 2, 281
EDWARD P., Frequenza e distribuzione del gruppo *Arizona* negli animali e nell'uomo, Bull. WHO, 1956, 14, 511
FIEVEZ L. e Coll., Ouvriers de l'industrie de la viande porteurs de *Salmonella*, Ann. Med. Vet., 1973, 117, 207
GIORGIO A. e Coll., Biologia della *Salmonella wien*, Ann. Sclavo, 1976, 18, 563
GRANVILLE A. e Coll., Ouvriers de l'industrie de la viande porteurs de *Salmonella*, Ann. Med. Vet., 1969, 113, 224
HALL H. e Coll., Examination of faeces from food handlers for *Salmonellae*, *Shigellae*, enteropathogenic *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens*, Appl. Micr., 1966, 14, 928
KAMPELMACHER E., Salmonellosi in Olanda, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 647
LEE J.A., Recent trends in human salmonellosis in England and Wales : the epidemiology of prevalent serotypes other than *Salmonella typhimurium*, J. Hyg. Camb., 1974, 72, 185
LE MINOR L., La *Salmonella dublin* 9,12 Vi : g,p - nell'uomo, Ann. Inst. Pasteur, 1964, 107, 550

LOEWENSTEIN M.J., An outbreak of salmonellosis propagated by person - to - person transmission on an Indian Reservation, Am. J. Epidemiol., 1975, 102, 257
MAMMINI P e Coll., Aspetti sierologici e colturali delle salmonellosi
MARTIN W.J. e Coll., Prevalence of serotypes of *Salmonella*, Appl. Micr., 1969, 17, 11 nell'uomo e in alcune specie animali, Ann. Sclavo, 1965, 7, 701
MITCHELL R.B. e Coll., Tossinfezione alimentare da *Salmonella pullorum* fra il personale addetto ad una base dell'aviazione militare americana, J. Inf. Dis., 1946, 79, 57
MURASE T. e Coll., Fecal excretion of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* following a food-borne outbreak, J. Clin. Microbiol., 2000, 38, 3495
MURPHY W. e Coll., Two outbreaks of gastroenteritis apparently by a paracolon of the *Arizona* group, J. Inf. Dis., 1950, 86, 253
OOSTEROM J., Epidemiological studies and proposed preventive measures in the fight against human salmonellosis, Int. J. Food Micr., 1991, 12, 41
PACINI R. e Coll., Sierotipi di *Salmonella* isolati dall'uomo e dagli animali, Ind. Alim., 1994, 33, 1113
PHLS (Public Health Laboratory Service), International surveillance network for the enteric infections, *Salmonella* and VTEC O157, Enter-net Quarterly Salmonella Report - 00/2, 2000
PIETKIEWICZ K. e Coll., Salmonellosis in man in Poland, 1957 - 66, Publ. Health Rep., 1969, 84, 712
PLOWS C.D. e Coll., An *Arizona* serotype isolated from a case of gastro-enteritis in Britain, J. Hyg. Camb., 1968, 66, 109
RABSCH W. e Coll., Non-typhoidal salmonellosis: emerging problems, Microbes and Infections, 2001, 3, 237
RICHARDSON N., Infezione da *Salmonella* e *Shigella* in un gruppo di ragazzi bantu in una scuola urbana del Sud Africa, J. Hyg., 1966, 64, 245
RUIZ J e Coll., Comparison of five plating media for isolation of *Salmonella* species from human stools, J. Clin. Microbiol., 1996, 34, 686
SALVO S. e Coll., Episodio circoscritto di enterite acuta da *Salmonella wien* in un reparto ostetrico, Igiene Mod., 1976, 69, 436
SCOTTI G e Coll., Le salmonellosi nell'uomo, Omnia Medica ed., Pisa, 1950
SCUDERI G. e Coll., Results from the first computerised italian surveillance of human *Salmonella* isolates, Microbiologica, 2000, 23, 367
SMITH W., Salmonellosis : the present position in man and animals, Vet. Rec., 1967, 80, 142
VERNON E., Frequenza degli isolamenti di sierotipi di *Salmonella* divisi per anno, località, prodotto, Monthly Bull., 1965, 24, 165
WINKLE S. e Coll., Esperienze diagnostiche ed epidemiologiche del Centro per le Salmonelle di Amburgo, Arch. Hyg., 1964, 148, 388

3. ALIMENTI

BRGLEZ J. e Coll., Salmonelle negli alimenti, Vet. Glasn., 1967, 21, 119
CANTONI C. e Coll., Salmonelle ed alimenti di origine animale : 1990 - 91, Ind. Alim., 1991, 30, 960
EDEL W. e Coll., Comparative studies on *Salmonella* isolation in eight european laboratories, Bull. WHO, 1968, 39, 487
GIANNUZZO E. e Coll., Su un episodio di tossinfezione alimentare da *Salmonella typhimurium*, Giorn. Batt. Immunol., 1967, 557
JANEWAG C.M. e Coll., Foodborne outbreak of gastroenteritis possibly of multiple bacterial etiology, Am. J. Epidemiol., 1971, 94, 135
LEISTNER L., Compiti attuali e futuri della microbiologia alimentare, Fleischwirtsch., 1967, 47, 25

LENNINGTON K.R., The food-borne disease problem today, J. Milk Food Technol., 1967, 30, 372
MOSSEL D.A.A., La sopravvivenza delle salmonelle nei diversi prodotti alimentari, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 551
RIEMANN H., Effect of water activity on the heat resistance of *Salmonella* in dry materials, Appl. Micr., 1968, 16, 1621
SCHOTORST M., Salmonelle negli alimenti. Frequenza e controllo, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 157
STREICHEN D., Das Verhalten einiger menscenpathogener Keime und Bakterientoxine in Lebensmitteln und ihre Abtotung durch eine Hitzbehandlung der Lebensmittel, Arch. Lebens., 1967, 18, 284
TAYLOR J., Isolamento delle salmonelle da campioni di alimenti, Appl. Micr., 1958, 6, 189
TAYLOR J., Sierotipi di salmonelle isolati da alimenti, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 660
TECCE N. e Coll., Su di un episodio di tossinfezione alimentare da *Salmonella dublin*, Ann. San. Publ., 1967, 6, 1359
THATCHER F.J., The microbiology of specific frozen foods in relation to public health. Report of an International Committee, J. Appl. Micr., 1963, 26, 266
THOMAS C. e Coll., Thermal resistence of *Salmonellae* and *Staphylococci* in foods, Appl. Micr.,1966, 14, 815
VELAUDAPILLAI T. e Coll., *Salmonellas*, Shigellas and enteropathogenic *Escherichia coli* in uncooked food, J. Hyg. Camb., 1969, 67, 187
VERDER A., *Arizona* negli alimenti, J. Food Sci., 1961, 26, 618
WINKLES L. e Coll., Studies on *Arizona* infections on the occasion of a mass-food-poisoning occurring in Hamburg, Zbl. Bakt. Hyg. Orig., 1972, 155, 401

3.1.1 CARNI

ARROYO G. e Coll., Efficiency of different enrichment and isolation procedures for the detection of *Salmonella* serotypes in edible offal, J.Appl. Bact., 1995, 79, 360
BECKER G. e Coll., Uber die Hitresistenz von Salmonellen in Bruhwurst, Arch. Lebens., 1967, 18, 276
BOZZANO A.I. e Coll., Occurrence of *Salmonella* in pork meat and processed pork products in the Latium region (Central Italy) from 1980 to 1989, Ital. J. Food Sci., 1993, 2, 167
BRAGA A. e Coll., Incidenza delle salmonelle nelle salsicce, Igiene Mod., 1964, 11-12, 688
BRAGA A., Salmonelle nelle carni e alimenti di largo consumo : possibilità di sopravvivenza e di moltiplicazione, Igiene Mod., 1964, 11-12, 648
BURNETT R. e Coll., *Salmonella* food poisoning associated with imported canned meat, J. Hyg., 1967, 65, 1
BUROW H. e Coll., Unterschiedliche *Salmonella* - serovaren in Gewurzen, gewurzten Chips and anderen Lebensmitteln, Fleischwirtsc., 1966, 76, 640
CALVAN H., Vitalità delle salmonelle naturalmente presenti nelle carni, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 152
CORTI G., La sopravvivenza delle salmonelle negli insaccati crudi, Arch. Vet. It., 1952, 3, 499
ELMOSSALAMI E. e Coll., Penetration of some microrganisms in meat, Zbl. Vet. Med. B, 1971, 18, 329
FOSTER R.D. e Coll., Effect of temperature and added polyphosphate on the survival of *Salmonellae* in poultry meat during cold storage, J. Appl. Bact., 1976, 41, 505
GEORGALA D.L., Un sistema per ritrovare le salmonelle nelle carni e nei sottoprodotti di carni, J. Appl. Bact., 1965, 28, 206
GEORGALA D.L. e Coll., Methods for the detection of *Salmonellae* in meat and poultry, Shapton D.A. e Coll., Isolation Methods for Microbiologists, APHA, New York, USA, 1969
GIOLITTI G., Sulla presenza di *Arizona* nelle farine e nelle carni, Atti Giorn. Studio su Esame Batt.

Carni, 1965, 223
HARWEY R., Salmonelle del *sub-genus* III (*Arizona*) isolate da mattatoi in Inghilterra e nel Galles, J. Hyg., 1966, 64, 271
HEIDRICH D., Comparative evaluation of tetrathionate broth and selenite broth for the demonstration of *Salmonella* in bovine faeces and in bacteriological meat inspection, Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 1963, 70, 595
KAFEL S. e Coll., Transfer volume-dependent recovery of *Salmonella* from minced meat, J. Food Protect., 1987, 50, 584
KAMPE A., *Salmonelle* e controllo batteriologico delle carni, 1st Symp. W.A.V.F.H., 1956, 83
MARENZI C., L'ispezione delle carni avicole, con particolare riferimento al rinvenimento di *Salmonella* spp., Zootecnica Int., 1992, 9, 62
MOSSEL D.A.A., e Coll., Bacteriological and quality perspectives of *Salmonella* radicidation of frozen boneless meats, Alimenta, 1972, 11, 51
NOVOTNY F., Salmonellenfunde der Veterinaramtlichen Untersuchungstelle des Wiener Schlachthofes St. Mark in den Jaren 1954 - 1965, Wiener Tierarztl. Monat., 1967, 54, 104
PAINI A. e Coll., Sulla presenza di salmonelle in alcuni campioni di insaccati (salsicce), Igiene Mod., 1966, 3-4, 218
PALUMBO S.A. e Coll., Microbiology of frankfurter process : *Salmonella* and natural aerobic flora, Appl. Micr., 1974, 27, 724
PANTALEON J., Contributo allo studio della batteriologia delle carni, 1st Symp. W.A.V.F.H., 1956, 87
PANTALEON J., Presenza delle salmonelle nelle carni francesi e straniere, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 598
PITRE J., L'examen bactériologique des viandes fraiches, Rec. Med. Vet., 1968, 144, 229
RASCH K., Zur Salmonellendiagnostik in der bakteriologischen Fleischuntersuchung, Arch. Lebens., 1956, 7, 10
RISLAKKI V., Investigation on *Salmonella* in Pretoria slaughterhouse and butcher shops, Nord. Vet. Med., 1969, 21, 260
ROZIER J., Ricerca delle salmonelle nelle carni importate controllate per motivi diversi, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 155
SALVI A. e Coll., La ricerca di *Salmonella* spp. nella carne macinata cruda con la tecnica Malthus, Ind. Alim., 1993, 32, 738
SCHILLINGER U. e Coll., Hemmung des Salmonellenwachstums in frischer, streichfahiger Mettwurst ohne Zuckerstoffe, Fleischwirtsch., 1988, 68, 1056
SCHMIDT U., Vorkommen und Verhalten von Salmonellen im Hackfleisch vom Schwein, Fleiscwirtsch., 1988, 68, 43
SIRONI A., Contributo alla differenziazione rapida delle salmonelle nell'esame batteriologico delle carni, Clin. Vet., 1952, 365
TAYLOR W., Tecniche di ricerca delle salmonelle nelle carni, Ann. Inst. Pasteur, 1953, 104, 638
VASSILIADIS P., Recherche de *Salmonella* dans des produits carnés, Rec. Med. Vet., 1981, 157, 581
VIVOLI G. e Coll., Indagine sulle condizioni microbiologiche di alcuni tipi di insaccati in vendita nella città di Modena, Riv. It. Igiene, 1964, 24, 304
WEISSMANN M.A. e Coll., Incidence of *Salmonellae* in meat and meat products, Appl. Micr., 1969, 17, 899
WERNER S.B. e Coll., Salmonellosis from chickens preparad in commercial rotisseries : report of an outbreak, Am. J. Epidemiol., 1969, 90, 429
WILSON E., Prevalence of *Salmonellae* in meat and poultry products, J. Inf. Dis., 1961, 109, 166

3.1.2 LATTE E DERIVATI

ARMSTRONG R. e Coll., Epidemic *Salmonella* gastroenteritis due to contaminated imitation ice-cream, Amer. J. Epidemiol., 1970, 91, 300
BECKER H. e Coll., Kultureller Nachweis von Salmonellen in Rohmilch. Teil 1 : Literaturubersicht, 1994, 44, 129
D'AOUST J.Y. e Coll., Thermal inactivation of *Salmonella* species in fluid milk, J. Food Protect., 1987, 50, 494
DEGA C.A., Growth of *Salmonella typhimurium* in skim milk concentrates, Appl. Micr., 1972, 23, 82
FLEET G.H. e Coll., A rapid method for enumerating *Salmonella* in milk powders, Letters Appl. Micr., 1991, 13, 255
HAMAMA A. e Coll., An improved pre-enrichment medium for recovery of *Salmonella* from traditional moroccan dairy products, M.A.N., 1995, 13, 71
HAMMACK T.S. e Coll., Abbreviared pre-enrichment period recovery of *Salmonella* spp. from selected low-moisture dairy foods, J. Food Protect., 1993, 56, 201
HARGROVE R.E. e Coll., Factors affecting survival of *Salmonella* in cheddar and colby cheese, J. Milk Food Technol., 1969, 32, 480
HARGROVE R.E. e Coll., A selective medium and presumptive procedure for detection of *Salmonella* in dairy products, 1971, 34, 8
LANG K., Zum Problem der Untersuchung von Milch und Milcherzeugnissen auf *Salmonella* - und *Shigella* keime, Ach. Lebens., 1968, 19, 218
LANG K., Untersuchungen zur Kultur der *Salmonella* - und *Shigella* keime aus Milch und Milcherzeugnissen mittels des Anreicherungsverfahrens, Lebensm., 1969, 20, 121
LICARI J.J. e Coll., *Salmonella* survival during spray drying and subsequent handling of skimmilk powder. 1. *Salmonella* enumeration, J. Dairy Sci., 1970, 53, 865
MALASPINA P.M. e Coll., Impiego di un nuovo terreno solido selettivo per la ricerca di *Salmonella* spp. in prodotti lattiero-caseari, Il latte, 1993, 18, 770
MARTH E.H., *Salmonellae* and salmonellosis associated with milk and milk products. A review, J. Dairy Sci., 1969, 52, 283
MOCQUOT G., Sopravvivenza delle salmonelle nei formaggi, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 570
OPARA O.O. e Coll., Evaluation of possible alternatives to double-strenght skim milk used to saturate drag-swabs for *Salmonella* detection, Avian Dis., 1994, 38, 293
PARK H.S. e Coll., Survival of *Salmonella typhimurium* in cold-pack cheese food during refrigerated storage, J. Milk Food Technol., 1970, 33, 383
POELMA P.L. e Coll., Recovery of *Salmonella* species from nonfat dry milk rehydrated under rapid and reduced pre-enrichment conditions. Collaborative study, J. AOAC, 1984, 67, 807
RAY B. e Coll., Isolation of *Salmonellae* from naturally contaminated dried milk products, J. Milk Food Technol., 1972, 35, 607
READ R. e Coll., Thermal resistance of *Salmonellae* isolated from dry milk, Appl. Micr., 1968, 16, 998
SCHROEDER S.A., What the sanitarian should known about *Salmonellae* and *Staphylococci* in milk and milk products, J. Milk Food Technol., 1967, 30, 376
SIMS J.E. e Coll., Effects of time and temperature on *Salmonellae* in inoculated butter, J. Milk Food Technol., 1969, 32, 485
TALAAT EL-KHATEIB, Effect of garlic on *Salmonellae* in egyptian kofta, Fleischwirtsch., 1987, 67, 1503
WIESNER H.U., Zur mikrobiologischen Qualitat der Trinkmilch, Arc. Lebens., 1971, 22, 86
WILSON C. e Coll., Recovery of *Salmonella* from fluid milk, J. Food Protect., 1988, 51, 409
WRIGHT E., *Salmonella*.....and the dairyman, Hoard's Dairyman, 1967, 477

3.1.3 UOVA E DERIVATI

ANON., Isolamenti di salmonelle da albume secco di uova, Appl. Micr., 1961, 9, 188
ANON., Disposizioni ufficiali germaniche sull'esame dei prodotti di uova, Vorschr. Veter., 1967, 15, 123
ARMSTRONG R.W. e Coll., Epidemic *Salmonella gastroenteritis* due to contaminated imitation ice cream, Amer. J. Epidemiol., 1970, 91, 300
AYRES C., Salmonelle nell'albume secco di uova, 1st Congr. Food Sci. Technol., 1967, 443
BAKER R.C., Survival of *Salmonella enteritidis* on and in shelled eggs, liquid eggs and cooked egg products, Dairy, Food and environm. sanitat., 1990, 10, 273
BANWART G.J., Further studies on the screening technique for determining *Salmonella*-negative samples of pasteurized dried egg, Poultry Sci., 1969, 48, 235
BARON F. e Coll., Factors involved in the inhibition of growth of *Salmonella enteritidis* in liquid egg white, J. Food Protect., 1997, 60, 1318
BIGLAND C.H. e Coll., Experiment in egg penetration by *Salmonella*, Comp. Med. Vet. Sci., 1953, 17, 105
BORELLO B. e Coll., Influenza della temperatura di conservazione sulla replicazione di *Salmonella enteritidis* nelle uova, Riv. Avicolt., 1995, 39
BRADSHAW J.G. e Coll., Growth of *Salmonella enteritidis* in yolk of shell eggs from normal and seropositive hens, J. Food Protect., 1990, 53, 1033
BRAUN P. e Coll., Migration of *Salmonella enteritidis* from the albumen into the egg yolk, Int. J. Food Micr., 1995, 25, 95
BROOKES M., Ventidue nuovi sierotipi di *Arizona* isolati da noci di cocco, farina d'ossa, uova seccate e rettili, Monthly Bull., 1966, 25, 230
BUCHNER L. e Coll., Zum Nachweis von Salmonellen in Huhnereiern unter Berucksichtigung eines Stichprobenplanes im Jahr 1991, Ach. Lebans., 1992, 43, 99
CATALANO C.R. e Coll., Destruction of *Salmonella enteritidis* by high pH and rapid chilling during simulated commercial egg processing, J. Food Protect., 1994, 57, 592
CATALANO C.R. e Coll., Incidence of *Salmonella* in Pennsylvania egg processing plants and destruction by high pH, J. Food Protect., 1994, 57, 587
CEE, Second Draft Report on hygienic parameters for the storage of shell eggs, Com. Pers., 1992
CLAREMBURG A., Igiene delle uova e sottoprodotti di uova, 1st Symp. W.A.V.F.H., 1956, 175
CORRY J. e Coll., The heat resistance of *Salmonellae* in egg albumen, Br. Poultry Sci., 1968, 9, 253
COX J., *Salmonella enteritidis* : the egg and I, Austral. Vet. J., 1995, 72, 108
D'AOUST J.Y. e Coll., Detection of *Salmonella* in dry foods using refrigerated pre-enrichment broth cultures : interlaboratory study, J. AOAC, 1993, 76, 814
DUGUID J.P. e Coll., Eggs and *Salmonella* food-poisoning : an evaluation, J. Med. Microbiol., 1991, 34, 65
FEHLHABEL K. e Coll., Untersuchungen zum Eindringen von *Salmonella enteritidis* aus dem Eiklar in das Dotter von Huhnereiern und zur Hitzeinaktivierung beim Kochen und Braten, Arch. Lebens., 1993, 44, 59
GANDON Y., Le salmonelle nelle uova e sottoprodotti di uova in Francia e all'estero, Ann. Inst. Pasteur, 1963, 104, 584
GAST R.K. e Coll., Current ars research on *Salmonella enteritidis* in chickens : experimantal infections in laying hens, Dairy, Food, Environm. Sanitat., 1990, 10, 276
GAST R.K. e Coll., Detection and enumeration of *Salmonella enteritidis* in fresh and stored eggs laied by experimentally infected hens, J. Food Protect., 1992, 55, 152
GAST R.K., Detection of *Salmonella enteritidis* in experimantally infected laying hens by culturing pools of egg contents, Poultry Sci., 1993, 72, 267
GAST R.K., Immersion in boiling water to disinfect egg shells before culturing egg contents for *Salmonella enteritidis*, J. Food Protect., 1993, 56, 533

GAST R.K., Evaluation of direct plating for detecting *Salmonella enteritidis* in pools of egg contents, Poultry Sci., 1993, 72, 1611
GAST R.K. e Coll., Differences in the multiplication of *Salmonella enteritidis* strains in liquid whole egg : implications for detecting contaminated eggs from commercial laying flocks, Poultry Sci., 1995, 74, 893
GAST R.K. e Coll., Iron supplementation to enhance the recovery of *Salmonella enteritidis* from pools of egg contents, J. Food Protect., 1995, 58, 268
GREUEL E. e Coll., Untersuchungen zur Uberlebensfahingkeit von *Salmonella enteritidis*, phagentyp 4,8 und 34 in experimenell Kontaminatiertem Eilikor, Arch. Lebens., 1995, 46, 73
HAFEZ H.M. e Coll., Effect of sample selection from experimantally contaminated hatching eggs end freshly hatched chicks aon *Salmonella enteritidis* detection rate, Dtsch. Tierarztl. Wochenschr., 1992, 99, 473
HAMMACK T.S. e Coll., Growth of *Salmonella enteritidis* in grade A eggs during prolonged storage, Poultry Sci., 1993, 72, 373
HOGUE A. e Coll., Epidemiology and control of egg-associated *Salmonella enteritidis* in the United States of America, Rev. Sci. Techn. Off. Int. Epiz., 1997, 16, 542
HUMPHEREY T.J. e Coll., The survival of Salmonellas in shell eggs cooked under simulated domestic conditions, Epidemiol. Inf., 1989, 103, 35
HUMPHEREY T.J. e Coll., *Salmonella enteritidis* phage type 4 from the contents of intact eggs : a study involving naturally infected hens, Epidemiol. Inf., 1989, 103, 415
HUMPHEREY T.J., Public health implications of the infection of egg-laying hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4, World's Poultry Sci., 1990, 46, 5
HUMPHEREY T.J. e Coll., Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hen's eggs, Epidemiol. Infect., 1991, 106, 489
HUMPHEREY T.J. e Coll., Egg age and the growth of *Salmonella enteritidis* PT 4 in egg contents, Epidemiol. Infect., 1993, 3, 209
HUMPHEREY T.J., Contamination of egg shell and contents with *Salmonella enteritidis* : a review, Int. J. Food Micr., 1994, 21, 31
JONES F.T. e Coll., *Salmonella* contamination in commercial eggs and an egg production facility, Poultry Sci., 1995, 74, 753
KAMPELMACHER E.H. e Coll., Isolamento di salmonelle da prodotti di uova in Olanda (1952-1960), Zbl. Bakt., 1962, 185, 490
KIEFER H., Mikrobiologie der Eier und Eiprodukte, Arch. Lebens., 1976, 27, 197
KIRKHAM W.K. e Coll., Membrane filter method for the detection and enumeration of *Salmonella* in egg albumen, Poultry Sci., 1962, 41, 1082
KNOWLES N.B., *Salmonellae* in eggs and egg products, Poultry Diseases, Gordon ed., Edimburg, England, 1971, 81
KOTULA L., Aspetti della riduzione della *Salmonella* nella lavorazione e commercializzazione delle uova, Zootecnica, 1977, 24
KUO F. e Coll., UV irradiation of shell eggs : effect on population of aerobes, molds and inoculated *Salmonella typhimurium*, J. Food Protect., 1997, 60, 639
LOCK J.L. e Coll., Persistence of contamination of hen's egg albumen in vitro with *Salmonella* serotypes, Epidemiol. Infect., 1992, 108, 389
LOCK J.L. e Coll., The fate of *Salmonella enteritidis* PT 4 in deliberately infected commercial mayonnaise, Food Micr., 1994, 11, 499
LOUVOIS J., *Salmonella* contamination of eggs, Lancet, 1993, 342, 966
MADDEN J.M., *Salmonella enteritidis* contamination of whole chicken eggs, Dairy, Food Environm. Sanitat., 1990, 10, 268
MAGGI E., Salmonelle isolate dal guscio di uova con o senza lavaggio esterno, Riv. Zoot. Agr. Vet., 1965, 10, 11
MC ELROY A.P. e Coll., Evaluation of a centrifugation method for the detection of *Salmonella ente-*

ritidis in experimentally contaminated chicken eggs, J. Food Protect., 1995, 58, 931
MILLER J., Misure per garantire l'indennità da salmonelle nelle uova e sottoprodotti di uova, 4th Symp. W.A.V.F.H., 1965, 301
MIYAMOTO T. e Coll., *Salmonella* penetration through egg shell associated with freshness of laid eggs and refrigeration, J. Food Protect., 1998, 61, 350
MORRIS G.K., *Salmonella enteritidis* and eggs : assessment of risk, Dairy, Food Environm. Sanitat., 1990, 10, 279
MOSSEL D.A.A., Rapid detection of subletally impaired cells of *Enterobacteriaceae* in dried foods, Appl. Micr., 1970, 20, 273
NORTH W., Pre-arricchimento al lattosio per l'isolamento delle salmonelle da albume secco di uova, Appl. Micr., 1961, 9, 188
PADRON M., Egg dipping in hydrogen peroxide solution to eliminate *Salmonella typhimurium* from egg shell membranes, Avian Dis., 1995, 39, 627
PANTALEON J. e Coll., *Salmonella typhimurium* ramnosio-negativa come causa di tossinfezione alimentare da uova, Rapp. Serv. Vet. Paris, 1961
PAVIC S. e Coll., Research into thermal resistence of *Salmonella enteritidis* phagovar 2 in the culinary preparation of eggs, Arch. Lebens., 1997, 48, 25
PHELPS H., UK minister claims egg industry riddled with *Salmonella*, Feedstuffs, 1988, 12, 4
POELMA P.L., Detection and identification of *Salmonella* from dried whole egg, dried egg yolk and dried egg white : report of a collaborative study, J. AOAC, 1967, 50, 753
REGLICH K. e Coll., Experimentelle Untersuchungen zum Verhalten von *Salmonella enteritidis* in eiklar, Arch. Lebens., 1992, 43, 101
REINKE W. e Coll., The effect of pasteurizing liquid whole egg on viscosity, alfa-amylase and *Salmonella senftenberg*, Poultry Sci., 1966, 45, 1321
ROESNER B. e Coll., Besiedlung von Huhnereiern durch *Salmonella enteritidis* PT 4 nach ausserlicher Kontamination, Arch. Lebens., 1995, 46, 49
SCHOENI J.L. e Coll., Growth and penetration of *Salmonella enteritidis*, *Salmonella heidelbergh* and *Salmonella typhimurium* in eggs, Int. J. Food Micr., 1995, 24, 385
SOLOMON S.E., "The eggshell V. *Salmonella* ": the case for the defence, Com. Pers., 1991
SPERBER W.H. e Coll., Accelerated procedure for *Salmonella* detection in dried foods and feeds involving only broth cultures and serological reactions, Appl. Micr., 1969, 17, 533
STEPHENSON P. e Coll., Recovery of *Salmonella* from shell eggs, J. AOAC, 1991, 74, 821
STEVENS A e Coll., A large outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 4 associated with eggs from overseas, Epidemiol. Infect., 1989, 103, 425
SUGIYAMA H. e Coll., Agglutinating antiserum for the isolation of *Salmonella* with special reference to isolation from egg albumen, Appl. Micr., 1960, 8, 205
THORNE G.M., *Salmonella* : the chickens and the eggs, Clin. Microbiol. Newsl., 1991, 13, 65
TIMONEY J.F. e Coll., Egg transmission after infection of hens with *Salmonella enteritidis* phage type 4, Vet, Rec., 1989, 125, 600
WANG H. e Coll., Rapid and economical detection of *Salmonella enteritidis* in eggs by the polymixin-cloth enzyme immunoassay, Int. J. Food Micr., 1995, 24, 397
WOODWARD M.J. e Coll., Detection of *Salmonella enteritidis* in eggs by the polymerase chain reaction, Vet, Rec., 1996, 138, 411

3.1.4 ACQUA

COLLABORATIVE REPORT, A waterborne epidemie of salmonellosis in Riverside, California, 1965. Epidemiologic aspects, Am. J. Epidemiol., 1971, 93, 33
KABLER W., Purification and sanitary control of water, Ann. Rev. Micr., 1962, 16, 127
MORINIGO M.A. e Coll., Comparative study of different methods for detection and enumeration of

Salmonella spp. in natural water, J. Appl. Bact., 1986, 61, 169
MORINIGO M.A. e Coll., Laboratory study of several enrichment broths for the detection of *Salmonella* spp. particulary in relation to water samples, J. Appl. Bact., 1993, 74, 330

3.1.5 ALTRI ALIMENTI PER L'UOMO

BOONMAR S. e Coll., Predominant serovars of *Salmonella* in humans and foods in Thailand, J. Vet. Med. Sci., 1998, 60, 877
FAO, Review of the state of world acquaculture, FAO Fisheries, Circular number 886, 1997, 163
FELDHUSEN F., The role of seafood in bacterial foodborne diseases, Microbes and infections, 2000, 2, 1651
IYER T.S.G. e Coll., On the pattern of *Salmonella* serotypes in fishery products, frog legs and processing environments, Fisheries Technol., 1989, 26, 131
OGBONDEMINU F.S., The occurrence and distribution of enteric bacteria in fish and water of tropical ponds in Nigeria, J. Acquacult. Trop., 1993, 8, 61
RAJ H., Enrichment medium for detection of *Salmonella* from fish omogenate, Appl. Micr., 1966, 14, 12
REILLY P.I.A. e Coll., *Salmonella* and *Vibrio cholera* in brackish water tropical prawns, Int. J. Food Micr., 1992, 16, 293
SAHEKI K. e Coll., *Salmonella* contamination of eel in culture ponds, Nippon Suisan Gakkaishi, 1989, 55, 675
THATCHER F.S., The microbiology of specific frozen foods in relation to public health : report of an International Committee, J. Appl. Bact., 1963, 26, 266
WILSON I.G. e Coll., Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish, Epidemiol. Infect., 1996, 116, 147
WYATT L.E. e Coll., Occurrence and control of *Salmonella* in freshwater catfish, J. Food Sci., 1979, 44, 1069

3.2.1 MANGIMI

ALLRED J.N. e Coll., A survey to determine the *Salmonella* contamination rate in livestock and poultry feeds, J.A.M.V.A., 1967, 151, 1857
BISHOFF H., *Salmonella bareilly* in knochenschrot, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1955, 68, 212
BISHOFF H., Zur Durchfuhrung der Entnahme und Untersuchung von Futtermittel Proben tierischen Herkunft, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1958, 71, 153
BORING C., Domestic fish meal as a source of *Salmonella*, Vet. Med., 1958, 53, 311
BOYER C. e Coll., *Salmonella* organisms isolated from poultry feeds, Avian Dis., 1958, 2, 396
BOYER C. e Coll., *Salmonella* organisms isolated from poultry feeds, Proc. 30th Northeastern Conf. Poultry Dis., 1958, 296
CARLSON V.L. e Coll., Effect of moisture on *Salmonella* populations in animal feeds, Poultry Sci., 1970, 49, 717
CLAREMBURG A., Salmonelle nelle farine d'importazione, Path. Biol., 1958, 6, 899
CLISE J.D. e Coll., *Salmonellae* from animal by-products, Publ. Hlth. Rep., 1965, 80, 899
COMES R. e Coll., Presenza di salmonelle in alimenti del commercio e in mangimi per zootecnia, Ann. San. Publ., 1971, 32, 707
CRANE F,M,, *Salmonella* in feedstuffs, Feedstuffs, 1965, 37, 49
CRANE F.M. e Coll., *Salmonella* in feedstuffs, Feedstuffs, 1966, 38, 8
D'AOUST J. e Coll., Rapid cultural methods for detection of *Salmonella* in feed and feed ingre-

dients, J. Food Protect., 1983, 46, 851
D'AOUST J. e Coll., Slow rehydratation for detection of *Salmonella* spp. in feed and feed ingredients, Appl. Environm. Microbiol., 1986, 51, 1220
DAWKINS H.C. e Coll., *Salmonella* in animal feeding-stuffs, Monthly Bull., 1967, 26, 215
DE OLIVEIRA A., Salmonelle nelle farine d'importazione, Bull. Off. Int. Epiz., 1957, 48, 336
DONAGHY J.A. e Coll., Impedance detection of *Salmonella* in processed animal protein and meat, Int. J. Food Micr., 1992, 16, 265
EDEL W. e Coll., Comparative studies un *Salmonella* isolations from feeds in ten laboratories, Bull. OMS, 1974, 50, 421
ERWIN L., Examination of prepared poultry feeds for the presence of *Salmonella* and other enteric organisms, Poultry Sci., 1955, 34, 215
FRANCHINI A. e Coll., Contaminazioni da salmonelle nelle materie prime e nei mangimi composti. Influenza sulle produzioni animali e sulle derrate alimentari. Metodi di analisi e di prelevamento, Zootecnica Int., 1996, 1, 36
GALTON M. e Coll., *Salmonella* isolations from dehydrated dog-meals, J.A.M.V.A., 1955, 126, 57
GALTON M. e Coll., *Salmonellae* in foods and feeds, Report US Publ. Hlth. Dept. Serv., Atlanta, USA, 1968
GERICHTER C., Comparazione dei metodi per l'isolamento delle salmonelle dalla farina d'ossa, Appl. Micr., 1966, 14, 711
GIOLITTI G., Sulla presenza di *Arizona* nelle farine e nelle carni, Atti Giorn. Studio su Es. Batt. Carni, 1965, 223
GRAY D., The ecology and control of *Salmonella* contamination in bonemeal, Austral. Vet. J., 1960, 36, 246
GRIFFIN C.A., A study of prepared feed in relation to *Salmonella* infection in laboratory animals, J.A. V.M.A.,1952, 197
GUNNARSON A. e Coll., *Salmonella* isolated fron animals and feedstuffs in Sweden over the period 1968 - 1972, Nord. Vet. Med., 1974, 26, 499
HARWEY H.I., Sierotipi di *Salmonella* ed *Arizona* isolati da ossa in polvere indiane usate per la preparazione di mangimi animali, Monthly Bull., 1962, 21, 54
HAUGE S., Fish meal and bacteriological problems in that product, Nord. Vet. Med., 1969, 21, 46
HEATHER G., Isolation of *Salmonella* from dog meals, Bol. Ofic. Sanit. Pan Amer., 1960, 48, 59
HIMATHONGKHAM S. e Coll., Heath destruction of *Salmonella* in poultry feed : effect of time, temperature and moisture, Avian Dis., 1996, 40, 72
ISA J., Controllo della contaminazione da *Salmonella* nei mangimi e costituenti di mangimi, Can. Vet. J., 1963, 4, 41
JACOBS J. e Coll., Studies on the incidence of *Salmonellae* in imported fish meal, Zbl. Vet. Med., 1963, 10 B, 542
KARLSSON K.A. e Coll., *Salmonella* isolated from animals and animal feeds in Sweden during 1958 - 1962, Nord. Vet. Med., 1963, 15, 833
KIESNER J., L' FDA non progetta un'offensiva massiva contro le salmonelle, Feedstuffs, 1966, 38, 1
LARAMORE C.R. e Coll., Fluorescent antibody technique in detection of *Salmonellae* in animal feed and feed ingredients, Appl. Micr., 1969, 17, 352
LEISNER L., The occurrence and significance of *Salmonellae* in meat animals and animal by-product feeds, Proc. 13th Res. Conf. Amer. Meat Institute Fundation, 1961, 9
LEWIS K. e Coll., Conteggio delle Salmonelle nei campioni di farine, Examination of foods, APHA, New York, USA, 1965, 29
LOKEN K. e Coll., Microbiological quality of protein feed supplements produced by rendering plants, Appl. Micr., 1968, 16, 1002
MALMQUIST M. e Coll., *Salmonella* isolated from animals and foodstuffs in Sweden during 1988 - 1992, Acta Vet. Scand., 1995, 36, 21
MALHOTRA F.C. e Coll., Quantitative determination of *Salmonella* organisms from poultry feed-

stuffs, Avian Dis., 1968, 12, 29
MOREHOUSE L. e Coll., *Salmonella* and other disease-producing organisms in animal by-products. A survey, J.A.M.V.A., 1961, 139, 989
MORRIS G.K. e Coll., *Salmonellae* in fish meal plants : relative amounts of contamination at various stages of processing and a method of control, Appl. Micr., 1970, 19, 401
MOSSEL D.A.A., Betrachtungen uber die Duirchfuhrung der hygienisch- bakteriologischen Beurteilung von Fishmehl, Arch. Lebens., 1958, 9, 3
MOYLE A.J., *Salmonellae* in rendering plant by-products, J.A.M.V.A., 1966, 149, 1172
MULDER W.A.W. e Coll., Rapid method for the isolation of *Salmonella* from broiler feed, Arch. Lebens., 1983, 34, 109
MULLER J., *Salmonelle* nelle farine d'importazione, Bull. Off. Int. Epiz., 1957, 48, 324
NIELSEN F.W., *Salmonelle* nelle farine d'importazione, Bull. Off. Int. Epiz., 1952, 38, 606
NIVEN C.F., Industry's role in reducing the incidence of *Salmonella* in animal feeds, Proc. 65th Ann. Meeting USA Liv. San. Assoc., Minnesota, 1961, 453
PAINI A. e Coll., Sierotipi rari di *Salmonella* nei mangimi zootecnici, Igiene Mod., 1970, 43, 395
P.H.L.S., *Salmonella* organisms in animal feeding stuffs, Monthly Bull., 1961, 20, 73
PIETSCH O. e Coll., Verbreitung der *Salmonella* - Infektionen bei Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin, Bundesgesundh., 1973, 16, 194
POMEROY B.S. e Coll., *Salmonella* organisms isolated from feed ingredients, Proc. 65th Ann. Meeting USA Livestock Sanit. Assoc., Minnesota, 1961, 449
POPPE H. e Coll., Ergebnisse und Erfahrungen bei der Einfuruntersuchung von Futtermittel tierischen Herkunft, Arch. Lebens., 1958, 12, 276
RACKOW H. e Coll., Results of bacteriological examination over three years of imported fish-, blood- and meat-meal, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1961, 74, 340
RADAN M. e Coll., *Salmonellae*, total *Enterobacteriaceae* and total bacterial counts in imported fish and meat meals, Refuah Vet., 1971, 28, 33
RAJ H., Salmonelle nelle farine di pesce, Appl. Micr., 1966, 14, 12
RASH K., Salmonellen in knochenschrot, Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 1955, 68, 213
REDAELLI G. e Coll., Contamination of meat and bone meals by *Salmonella*, Arch. Vet. It., 1965, 16, 453
REDAELLI G. e Coll., Sull'origine e sul meccanismo della contaminazione da salmonelle nelle farine animali per uso zootecnico, Arch. Vet. It., 1965, 16, 453
REUSSE U. e Coll., Feststellung des Enterobacteriacen-Gehaltes von Fishmehl zur Beurteilung der Salmonellen - Freiheit, Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., 1976, 162, 288
SAULMON E.E., Control of *Salmonella* contamination in eggs, feed and feed products, J.A.M.V.A., 1966, 149, 1691
SIDDIQUI Y., Study of *Salmonella* serotypes isolated from feedstuffs and their relative pathogenicity for turkeys and chickens, M.S. Thesis, Univers. Minnesota, 1964
SMELTZER T. e Coll., Microbiological quality of Queensland stockfeeds with special reference to *Salmonella*, Austral. Vet. J., 1980, 56, 335
SMITH P.J., A standard technique for the isolation of *Salmonella* from animal feeds, J. Hyg. Camb., 1977, 79, 449
SMYSER C.F. e Coll., Evaluation of several methods of isolating *Salmonella* from poultry litter and animal feedstuffs, Avian Dis., 1969, 13, 134
SMYSER C.F. e Coll., Isolation of *Salmonellae* from rendered by-products and poultry litter cultured in enrichment media incubated at elevated temperatures, Avian Dis., 1970, 14, 248
SVEUM W.H. e Coll., Time-release capsule method for the detection of *Salmonellae* in foods and feeds, Appl. Environm. Microbiol., 1977, 33, 630
TAKACS J. e Coll., Incidence of *Salmonella* in food products of animal origin in 1969 - 1970, Acta Vet. Acad. Hung., 1973, 23, 109
TUDOR C.D., *Salmonella* in feed and animal by-products, Feedstuffs, 1968, 40, 22

VAN SCHOTORST M. e Coll., The estimation of the hygienic quality of feed components using an *Enterobacteriaceae* enrichment test, Zbl. Vet. Med., 1966, 13, 19
VELDMAN A. e Coll., A survey of the incidence of *Salmonella* species and Enterobacteriaceae in poultry feeds and feed components, Vet. Rec., 1995, 136, 169
VET. LAB. SERV., Salmonelle nel bestiame e nei mangimi, J. Hyg., 1965, 63, 223
WATKINS J., Salmonelle nei prodotti animali usati per i mangimi dei polli, Avian Dis., 1959, 3, 290
WILLIAMS L.P. e Coll., A ten-month study of *Salmonella* contamination in animal protein meals, J.A.M.V.A., 1969, 155, 167
WINKLES S. e Coll., Isolamento di salmonelle da farina di noci di cocco, Zbl. Bakt. Orig., 1960, 179, 583
ZINDEL H.C. e Coll., *Salmonellae* in poltry feeds, Poultry Sci., 1968, 47, 1925

4. AMBIENTE

4.1 ACQUE LIBERE

FEY H. e Coll., Nachweis von Salmonellen in Fluss- und Abwassern sowie bei gesunden Schlachtscweinen in Genf, Schweitz. Arch. Tierheilk., 1961, 103, 519
KAMPELMACHER E.H. e Coll., Comparative studies on the isolation of *Salmonella* from effluents, Zbl. Bakt. Orig. B, 1973, 157, 71
KRAFT O.J. e Coll., *Salmonella* in wastes produced at commercial poultry farms, Appl. Micr., 1969, 18, 703
MANN P., *Salmonella* organisms isolated from water used for storage of pet turtles, Can. Comp. Med. Vet. Sci., 1967, 31, 43
MOORE B., Ricerca dei portatori di *Salmonella* in città mediante esame delle acque di scolo, Monthly Bull., 1948, 7, 241
POLLACH W., Untersuchungen von Abwassern der Wiener Schlachthofanlagen auf Salmonellen, Wiener Tierarztl. Monatschr.,1964, 51, 161
REALI D., Sulla determinazione quantitativa delle salmonelle in acque superficiali naturalmente inquinate, Riv. Ital. Igiene, 1974, 34, 89
RENIERI G. e Coll., Ricerca di *Salmonella* sp., *Yersinia enterocolitica* e *Campylobacter* termofili in effluenti di allevamenti zootecnici e da stabilimenti di macellazione pubblici e privati, Riv. Ital. Igiene, 1988, 48, 29
RYAN W.J., Isolation of *Salmonella* from sewage by anaerobic methods, J. Med. Microbiol., 1972, 5, 533
SPINO D., Elevated temperature technique for the isolation of *Salmonellae* from streams, Appl. Micr., 1966, 14, 591
TARDITI M. e Coll., Ricerca di *Salmonella* su campioni ambientali, Ind. Alim., 1994, 33, 533
TELSE G., Trattamento delle acque di scarico nella Germania Est per il problema delle salmonellosi, Sel. Vet., 1966, 6, 334
WATSON D.C., Potential risk to human and animal health arising from land disposal of sewage sludge, J. Appl. Bact., Symposium Suppl., 1985, 955

4.2 AMBIENTI CONFINATI

GOYAL S.M. e Coll., Probable sources of *Salmonellae* in a poultry farm, Br. Vet. J., 1970, 126, 180
ORTHOEFER J.G. e Coll., *Salmonella* contamination in a rendering plant, Avian Dis., 1968, 12, 303
SHOTTS E. e Coll., Further studies on Salmonellae in human and animal foods and in the environment of processing plants, Conference Vet. Lab. Diagn., Minneapolis, USA, 1961

SMYSER C.F. e Coll., Isolation of *Salmonellae* from rendered by-products and poultry litter cultured in enrichment media at elevated temperatures, Avian Dis., 1970, 14, 248
TUCKER J.F., Survival of *Salmonellae* in built-up litter for housing of rearing and laying fowls, Br. Vet. J., 1967, 123, 92

4.3 ANIMALI SELVATICI

BAKER J.R. e Coll., Isolation of *Salmonella* from seals from Ukwaters, Vet. Rec., 1995, 136, 471
BALACH O. e Coll., Laboratorijska diagnostika *Salmonella* kod domacik zivotinja, Vet. Glasnik, 1977, 31, 41
CARMENI A. e Coll., Isolamento di salmonelle dal contenuto intestinale di *Lacerta muralis*, Igiene Mod., 1968, 61, 29
CORSALINI T., Risultati di un'indagine per il rilievo degli Enterobatteri, ed in particolare delle salmonelle, eseguita sugli animali selvatici di alcune specie viventi in libertà nel territorio della provincia di Foggia, Ann. San. Pubbl., 1973, 34, 283
DIMOW I., Sul carattere dell'eliminazione duratura di salmonelle con le feci in tre varietà di tartarughe, Zentr. Bakt. I Abt. Orig., 1966, 201, 201
DIMOW I., Infezione artificiale di lucertola con *Salmonella* e *Arizona*, Zentr. Vet., 1966, 13, 587
FEY H., Infezioni da *Arizona* nei rettili, Schweitz Z. Path., 1957, 20, 27
GOODCHILD W.M. e Coll., *Salmonellae* in british wild birds and their transfer to domestic fowls, Brit. Vet. J., 1968, 124, 95
KAUFFMANN A., Studio epidemiologico delle salmonellosi nelle tartarughe, Am. J. Epidemiol., 1966, 84, 364
KODJO A. e Coll., Isolation and identification of *Salmonella* species from chelonians using combined selective media, serotyping and ribotyping, J. Vet. Med., 1997, B 44, 625
KOSTERS J. e Coll., Salmonellosi nei finchi, Tierarztl. Umschau, 1967, 22, 66
KURSACH E. e Coll., Action de deux souches de *Salmonella typhimurium* chez un lépidoptère, Bull. OMS, 1968, 39, 477
LAMM S.H. e Coll., Turtle associated salmonellosis, Am. J. Epidemiol., 1972, 95, 511
LOEWENSTEIN M.S. e Coll., Salmonellosis associated with turtles, J. Inf. Dis., 1971, 124, 433
ORLANDELLA V. e Coll., Prime ricerche sul ruolo epidemio-epizootologico della tartaruga (*Testudo hermannii* gm) nella diffusione di *Salmonella* e *Arizona*, Zooprofilassi, 1968, 23, 119
TAYLOR J., *Salmonella* in wild animals, Mc Diarmid A., Diseases in free-living wild animals, 1969

PARTE SECONDA

SCHEMA DI KAUFFMANN-WHITE AGGIORNATO

AVVERTENZE PER LA CONSULTAZIONE DELLO SCHEMA

Lo schema di Kauffmann-White qui di seguito riportato contiene i sierotipi di Salmonella appartenenti alle sotto-specie da I a VI ed è ***aggiornato fino al supplemento no. 43 (1999) pubblicato nel dicembre 2000.***
A questa data il numero di sierotipi in ciascuna specie e sottospecie è il seguente:

specie	*nome della sottospecie*	*numero della sottospecie*	*sierotipi noti fino al 1999 (totale = 2489)*
S. enterica	*enterica*	I	1469
	salamae	II	496
	arizonae	IIIa	94
	diarizonae	IIIb	326
	houtenae	IV	71
	indica	VI	12
S. bongori		V	21

Lo schema è proposto in due parti :
- prima parte contenente un elenco dei sierotipi di *Salmonella* suddivisi per gruppi sierologici ;
- seconda parte contenente un elenco in ordine alfabetico dei sierotipi di *Salmonella*.

La prima parte è organizzata come segue:

• l'elenco è diviso in gruppi contraddistinti da lettere maiuscole dell'alfabeto (A, B, C, ecc) oppure da numeri (51, 52, 53, ecc) che corrispondono ad altrettanti *gruppi O.*

• la **prima colonna** contiene il *nome* del sierotipo.
In mancanza di un nome specifico ricorre il termine generico di *"salmonella"*.
In pochi casi si trovano affiancate due denominazioni. Ciò avviene quando due sierotipi, inizialmente ritenuti differenti, sono stati in un secondo tempo riconosciuti identici. Si usa porre tra parentesi la denominazione più vecchia.
Accanto al nome si può trovare un numero romano (esempio : II), che significa *sotto-specie II.*
I sierotipi evidenziati da uno sfondo grigio sono stati assorbiti da altre salmonelle. I sierotipi appartenenti alle sotto-specie IIIa oppure IIIb, corrispondenti, rispettivamente, a

Salmonella arizonae e *Salmonella diarizonae*, presentano il solo nome su sfondo tratteggiato.

- nella **seconda colonna** sono contenuti gli *antigeni somatici O*, indicati da uno o più numeri arabi.
  Quando un antigene è sottolineato, oppure scritto tra parentesi, esso può mancare (vedi spiegazioni nel capitolo 4 (classificazione delle salmonelle).

- nella **terza colonna** sono scritti gli *antigeni H della cosiddetta fase 1*.

- nella **quarta colonna** figurano gli *antigeni H della cosiddetta fase 2*.

In mancanza della prima o della seconda fase si trova un trattino (-).
Tra parentesi sono scritti gli antigeni H facoltativamente presenti nella struttura .
Gli antigeni H sono espressi con lettere minuscole o con numeri arabi, che tuttavia non hanno nulla a che vedere con i numeri arabi degli antigeni somatici O. A volte gli stessi antigeni si possono presentare indifferentemente nella fase 1 oppure nella fase 2.
Gli antigeni z sono affiancati da numeri (come z15, z28, ecc).

> *NOTA - Per facilitare la lettura dei numeri che accompagnano gli antigeni z, questi sono stati scritti* ***appositamente****, nello schema, allineati e non collocati in posizione "pedice" (esempio: z15 in luogo di* z_{15} *, come andrebbe correttamente segnato).*

- nella **quinta** colonna sono citate alcune caratteristiche biochimiche e sierologiche del sierotipo.
- nella **sesta** colonna si trovano brevi annotazioni di carattere epidemiologico, ad esempio le fonti da cui si isola più frequentemente quel sierotipo.

NOTA - Quando si incontrano in elenco due salmonelle con la stessa struttura antigene (di cui una con a fianco del nome un numero romano), si può confermare l'appartenenza alla sotto-specie indicata dal numero romano ricorrendo alle prove biochimiche differenziali (vedi tabella di Kauffmann nel cap. 4.1).

La seconda parte è organizzata come segue:

- nomi dei sierotipi di *Salmonella* in ordine alfabetico e relativa struttura antigene.

ELENCO DEI SIEROTIPI DI *SALMONELLA* SUDDIVISI PER GRUPPI SIEROLOGICI

Gruppo A (O 1,2,12)

paratyphi A	1,2,12	a	(1,5)		uomo
nitra	2,12	g,m	-		
kiel	1,2,12	g,p	-		
koessen	2,12	l,v	1,5		

Gruppo B (O 1,4,5,12)

makoma II	1,4,(5),12,27	a	(e,n,x)		
kisangani	1,4,(5),12	a	1,2		
hessarek	4,12,27	a	1,5		
fulica	4,(5),12	a	1,5		
arechavaleta	4,(5),12	a	(1,7)		
bispebjerg	1,4,(5),12	a	e,n,x		
abortus-equi	4,12	-	e,n,x	microcolonie	aborti equini
tinda	1,4,5,27	a	e,n,z15		
salmonella II	1,4,(5),12,27	a	e,n,x		
nakuru	1,4,12,27	a	z6		
huettwilen	1,4,12	a	l,w		
salmonella II	1,4,12,27	a	z39		
paratyphi B	1,4,(5),12	(b)	(1,2)	d-tartrato -	uomo, cane
java	1,4,5,12	b	(1,2)	d-tartrato + spesso monofasica	carni suine, acque di pesci tropicali
limete	1,4,12,27	b	1,5		
salmonella II	4,12	b	1,5		
canada	4,12,27	b	1,6		
uppsala	4,12,27	b	1,7		
abony	1,4,5,12,27	b	e,n,x	gelatina -	
sladun	1,4,12,27	b	e,n,x	assorbita da abony	
abortus-bovis	1,4,12,27	b	e,n,x	gelatina +, mucato +, assorbita da abony	
sofia II	1,4,12,27	b	(e,n,x)	spesso monofasica	polli, tacchini, bovini, lettiera
wagenia	1,4,12,27	b	e,n,z15		
wien	1,4,12,27	b	l,w		uomo
abortus-canis	4,5,12	b	z5 (fase R)	assorbita da paratyphi B	
tripoli	1,4,12,27	b	z6		
schleissheim	4,12,27	b	-		carni di pollo, preconfezionati, lettiera
legon	1,4,12,27	c	1,5		
abortus-ovis	4,12	c	1,6	microcolonie	aborti ovini
altendorf	4,12,27	c	1,7		

womba	4,12,27	c	1,7	assorbita da altendorf	
bissau	4,12	c	e,n,x		
jericho	1,4,12,27	c	e,n,z15		
hallfold	1,4,12,27	c	l,w		
bury	4,12,27	c	z6		
stanley	1,4,(5),12,27	d	1,2		uomo
cairo	1,4,12,27	d	1,2	assorbita da stanley	carni suine
eppendorf	1,4,12,27	d	1,5		
brezany	1,4,12,27	d	1,6		
schwarzengrund	1,4,12,27	d	1,7		polli, pesci, carni di pollo, acqua
salmonella	4,5,12	d	e,n,x		
kluetjenfelde II	4,12	d	e,n,x		
sarajane	1,4,(5),12,27	d	e,n,x		
duisburg	1,4,12,27	d	e,n,z15		
salinatis	4,12	d : e,h	e,n,z15	senza il fattore d corrisponde a san-diego	
mons	1,4,12,27	d	l,w		
ayinde	1,4,12,27	d	z6		
chartres	1,4,12	e,h	l,w		
saint-paul	1,4,(5),12	e,h	1,2		tacchini, suini, polli, bovini, uomo, carni di tacchino, lettiera
reading	1,4,(5),12	e,h	(1,5)		
eko	4,12	e,h	1,6		
kaapstad	4,12	e,h	1,7		
chester	1.4,(5),12	e,h	e,n,x		
sandiego	4,(5),12	(e,h)	e,n,z15		
salmonella II	4,12	e,n,x	1,2,7		
makumira II	1,4,12,27	e,n,x	1,(5),7		
derby	1,4,(5),12	f,g	(1,2)		suini, bovini, uomo, carni suine, bovine, di tacchino, insaccati, superfici
salmonella II	4,12	f,g	-		
agona	1,4,(5),12	f,g,s	(1,2)		polli, tacchini, suini, uomo, uova, mangimi, lettiera
salmonella II	4,(5),12	f,g,t	z6,z42		
essen	4,12	g,m	-		
hato	1,4,12	g,m,s	-	esiste varietà O 1+	
caledon II	1,4,12,27	g,(m),(s),t	e,n,x		
california	4,12	g,m,t	(z67)		
bechuana II	1,4,12,27	g,m,t : (1,5)	(z39)		
salmonella II	4,12	g,m,t	z39		
joenkoeping	4,5,12	g,s,t	(1,2)	assorbita da kingston	

kingston	1,4,12,27	g,s,t	(1,2)	in fase R può avere i fattori H z27 oppure z43	
budapest	1,4,12,27	g,t	-		
travis	4,(5),12	g,z51	1,7		
tennyson	4,5,12	g,z51	e,n,z15		
salmonella II	4,12	g,z62	-		
banana	1,4,(5),12	m,t	(1,5)	in fase R può avere il fattore H z45	
newholland	4,12,54	m,t	-		
madras	4,(5),12	m,t	e,n,z15		
typhimurium	1,4,5,12	i	1,2,(7)		ai primi posti come frequenza in tutte le specie ; causa gravi tossinfezioni alimentari
typhimurium var. copenhagen	1,4,12	i	1,2		piccioni
lagos	1,4,(5),12	i	1,5		
agama	4,12	i	1,6		
tumodi	1,4,12	i	z6		
farsta	4,12	i	e,n,x		
tsevie	4,12	i	e,n,z15		
gloucester	1,4,12,27	i	l,w		
salmonella II	4,12,27	i	z35		
massenya	1,4,12,27	k	1,5		
neumuenster	1,4,12,27	k	1,6		
salmonella II	1,4,12,27	k	1,6		
ljubljana	4,12,27	k	e,n,x		
texas	4,(5),12	k	e,n,z15		
fyris	4,(5),12	l,v	1,2		
azteca	4,(5),12,27	l,v	1,5		carni suine
salmonella II	4,12,27	l,v	1,5		
clackamas	4,12	l,v, (z13)	1,6		
bredeney	1,4,12,27	l,v	1,7		polli, suini, bovini, tacchini,uomo, carni di pollo, carni suine, insaccati, superfici
kimuenza	1,4,12,27	l,v	e,n,x		
salmonella II	1,4,12,27	l,v	e,n,x		
brandenburg	1,4,(5),12,27	l,v	e,n,z15		polli, uomo, carni suine, insaccati
salmonella II	1,4,12,27	l,v	z39		
mono	4,12	l,w	1,5		
togo	4,12	l,w	1,6		
kilwa II	4,12	l,w	e,n,x		
ayton	1,4,12,27	l,w	z6		

haduna	4,12	l,z13,(z28)	1,6		
tyresoe	1,4,12,27	l,(z13),z28	1,5		
vom	1,4,12,27	l,z13,z28	e,n,z15		
kubacha	1,4,12,27	l,z13,z28	1,7		
salmonella II	4,12	l,z28	(e,n,x)		
kunduchi	1,4,(5),12,27	(l,z13), (z28)	(1,2)		
kano	1,4,12,27	l,z13,z28	e,n,x		
reinichendorf	4,12	l,z28	e,n,x		
heidelberg	1,4,(5),12	r	1,2		polli, tacchini, bovini, uomo, carni di pollo, suine, di tacchino, insaccati, uova
bradford	4,12,27	r	1,5		
winneba	4,12	r	1,6		
remo	1,4,12,27	r	1,7		
bochum	4,(5),12	r,(i)	l,w		
southampton	1,4,12,27	r	z6		
drogana	1,4,12,27	r,(i)	e,n,z15		
africana	4,12	r,i	l,w		
coeln	1,4,5,12	y	1,2		bovino, uomo
trachau	4,12,27	y	1,5		
finaghy	4,12	y	1,6		
teddington	1,4,12,27	y	1,7		carni suine, superfici
ruki	4,5,12	y	e,n,x	assorbita da ball	
ball	1,4,12,27	y	e,n,x		
dalat	4,5,27	y	e,n,x	assorbita da ball	
jos	1,4,12,27	y	e,n,z15		
kamoru	4,12,27	y	z6		
shubra	4,(5),12	z	1,2		
kiambu	1,4,12	z	1,5		
salmonella II	1,4,12,27	z	1,5		
loubono	4,12	z	1,6		
indiana	1,4,12	z	1,7		suini, carni suine, insaccati, superfici, lettiera
salmonella II	4,12	z	1,7		
nordenham II	1,4,12,27	z	e,n,x		
neftenbach	4,12	z	e,n,x		
koenigstuhl	1,4,(5),12	z	e,n,z15		
preston	1,4,12	z	l,w		
entebbe	1,4,12,27	z	z6		
salmonella II	4,12	z	z39		
stanleyville	1,4,(5),12	z4,z23	(1,2)		insaccati
jaja	4,12,27	z4,z23	-	assorbita da stanleyville	

kalamu	4,(5),12	z4,z24	(1,5)		
vuadens	4,12,27	z4,z23	z6		
haifa	1,4,(5),12	z10	1,2		carni di pollo, di tacchino, mangimi
ituri	1,4,12	z10	1,5		
tudu	4,12	z10	1,6		
albert	4,12	z10	e,n,x		
tokoin	4,12	z10	e,n,z15		
mura	1,4,12	z10	l,w		
fortune	1,4,12,27	z10	z6		
vellore	1,4,12,27	z10	z35		
brancaster	1,4,12,27	z29	-		polli, tacchini, faraone, lettiera
helsinki II	1,4,12	z29	(e,n,x)		
pasing	4,12	z35	1,5		
tafo	1,4,12,27	z35	1,7		
yaounde	1,4,12,27	z35	e,n,z15		
sloterdijk	1,4,12,27	z35	z6		
tejas	4,12	z36	-		
salmonella	4,5,12	z38	-		
wilhelmsburg	1,4,12,27	z38	(e,n,z15)		
durbanville II	1,4,12,27	(z39)	1,(5),7		
thayngen	1,4,12,27	z41	1,(2),5		
maska	1,4,12,27	z41	e,n,z15		

Gruppo C1 (O 6,7)
e C4 (O 6,7,14)

salmonella II	6,7	-	1,6		
san-juan	6,7	a	1,5		
salmonella II	6,7,14	a	1,5		
umhall	6,7	a	1,6		
austin	6,7	a	1,7		
damman	6,7	a	z6		
oslo	6,7,14	a	e,n,x		
denver	6,7	a	e,n,z15		
coleypark	6,7,14	a	l,w		
calvinia	6,7	a	z42		
salmonella II	6,7	a	z6		
nissii	6,7,14	b	-	assorbita da nienstedten	
brazzaville	6,7	b	1,2		
edinburg	6,7	b	1,5		
adime	6,7	b	1,6		
koumra	6,7	b	1,7		
lockleaze	6,7,14	b	e,n,x		

georgia	6,7	b	e,n,z15		
ohio	6,7	b	l,w		uomo, carni bovine, suine, insaccati, mangimi
nienstedten	6,7,14	b	(l,w)	considereta varietà di ohio con fattore O 14+	
leopoldville	6,7,14	b	z6		
kotte	6,7	b	z35		
salmonella II	6,7	b	z39		
bloemfontein II	6,7	b	(e,n,x:z42)		
hissar	6,7,14	c	1,2		
paratyphi C	6,7 (Vi)	c	1,5		uomo
cholerae-suis	6,7	(c)	1,5	microcolonie H_2S - , tartrato -	tipica nel suino ; causa gravi tossinfezioni alimentari
cholerae-suis var. kunzendorf	6,7	c	(1,5)	microcolonie H_2S +	
typhi-suis	6,7	(c)	1,5	microcolonie senza il fattore H c nota come varietà voldagsen	suini ; voldagsen nei suinetti
decatur	6,7	c	1,5	dulcite +, mucato + a differenza di cholerae-suis	
birkenhead	6,7	c	1,6		
schwabach	6,7	c	1,7		
namibia	6,7	c	e,n,x		
kaduna	6,7,14	c	e,n,z15		
kisii	6,7	d	1,2		
mission	6,7	d	1,5	inosite - assorbita da isangi	
isangi	6,7,14	d	1,5	inosite +	polli, uomo, carni di pollo, insaccati
kivu	6,7	d	1,6		
kambole	6,7	d	1,(2),7		
salmonella II	6,7	d	1,7		
amersfoort	6,7	d	e,n,x		
omderman	6,7,14	d	e,n,x	considerata variante O 14+ di amersfoort	
gombe	6,7	d	e,n,z15		
livingstone	6,7	d	l,w		polli, uomo, carni bovine, suine, di pollo, insaccati, uova, lettiera, superfici
eimsbuettel	6,7,14	d	l,w	considerata variante O 14+ di livingstone	
wil	6,7	d	l,z13,z28		
nieukerk	6,7,14	d	z6		

salmonella II	6,7	d	z42		
larochelle	6,7	e,h	1,2		
lomita	6,7	e,h	1,5		
norwich	6,7	e,h	1,6		
nola	6,7	e,h	1,7		
braenderup	6,7,14	e,h	e,n,z15		polli, uomo, carni bovine, insaccati, uova, acqua
salmonella II	6,7	e,n,x	1,6 : z42		
kastrup	6,7	e,n,z15	1,6		
rissen	6,7	f,g	-		uomo, carni suine, insaccati, uova, superfici, lettiera
ardwick	6,7,14	f,g	-	considerata variante O 14+ di rissen	
afula	6,7	f,g,t	e,n,x		
eingedi	6,7	f,g,t	1,2,7		
montevideo	6,7,14	g,m,(p),s	(1,2,7)		volatili, uomo, carni di pollo, insaccati, uova, mangimi, acqua, lettiera
othmarschen	6,7,14	g,m,(t)	-		
salmonella II	6,7	(g),m,(s),t	(1,5)		
salmonella II	6,7	g,m,(s),t	(e,n,x)		
salmonella II	6,7	g,m,s,t	z39		
salmonella II	6,7	g,(m),s,t	(z42)		
plumaugat	6,7	g,s,q	-		
menston	6,7	g,s,(t)	(1,6)		
riggil	6,7	g,t	-		
salmonella II	6,7	g,t	e,n,x : z42		
alamo	6,7	g,z51	1,5		
salmonella IV	6,7	g,z51	-		
haelsingborg	6,7	m,p,t,(u)	-		
oranienburg	6,7	m,t	-	in fase R può avere il fattore H z57	polli, mangimi
thielallee	6,7,14	m,t	-	considerata variante O 14+ di oranienburg	
winston	6,7	m,t	1,6		
salmonella II	6,7	m,t	-		
salmonella II	6,7	m,t	1,5		
oakey	6,7	m,t	z64		
augustenborg	6,7,14	i	1,2		
oritamerin	6,7	i	1,5		
garoli	6,7	i	1,6		
lika	6,7	i	1,7		
stuttgart	6,7,14	i	z6		
norton	6,7	i	l,w		

athinai	6,7	i	e,n,z15		
galiema	6,7,14	k	1,2		
thompson	6,7,14	(k)	(1,5)		volatili, bovini, uomo, carni di pollo, acqua, lettiera
daytona	6,7	k	1,6		
baiboukoum	6,7	k	1,7		
singapore	6,7	k	e,n,x		
escanaba	6,7	k	e,n,z15		
salmonella II	6,7	k	(z6)		
cardiff	6,7	k	1,10 (fase R)	assorbita da thompson	
salmonella IIIa	6,7	k	z: (z55)	= Arizona 27 : 23 : 25	
concord	6,7	l,v	1,2		
irumu	6,7	l,v	1,5		
mkamba	6,7	l,v	1,6		
kortrijk	6,7	l,v	1,7		
bonn	6,7	l,v	e,n,x		acqua
potsdam	6,7,14	l,v	e,n,z15		
gdansk	6,7	l,v	z6		
gelsenkirchen	6,7,14	l,v	z6	considerata variante O 14+ di gdansk	
coromandel	6,7	l,v	z35		
gabon	6,7	l,w	1,2		
colorado	6,7	l,w	1,5		
salmonella II	6,7	l,w	1,5,7		
salmonella II	6,7	l,w	z42		
nessziona	6,7	l,z13	1,5		
kenya	6,7	l,z13	e,n,x		
neukoelin	6,7	l,z13,(z28)	e,n,z15		
strathcona	6,7	l,z13,z28	1,7		
makiso	6,7	l,z13,z28	z6		
heilbron II	6,7	l,z28	1,5 : (z42)		
salmonella II	6,7	l,z28	z6		
salmonella II	6,7	l,z28	e,n,x		
virchow	6,7,14	r	1,2		polli, uomo, carni di polli, acqua
infantis	6,7,14	r	1,5	in fase R può avere il fattore H z49	uomo, polli, suini, faraone, carni bovine, suine, di pollo, insaccati, uova; causa tossinfezioni alimentari
nigeria	6,7	r	1,6		
colindale	6,7	r	1,7		
papuana	6,7	r	e,n,z15		

grampian	6,7	r	l,w		
richmond	6,7	y	1,2		
bareilly	6,7,14	y	1,5		pulcini
oyonnax	6,7	y	1,6		
gatow	6,7	y	1,7		
hartford	6,7	y	e,n,x	in fase R può avere il fattore H z50 oppure z67	acqua
mikawasima	6,7,14	y	e,n,z15	in fase R può avere il fattore RH z47 oppure z50	
chile	6,7	z	1,2		
poitiers	6,7	z	1,5		
tosamanga II	6,7	z	1,5		
oakland	6,7	z	1,6,(7)		
cayar	6,7	z	e,n,x		
salmonella II	6,7	z	e,n,x		
businga	6,7	z	e,n,z15		
salmonella II	6,7	z	z6		
oysterbeds II	6,7	z	z42		
bruck	6,7	z	l,w		
salmonella II	6,7	z	z39		
roterberg	6,7	z4,z23	-		
obogu	6,7	z4,z23	1,5		
planckendael	6,7	z4,z23	1,6		
aequatoria	6,7	z4,z23	(e,n,z15)		
goma	6,7	z4,z23	z6		
somone	6,7	z4,z24	-		
kralendyk IV	6,7	z4,z24	-		
salmonella II	6,7	z4,z24	z42		
cape II	6,7	z6	1,7		
menden	6,7	z10	1,2		
inganda	6,7	z10	1,5		
eschweiler	6,7	z10	1,6		
ngili	6,7	z10	1,7		
djugu	6,7	z10	e,n,x		
mbandaka	6,7,14	z10	e,n,z15		polli, carni suine, insaccati, lettiera
jerusalem	6,7,14	z10	l,w		uomo, carni suine, insaccati
redba	6,7	z10	z6		
omuna	6,7	z10	z35		
salmonella II	6,7	z10	z35		
tennessee	6,7	z29	-		
salmonella II	6,7	z29	(1,2,7)		
salmonella II	6,7	z29	(z42)		
argentina IV	6,7	z36	-		

palime	6,7	z35	e,n,z15		
tienba	6,7	z35	1,6		
tampico	6,7	z36	e,n,z15		
bacongo II	6,7	z36	z42		
lille (bornum)	6,7	z38	-		
bornum	6,7,14	z38	-	considerata varietà O14+ di lille	
rumford	6,7	z38	1,2		
gilbert II	6,7	z39	1,5,7		
hillsborough	6,7	z41	l,w		
tamilnadu	6,7	z41	z35		
salmonella VI	6,7	z41	1,7		
sullivan II	6,7	z42	1,7		
salmonella II	6,7	z42	e,n,x : 1,6		
bulovka	6,7	z44	-		

GRUPPO C 2 (O 6,8)
e (O 8,20)

salmonella II	6,8	-	1,5,7		
valdosta	6,8	a	1,2		
doncaster	6,8	a	1,5		
curacao	6,8	a	1,6		
nordufer	6,8	a	1,7		
narashino	6,8	a	e,n,x		
salmonella II	6,8	a	e,n,x		
leith	6,8	a	e,n,z15		
salmonella II	6,8	a	z39		
tulear II	6,8	a	z52		
be	8,20	a	(z6)		
skansen	6,8	b	1,2		
djelfa	8	b	1,2		
nagoya	6,8	b	1,5		
korbol	8,20	b	1,5		
salmonella II	6,8	b	1,5		
stourbridge	6,8	b	1,6		
eboko	6,8	b	1,7	m-tartrato -	
sanga	8	b	1,7	m-tartrato + (3 gg)	
gatun i	6,8	b	e,n,x		
konstanz	8	b	e,n,x		
presov	6,8	b	e,n,z15		
shipley	8,20	b	e,n,z15		
bukuru	6,8	b	l,w		
banalia	6,8	b	z6		
tounouma	8,20	b	z6		
wingrove	6,8	c	1,2		

utah	6,8	c	1,5		
bronx	6,8	c	1,6		
belfast	6,8	c	1,7		
tado	8,20	c	z6		
belem	6,8	c	e,n,x		
santiago	8,20	c	e,n,x		
quiniela	6,8	c	e,n,z15		
alexanderpolder	8	c	l,w		
muenchen	6,8	d	1,2 : (z67)	m-tartrato + (4 gg)	polli, uomo, carni suine, di pollo, insaccati
virginia	8	d	(1,2)	m-tartrato ±	
manhattan	6,8	d	1,5	inosite +	uomo, carni suine, insaccati
yovokome	8,20	d	1,5	inosite -	
dunkwa	6,8	d	1,7		
portanigra	8,20	d	1,7		
labadi	8,20	d	z6		
salmonella II	6,8	d	z6,z42		
sterrenbos	6,8	d	e,n,x		
herston	6,8	d	e,n,z15		
newport	6,8,20	e,h	1,2 : (z67)	d-tartrato ± esiste variante con z67+ in fase R può avere i fattori H z50, z58, z78 o 1,12	bovini, pesci, uomo, carni equine, acqua
bardo	8	e,h	1,2	d-tartrato +	
kottbus	6,8	e,h	1,5	m-tartrato +	polli, anitre, uomo, carni di pollo
ferruch	8	e,h	1,5	m-tartrato ±	
cremieu	6,8	e,h	1,(6)		
atakpame	8,20	e,h	1,7		
rechovot	8,20	e,h	z6		
tshiongwe	6,8	e,h	e,n,z15		
sandow	6,8	f,g	e,n,z15		
salmonella II	6,8	f,g,m,t	(e,n,x)		
emek	8,20	g,m,s	-		
chincol	6,8	g,m,(s)	(e,n,x)		
salmonella II	6,8	g,m,t	1,7		
reubeuss	8,20	g,m,t	-		
nanergou	6,8	g,s,t	-		
alminko	8,20	g,s,t	-		
bassa	6,8	m,t	-	m-tartrato -	
yokoe	8,20	m,t	-	m-tartrato ±	
baragwanath II	6,8	m,t	1,5		
germiston II	6,8	m,t	e,n,x		

lindenburg	6,8	i	1,2		
takoradi	6,8	i	1,5		
bargny	8,20	i	1,5		
warnow	6,8	i	1,6		
malmoe	6,8	i	1,7		
kentucky	8,20	i	z6		polli, uova
bonariensis	6,8	i	e,n,x		
aba	6,8	i	e,n,z15		
cyprus	6,8	i	l,w		
magherafelt	8,20	i	l,w		
kallo	6,8	k	1,2		
blockley	6,8	k	1,5	m-tartrato ± può avere il fattore z58	bovini, suini, volatili, pesci, uomo, carni di pollo, di tacchino, bovine, insaccati, uova, superfici
haardt	8	k	1,5	m-tartrato +	
schwerin	6,8	k	e,n,x		
charlottenburg	6,8	k	e,n,z15		
litchfield	6,8	l,v	1,2		insaccati
pakistan	8	l,v	1,2		
loanda	6,8	l,v	1,5		
amherstiana	8	l,v	1,6		
manchester	6,8	l,v	1,7		
holcomb	6,8	l,v	e,n,x		
salmonella II	6,8	l,v	e,n,x		
edmonton	6,8	l,v	e,n,z15		
fayed	6,8	l,w	1,2		
salmonella II	6,8	l,w	z6,z42		
hiduddify	6,8	l,z13,z28	1,5		
breukelen	6,8	l,z13,(z28)	e,n,z15		
salmonella II	6,8	l,z28	e,n,x		
bsilla	6,8	r	1,2		
akanji	6,8	r	1,7		
bovis-morbificans	6,8,20	r,(i)	1,5		uomo, carni suine, equine, insaccati, ittici
hindmarsh	8,20	r	1,5		
noya	8	r	1,7		
pikine	8,20	r,(i)	z6	assorbita da altona	bovini, insaccati, superfici
hidalgo	6,8	r,i	e,n,z15		
cocody	8,20	r,i	e,n,z15		
gold-coast	6,8	r	l,w		polli, suini, uomo, insaccati, mangimi
brikama	8,20	r,(i)	l,w		
giza	8,20	y	1,2		

tananarive	6,8	y	1,5		
brunei	8,20	y	1,5		
bulgaria	6,8	y	1,6		
salmonella II	6,8	y	1,6 : z42		
inchpark	6,8	y	1,7		
alagbon	8	y	1,7		
kralingen	8,20	y	z6		
sunnycove	8	y	e,n,x		
daarle	6,8	y	e,n,x		
praha	6,8	y	e,n,z15		
salmonella II	6,8	y	1,6 :z42		
benue	6,8	y	l,w		
sindelfingen	8,20	y	l,w		
mowanjum	6,8	z	1,5		
salmonella II	6,8	z	1,5		
daula	8,20	z	z6		
kuru	6,8	z	l,w		
kalumburu	6,8	z	e,n,z15		
phaliron	8	z	e,n,z15		
lezennes	6,8	z4,z23	1,7		
bellevue	8	z4,z23	1,7		
corvallis	8,20	z4,z23	(z6)	m-tartrato +	uomo, lettiera
dabou	8,20	z4,z23	l,w	m-tartrato +	
breda	6,8	z4,z23	e,n,x		
chailey	6,8	z4,z23	(e,n,z15)		
duesseldorf	6,8	z4,z24	-		
albany	8,20	z4,z24	-		
tallahassee	6,8	z4,z32	-		
zerifin	6,8	z10	1,2		
bazenheid	8,20	z10	1,2		
mapo	6,8	z10	1,5		
paris	8,20	z10	1,5		
cleveland	6,8	z10	1,7		
hadar	6,8	z10	e,n,x	glicerina +	polli, tacchini, bovini, pesci, uomo, carni di pollo, di tacchino, mangimi
istanbul	8	z10	e,n,x	glicerina -	
glostrup	6,8	z10	e,n,z15		
chomedey	8,20	z10	e,n,z15		
remiremont	8,20	z10	l,w		
wippra	6,8	z10	z6		
molade	8,20	z10	z6		
uno	6,8	z29	(e,n,z15)		
salmonella II	6,8	z29	1,5		

tamale	8,20	z29	(e,n,z15)		
salmonella II	8	z29	e,n,x,z42		
salmonella II	6,8	z29	e,n,x		
yarm	6,8	z35	1,2		
kolda	8,20	z35	1,2		
angers	8,20	z35	z6		
apeyeme	8,20	z38	-		
diogoye	8,20	z41	z6		
aesch	6,8	z60	1,2		

Guppo D1 (O 9,12)
e D2 (O 9,46)

sendai	1,9,12	a	1,5	negativi H_2S, citrato, d-tartrato	
miami	1,9,12	a	1,5	positivi H_2S, citrato, d-tartrato	
salmonella II	9,12	a	1,5		
os	9,12	a	1,6		
saarbruecken	1,9,12	a	1,7		
lomalinda	1,9,12	a	e,n,x		
salmonella II	1,9,12	a	e,n,x		
baildon	9,46	a	e,n,x		
durban	9,12	a	e,n,z15		
doba	9,46	a	e,n,z15		
salmonella II	9,12	a	z39		
salmonella II	1,9,12	a	z42		
onarimon	1,9,12	b	1,2		
frintrop	1,9,12	b	1,5		
montaigu	9,46	b	1,2		
cheltenham	9,46	b	1,5		
zadar	9,46	b	1,6		
worb	9,46	b	e,n,x		
mjimwema	1,9,12	b	e,n,x		
lundby II	9,46	b	e,n,x		
mana	9,12	b	e,n,z15		
bamboye	9,46	b	l,w		
linguere	9,46	b	z6		
blankenese II	1,9,12	b	z6		
suederelbe II	1,9,12	b	z39		
kolar	9,46	b	z35		
goeteborg	9,12	c	1,5		
ipeko	9,12	c	1,6		
elokate	9,12	c	1,7		
alabama	9,12	c	e,n,z15		
ridge	9,12	c	z6		

itutaba	9,46	c	z6		
typhi	9,12 (Vi)	d	-	in fase R può avere i fattori H j e z66	uomo, acqua
ndolo	1,9,12	d	1,5		
ontario	9,46	d	1,5		
tarshyne	9,12	d	1,6		
quentin	9,46	d	1,6		
eschberg	9,12	d	1,7		
strasbourg	9,46	d	1,7		
rhodesiense II	1,9,12	d	e,n,x		
bangui	9,12	d	e,n,z15		
olten	9,46	d	e,n,z15		
zega	9,12	d	z6		
plymouth	9,46	d	z6		
jaffna	1,9,12	d	z35		
salmonella II	9,12	d	z39		
bournemounth	9,12	e,h	1,2		
bergedorf	9,46	e,h	1,2		
eastbourne	1,9,12	e,h	1,5		
waedenswil	9,46	e,h	1,5		
westafrica	9,12	e,h	1,7		
guerin	9,46	e,h	z6		
israel	9,12	e,h	e,n,z15		
lindrick II	9,12	e,n,x	1,(5),7		
salmonella II	9,12	e,n,x	1,6		
salmonella II	9,46	e,n,x	1,5,7		
wernigerode	9,46	f,g	-		
berta	1,9,12	f,g,(t)	-		
enteritidis	1,9,12	(f),g,m,(p),(t)	(1,7)		volatili, suini, conigli, uomo, carni di pollo, di tacchino, uova; causa tossinfezioni alimentari
hillingdon	9,46	g,m	-		
blegdam	9,12	g,m,q	-		
macclesfield	9,46	g,m,s,t	1,(2),7		
muizenberg II	9,12	g,m,s,t	1,5	assorbita da salmonella II 1,9,12:g,(m),(s),t : 1,5,7: (z42)	
duivenhoks II	9,46	g,(m),(s),t	(e,n,x)		
salmonella II	1,9,12	g,(m),(s),t	1,5,7 : (z42)		
hamburg II	1,9,12	g, t	-	assorbita da salmonella II 1,9,12:g,(m),(s),t: 1,5,7 : (z42)	
dublin	1,9,12, (Vi)	g,p	-		bovini

naestved	1,9,12	g,p,s	-		
rostock	1,9,12	g,p,u	-		
moscow	9,12	g,q	-		
neasden II	9,12	g,s,t	e,n,x		
gateshead	9,46	g,s,t	-		
salmonella II	9,12,(46), 27	g,t	e,n,x		
new-mexico	9,12	g,z51	1,5		
salmonella II	1,9,12	g,z62	(e,n,x)		
salmonella II	9,46	g,z62	-		
antarctica	9,12	g,z63	-		
rosenberg	9,12	g,z85	-		
sangalkam	9,12	m,t	-		
pensacola	1,9,12	m,t	(1,2)		
salmonella II	1,9,12	m,t	1,5		
salmonella II	1,9,12	m,t	z39		
salmonella II	9,46	m,t	e,n,x		
seremban	9,12	i	1,5		
mathura	9,46	i	e,n,z15		
potto	9,46	i	z6		
marylebone	9,46	k	1,2		
claibornei	1,9,12	k	1,5		
cochin	9,46	k	1,5		
goverdhan	9,12	k	1,6		
clontarf	9,46	k	1,6		
ceyco	9,46	k	z35		
mendoza	9,12	l,v	1,2		
panama	1,9,12	l,v	1,5	in fase R può avere i fattori H 1 e 11	bovini, suini, polli, piccioni, uomo, carni suine, insaccati
india	9,46	l,v	1,5		carni suine
geraldton	9,46	l,v	1,6		
kapemba	9,12	l,v	1,7		insaccati
zaiman	9,12	l,v	e,n,x		
salmonella II	9,12	l,v	e,n,x		
toronto	9,46	l,v	e,n,x : (z44)		
goettingen	9,12	l,v	e,n,z15		
salmonella II	9,12	l,v	z39		
italiana	9,12	l,v	-	in fase R può avere i fattori H 1 e 11 assorbita da panama	
ackwepe	9,46	l,w	-		
victoria	1,9,12	l,w	1,5		
dar-es-salaam II	1,9,12	l,w	e,n,x		
itami	9,12	l,z13	1,5		
miyazaki	9,12	l,z13	1,7		

napoli	1,9,12	l,z13	e,n,x		bovini, suini, uomo, carni suine, insaccati
nordrhein	9,46	l,z13,z28	e,n,z15		
salmonella II	1,9,12,(46),27	l,z13,z28	z39		
javiana	1,9,12	l,z28	1,5		acqua
salmonella II	9,12	l,z28	1,5 : (z42)		
kotu	9,12	l,z28	1,6		
salmonella II	9,12	l,z28	e,n,x		
york	9,12	l,z28	e,n,z15		
jamaica	9,12	r	1,5		
camberwell	9,12	r	1,7		
deckstein	9,46	r	1,7		
campinense	9,12	r	e,n,z15		
shoreditch	9,46	r	e,n,z15		
lome	9,12	r	z6		
sokode	9,46	r	z6		
powell	9,12	y	1,7		
benin	9,46	y	1,7		
irchel	9,46	y	e,n,x		
nantes	9,46	y	l,w		
mayday	9,46	y	z6		
salmonella II	1,9,12	y	z39		
mulhouse	1,9,12	z	1,2		
lawndale	1,9,12	z	1,5		
salmonella II	9,46	z	1,5		
kimpese	9,12	z	1,6		
stellenbosch II	1,9,12	z	1,7		
haarlem II	9,46	z	e,n,x		
bambylor	9,46	z	e,n,z15		
angola II	1,9,12	z	z6		
hueningen II	9,12	z	z39		
ekotedo	9,46	z4,z23	-		
wangata	1,9,12	z4,z23	(1,7)		
ngaparou	9,46	z4,z24	-		
natal	9,12	z4,z24	-		
maarssen II	9,46	z4,z24	z39 : z42		
franken	9,12	z6	z67		
portland	9,12	z10	1,5		
lishabi	9,46	z10	1,7		
inglis	9,46	z10	e,n,x		
ruanda	9,12	z10	e,n,z15		
mahina	9,46	z10	e,n,z15		
treguier	1,9,12	z10	z6		
louisiana	9,46	z10	z6		

salmonella II	9,46	z10	z6		
salmonella II	9,46	z10	z39		
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	1,5		
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	e,n,x		
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	z39		
oukam	9,46	z29	-		
canastel II	9,12	z29	1,5	inosite +	
salmonella II	1,9,12	z29	e,n,x	inosite -	
penarth	9,12	z35	z6		
hillegersberg	9,46	z35	1,5		
basingstoke	9,46	z35	e,n,z15		
trimdon	9,46	z35	z6		
elomrane	1,9,12	z38	-		
fresno	9,46	z38	-		
wynberg II	1,9,12	z39	1,7		
salmonella II	9,46	z39	1,7		
wuppertal	9,46	z41	-		
ottawa	1,9,12	z41	1,5		
salmonella II	1,9,12	z42	1,(5),7		
franken	1,9,12	z60	z67		
gallinarum	1,9,12	-	-	microcolonie ; immobile; H_2S - ; differenziabile biochimicamente da pullorum	malattia : tifosi aviare volatili adulti
pullorum	1,9,12	-	-	microcolonie ; immobile ; H_2S + ; differenziabile biochimicamente da gallinarum	malattia : pullorosi pulcini

Gruppo D 3 (O 9,46,

salmonella II	1,9,12,46,27	a	z6		
zuerich II	1,9,12,46, 27	c	z39		
salmonella II	9,12,46,27	g,t	e,n,x		
salmonella II	1,9,12,46,27	l,z13,z28	z39		
salmonella II	1,9,12,46, 27	y	z39		
salmonella II	1,9,12,46, 27	z4,z24	(1,5)		
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	1,5		
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	e,n,x		
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	Z39		

Gruppo E 1 (O 3,10)
Attenzione ! Parecchi sierotipi di questo gruppo possiedono delle varianti contenute nei successivi gruppi E 2 ed E 3

salmonella II	3,10	a	l,v		
aminatu	3,10	a	1,2		

goelzau	3,10	a	1,5		
oxford	3,10	a	1,7		carni bovine
masembe	3,10	a	e,n,x		
matroosfontein II	3,10	a	e,n,x		
galil	3,10	a	e,n,z15		
salmonella II	3,10	a	z39		
kalina	3,10	b	1,2		
butantan	3,10	b	1,5		
allerton	3,10	b	1,6		
huvudsta	3,10	b	1,7		
wilmington	3,10	b	z6		
benfica	3,10	b	e,n,x		
salmonella II	3,10	b	e,n,x		
yaba	3, 10,(15)	b	e,n,z15		
epicrates	3,10	b	l,w		
salmonella II	3,10	b	z39		
chittagong	1,3,10,19	b	z35		
asylanta	3,10	c	1,2		
gbadago	3,10,(15)	c	1,5		
ikayi	3,(10),(15)	c	1,6		
pramiso	3,10	c	1,7		
agege	3,10	c	e,n,z15		
anderlecht	3,10	c	l,w		
okefoko	3,10	c	z6		
stormont	3,10	d	1,2		
shangani	3,10	d	1,5		
lekke	3,10	d	1,6		
onireke	3,10	d	1,7		
souza	3,10	d	e,n,x		
salmonella II	3,10	d	e,n,x		
madjorio	3,10	d	e,n,z15		
birmingham	3,10	d	l,w		
weybridge	3,10	d	z6		
maron	3,10	d	z35		
vejle	3,10	e,h	1,2		
muenster	3,10	e,h	1,5		bovini, insaccati
anatum	3,10	e,h	1,6		suini, tacchini, polli, uomo, carni suine, di tacchino, equine, bovine, insaccati, preconfezionati, superfici
nyborg	3,10	e,h	1,7		
newlands	3,10,(15),(34)	e,h	e,n,x		
lamberhurst	3,10	e,h	e,n,z15		
meleagridis	3,10	e,h	l,w		uomo, insaccati

sekondi	3,10	e,h	z6		
chudleigh II	3,10	e,n,x	1,7		
regent	3,10	f,g,(s)	(1,6)	inosite ed m-tartrato +	anitre
alfort	3,10	f,g	e,n,x	inosite ed m-tartrato -	
bilu	(1),3,10,(19)	f,g,t	1,(2),7		
suberu	3,10	g,m	-		
amsterdam	3,10	g,m,s	-		
parow II	3,10,(15)	g,m,s,t	-		
salmonella II	3,10	g,m,s,t	(1,5)		
westhampton	3,10	g,s,t	-	in fase R può avere i fattori H z37, z43, z45	
bloomsbury	3,10	g,t	1,5		
islington II	3,10	g,t	-		
salmonella II	3,10	m,t	1,5		
southbank	3,10,15, 34	m,t	(1,6)		
stikland II	3,10	m,t	e,n,x		
cukmere	3,10	i	1,2		
amounderness	3,10	i	1,5		
tibati	3,10	i	1,6		
truro	3,10	i	1,7		
bessi	3,10	i	e,n,x		acqua
falkensee	3,10	i	e,n,z15		
hoboken	3,10	i	l,w		
yeerongpilly	3,10	i	z6		
winborne	3,10	k	1,2		
zanzibar	3,10,(15)	k	1,5		
serrekunda	3,10	k	1,7		
yundum	3,10	k	e,n,x		
marienthal	3,10	k	e,n,z15		
new-rochelle	3,10	k	l,w		
nchanga	3,10	l,v	1,2		carni suine, insaccati
sinstorf	3,10	l,v	1,5		carni suine
london	3,10	l,v	1,6		bovini, suini, uomo, carni suine, bovine, insaccati, superfici
give	3,10	l,v	1,7	può avere in fase 1 e fase 2 il fattore H d ; in fase R può avere i fattori H l,z40 e z77	bovini, suini, carni suine, di tacchino, insaccati, ittici
salmonella II	3,10	l,v	e,n,x		
ruzizi	3,10	l,v	e,n,z15		
fuhlsbuettel II	3,10	l,v	z6		
sinchew	3,10	l,v	z35		

assinie	3,10	l,w	z6	in fase R può avere il fattore H z45	
freiburg	3,10	l,z13	1,2		
uganda	3,10	l,z13	1,5		
fallowfield	3,10	l,z13,z28	e,n,z15		
hoghton	3,10	l,z13,z28	z6		
salmonella II	3,10	l,z28	1,5		
joal	3,10	l,z28	1,7		
lamin	3,10	l,z28	e,n,x		
westpark II	3,10	l,z28	e,n,x		
salmonella II	3,10	l,z28	z39		
rutgers	3,10	l,z40	1,7	i fattori l,z40 si presentano in fase R ; assorbita da give	
seegefeld	3,10	r,i	1,2		
ughelli	3,10	r	1,5		
dumfries	3,10	r,i	1,6		
elisabethville	3,10	r	1,7		
simi	3,10	r	e,n,z15		
weltevreden	3,10	r	z6		uova, acqua
amager	3,10	y	1,2	in fase R può avere il fattore H z45	
orion	3,10	y	1,5		
mokola	3,10	y	1,7		
ohlstedt	3,10	y	e,n,x		
bolton	3,10	y	e,n,z15		
langensalza	3,10	y	l,w		
stockholm	3,10	y	z6		
fufu	3,10	z	1,5		
alexander II	3,10	z	1,5		
harleystreet	3,10	z	1,6		
huddinge	3,10	z	1,7		
finchley II	3,10	z	e,n,x		
clerkenwell	3,10	z	l,w		
landwasser	3,10	z	z6		
tafelbaai II	3,10	z	z39		
adabraka	3,10	z4,z23	(1,7)		polli, uova, acqua
wagadugu	3,10	z4,z23	z6		
ilugun	1,3,10,19	z4,z23	z6	m-tartrato +	
florian	3,10,(15)	z4,z24	-		
salmonella II	3,10	z4,z24	-		
okerara	3,10	z10	1,2		
lexington	3,10	z10	1,5	in fase R può avere il fattore H z49	acqua
harrisonburg	3,10,(15),(34)	z10	1,6		
coquilhatville	3,10	z10	1,7		

kristianstad	3,10	z10	e,n,z15		
biafra	3,10	z10	z6		
jedburgh	3,10,(15)	z29	-		
everleigh	3,10	z29	e,n,x		
salmonella II	3,10	z29	(e,n,x)		
ratchaburi	3,10	z35	1,6		
zongo	3,10	z35	1,7		
salmonella II	3,10	z35	e,n,x,z15		
shannon	3,10	z35	l,w		
cairina	3,10	z35	z6		
macallen	3,10	z36	-		
bolombo	3,10	z38	(z6)		
mpila II	3,10	z38	z42		
winchester II	3,10	z39	1,(5),7		
dortmund	3,10	z41	1,(2),5		
salmonella	3,10	z41	1,(2),5		
pietersburg	3,10,(15),(34)	z69	1,7		

Gruppo E 2 (O 3,15) e E 3 (O 3,15,34)
Attenzione ! La maggior parte dei sierotipi elencati in questi due gruppi è considerata varietà di altre Salmonelle del precedente gruppo E 1

clichy	3,15	a	1,5	considerata varietà O 15+ di goelzau con formula 3,10,(15) : a - 1,5	
khartoum	3,15,34	a	1,7	considerata varietà O 15+ di oxford con formula 3,10,(15),(34) : a - 1,7	
rosenthal	3,15	b	1,5	considerata varietà O 15+ di butantan con formula 3,10,(15),(34) : b - 1,5	
westminster	3,15	b	z35		
pankow	3,15	d	1,5	considerata varietà O 15+ di shangani con formula 3,10,15 : d - 1,5	
eschersheim	3,15	d	e,n,x	considarata varietà O 15+ di souza con formula 3,10,(15) : d - e,n,x	
goerlitz	3,15	e,h	1,2	considerata varietà O 15+ di vejle con formula 3,10,15 : e,h - 1,2	
new-haw	3,15	e,h	1,5	considerata varietà O 15+ di muenster	

				con formula 3,10,(15),(34) : e,h - 1,5	
arkansas	3,15,34	e,h	1,5	considerata varietà O 15,34 + di muenster con formula 3, 10, (15),(34) : e,h - 1,5	
newington	3,15	e,h	1,6	considerata varietà O 15+ di anatum con formula 3,10,(15),(34) : e,h - 1,6	mangimi, acqua
minneapolis	3,15,34	e,h	1,6	considerata varietà O 15,34+ di anatum con formula 3,10,(15),(34) : e,h - 1,6	
selandia	3,15	e,h	1,7	considerata varietà O 15+ di nyborg con formula 3,10,(15) : e,h - 1,7	
cambridge	3,15	e,h	l,w	considerata varietà O 15+ di meleagridis con formula 3,10,(15),(34) : e,h - l,w	
wildwood	3,15,34	e,h	l,w	considerata varietà O 15,34+ di meleagridis con formula 3,10,(15),(34) : e,h - l,w	
drypool	3,(15),(34)	g,m,s	-	considerata varietà O 15,34+ di amsterdam con formula 3,10,(15),(34) : g,m,s-	
parow II	3,15	g,m,s,t	-		
halmstad	3,15	g, s,t	-	considerata varietà O 15+ di westhampton con formula 3,10,(15),(34) : g,s,t-	
canoga	3,15,34	g,s,t	-	considerata varietà O 15,34+ di westhampton con formula 3, 10,(15),(34) : g,s,t-	
dessau	1,3,15,19	g,s,t	-		
nancy	3,15	l,v	1,2	considerata varietà O 15+ di nchanga con formula 3,10,(15) : l,v - 1,2	

portsmouth	3,15	l,v	1,6	considerata varietà O 15+ di london con formula 3,10,(15) : l,v - 1,6	
new-brunswick	3,15	l,v	1,7	considerata varietà O 15+ di give con formula 3,10,(15),(34) : (d) l,v : (d) 1,7	
menhaden	3,15,34	l,v	1,7	considerata varietà O 15,34+ di give con formula 3,10,(15),(34) : (d) l,v - 1,7	
kinshasa	3,15	l,z13	1,5	considerata varietà O 15+ di uganda con formula 3,10,(15) : l,z13 - 1,5	
lanka	3,15	r	z6	considerata varietà O 15+ di weltevreden con formula 3,10,(15) : r - z6	
tuebingen	3,15	y	1,2	considerata varietà O 15+ di amager con formula 3,10,(15) : y - 1,2	
binza	3,15	y	1,5	considerata varietà O 15+ di orion con formula 3,10,(15),(34) : y - 1,5	
thomasville	3,15,34	y	1,5	considerata varietà O 15+ di orion con formula 3,10,(15),(34) : y - 1,5	
cannonhill	1,3,15,19	y	e,n,x		
tournai	3,15	y	z6	considerata varietà O 15+ di stockholm con formula 3,10,(15) : y - z6	volatili, carni suine, di pollo, lettiera
manila	3,15	z10	1,5	considerata varietà O 15+ di lexington con formula 3,10,(15),(34) : z10 - 1,5	
illinois	3,15,34	z10	1,5	considerata varietà O 15,34+ di lexington con formula 3,10,(15),(34) : z10 - 1,5	
harrisonburg	3,15,34	z10	1,6		
hamilton	3,15	z27 (fase R)	-	considerata varietà H z27+ di vejle con	

				formula 3,10,15 : e,h - 1,2 - z27	
jedburgh	3,(15)	z29	-		
pietersburg	3,(15),(34)	z29	1,7		

Gruppo E 4 (O 1,3,19)

niumi	1,3,19	a	1,5		
juba	1,3,19	a	1,7		
alkmaar	1,3,19	a	l,w		
gwoza	1,3,19	a	e,n,z15		
gnesta	1,3,19	b	1,5		
visby	1,3,19	b	1,6		
tambacounda	1,3,19	b	e,n,x		
kande	1,3,19	b	e,n,z15		
broughton	1,3,19	b	l,w		
accra	1,3,19	b	z6		
eastglam	1,3,19	c	1,5		
bida	1,3,19	c	1,6		
madiago	1,3,19	c	1,7		
ahmadi	1,3,19	d	1,5		
liverpool	1,3,19	d	e,n,z15		
tilburg	1,3,19	d	l,w	in fase R può avere il fattore H z49	
niloese	1,3,19	d	z6		
vilvoorde	1,3,19	e,h	1,5		
hayindogo	1,3,19	e,h	1,6		
sankt-marx	1,3,19	e,h	1,7		
sao	1,3,19	e,h	e,n,z15		
calabar	1,3,19	e,h	l,w		
rideau	1,3,19	f,g	-		
petahtikva	1,3,19	f,g,t	1,7		
maiduguri	1,3,19	f,g,t	e,n,z15		
kouka	1,3,19	g,m,(t)	-		
senftenberg	1,3,19	g,(s),t	-	in fase R può avere i fattori H z43, z45, z46	polli, suini, carni bovine, suine, di pollo, insaccati, mangimi, superfici, lettiera
cannstatt	1,3,19	m,t	-		
stratford	1,3,19	i	1,2		
ouagadougou	1,3,19	i	1,5		
chichester	1,3,19	i	1,6		
machaga	1,3,19	i	e,n,x		
avonmounth	1,3,19	i	e,n,z15		
zuilen	1,3,19	i	l,w		
taksony	1,3,19	(i)	z6		

oesterbro	1,3,19	k	1,5		
bethune	1,3,19	k	1,7		
ngor	1,3,19	l,v	1,5		
parkroyal	1,3,19	l,v	1,7		
svedvi	1,3,19	l,v	e,n,z15		
fulda	1,3,19	l,w	1,5		
westerstede	1,3,19	l,z13	(1,2)		
winterthur	1,3,19	l,z13	1,6		
tomelilla	1,3,19	l,z28	1,7		
kindia	1,3,19	l,z28	e,n,x		
lokstedt	1,3,19	l,z13,z28	1,2		
stuivenberg	1,3,19	l,z13,z28	1,5		
bedford	1,3,19	l,z13,z28	e,n,z15		
cannstatt	1,3,19	m,t	-		
yading	1,3,19	r	e,n,z15		
fareham	1,3,19	r,i	l,w		
gatineau	1,3,19	y	1,5		
thies	1,3,19	y	1,7		
krefeld	1,3,19	y	l,w		mangimi
kinson	1,3,19	y	e,n,x		
slade	1,3,19	y	e,n,z15		
korlebu	1,3,19	z	1,5		
kainji	1,3,19	z	1,6		
lerum	1,3,19	z	1,7		
schoeneberg	1,3,19	z	e,n,z15		
carno	1,3,19	z	l,w		
hongkong	1,3,19	z	z6		
sambre	1,3,19	z4,z24	-		
dallgow	1,3,19	z10	e,n,z15		
simsbury	1,3,19	z27 (fase R)	-	considerata fase R di senftenberg	
llandoff	1,3,19	z29	(z6)		
ochiogu	1,3,19	z38	(e,n,z15)		

Gruppo F (O 11)

salmonella II	11	-	1,5		
gallen	11	a	1,2		
marseille	11	a	1,5		
salmonella II	11	a	1,5		
toowong	11	a	1,7		
montgomery II	11	a,(d)	(d), e,n,z15		
luciana	11	a	e,n,z15		
epinay	11	a	l,z13,z28		
glencairn II	11	a	z6 : z42		
atento	11	b	1,2		

leeuwarden	11	b	1,5		
wohlen	11	b	1,6		
salmonella VI	11	b	1,7		
srinagar VI	11	b	e,n,x		
pharr	11	b	e,n,z15		
chiredzi	11	c	1,5		
brindisi	11	c	1,6		
woodinville	11	c	e,n,x		
salmonella II	11	c	e,n,z15		
ati	11	d	1,2		
gustavia	11	d	1,5		
chandans	11	d	e,n,x : (r)		
montgomery	11	d : a	e,n,z15		
findorff	11	d	z6		
chingola	11	e,h	1,2		
adamstua	11	e,h	1,6		
redhill	11	e,h	l,z13,z28		
abuja	11	g,m	1,5		
grabouw II	11	g,(m),s,t	(z39)		
missouri	11	g,s,t	-		
mundsburg IV	11	g,z51	-		
moers	11	m,t	-		
lincoln II	11	m,t	e,n,x		
aberdeen	11	i	1,2		
brijbhumi	11	i	1,5		
heerlen	11	i	1,6		
veneziana	11	i	e,n,x		carnivori domestici, uomo, insaccati
pretoria	11	k	1,2		
abaetetuba	11	k	1,5		
sharon	11	k	1,6		
colobane	11	k	1,7		
kisarawe	11	k	e,n,x, (z15)		
mannheim	11	k	l,w		
amba	11	k	l,z13,z28		
salmonella IIIb	11	k	z53	= Arizona 17 : 29 : 25	
stendal	11	l,v	1,2		
maracaibo	11	l,v	1,5		
fann	11	l,v	e,n,x		
bullbay	11	l,v	e,n,z15		
salmonella IIIb	11	l,v	z53	= Arizona 17 : 23 : 25	
salmonella IIIb	11	l,v	z	= Arizona 17 : 23 : 31 in fase R può avere il fattore H z56	

glidji	11	l,w	1,5		
tours	11	l,z13	1,2		
connecticut	11	l,z13,z28	1,5		
osnabrueck	11	l,z13,z28	e,n,x		
huila II	11	l,z28	e,n,x		
senegal	11	r	1,5		
rubislaw	11	r	(e,n,x)		
clanvillian	11	r	e,n,z15		
euston	11	r,i	e,n,x,z15		
volta	11	r	l,z13,z28		
solt	11	y	1,5		
jalisco	11	y	1,7		
herzliya	11	y	e,n,x		
woumbou	11	y	e,n,x,z15		
crewe	11	z	1,5		
maroua	11	z	1,7		
salmonella II	11	z	e,n,x		
nyanza	11	z	z6, (z83)		
soutpan II	11	z	z39		
remete	11	z4,z23	1,6		
etterbeek	11	z4,z23	e,n,z15		
yehuda	11	z4,z24	-		
salmonella IV	11	z4,z32	-		
wentworth	11	z10	1,2		
straengnaes	11	z10	1,5		
tel-hashomer	11	z10	e,n,x		
lene	11	z38	-		
maastricht	11	z41	1,2		
salmonella II	11	-	1,5		

Gruppo G 1 (O 13,22)

mim	13,22	a	1,6		
salmonella II	13,22	a	e,n,x		
marschall	13,22	a	l,z13,z28		
ibadan	13,22	b	1,5		
oudwijk	13,22	b	1,6		
rottnest	1,13,22	b	1,7		
vaertan	13,22	b	e,n,x		
bahati	13,22	b	e,n,z15		
sanktjohann	13,23	b	l,w		
salmonella II	1,13,22	b	z42		
haouaria	13,22	c	e,n,x,z15		
friedenau	13,22	d	1,6		
diguel	1,13,22	d	e,n,z15		

willemstad	1,13,22	e,h	1,6		
raus	13,22	f,g	e,n,x		
salmonella II	13,22	f,g,t	-		
bron	13,22	g,m	(e,n,z15)		
limbe II	1,13,22	g,m,t	(1,5)		
new york	13,22	g,s,t	-		pesci, acqua
rotterdam II	13,22	g,t	(1,5)		
salmonella II	13,22	g,t	z6		
washington	13,22	m,t	-		
salmonella II	13,22	m,t	z42 : z39		
salmonella II	13,22	k	1,5 : z42		
salmonella V	1,13,22	i	-		
lovelace	13,22	l,v	1,5		
salmonella IIIb	13,22	l,v	1,5,7	= Arizona 18 : 23 : 30	
borbeck	13,22	l,v	1,6		
taiping	13,22	l,z13	e,n,z15		
salmonella II	13,22	l,z28	1,5		
salmonella V	13,22	r	-		
tanger	1,13,22	y	1,6		
poona	13,22	z	1,6 : (z44)	in fase R può avere il fattore H z59	
bristol	13,22	z	1,7		
tanzania	1,13,22	z	e,n,z15		
salmonella II	13,22	z	-		
salmonella IIIa	13,22	z4,z23	-	= Arizona 18 : 1,2,5 : -	
ried	1,13,22	z4,z23	(e,n,z15)		
roodepoort	1,13,22	z10	1,5		
salmonella II	1,13,22	z10	z6		
sapele	13,23	z10	e,n,z15		
agoueve	13,22	z29	-		
clifton II	13,22	z29	1,5		
goodwood II	13,22	z29	e,n,x		
mampong	13,22	z35	1,6		
nimes	13,22	z35	e,n,z15		
leiden	13,22	z38	-		
salmonella II	13,22	z39	1,7		

Gruppo G 2 (O 13,23)

salmonella II	13,23	-	1,6		
chagoua	1,13,23	a	1,5		
salmonella II	1,13,23	a	1,5		
wyldegreen	1,13,23	a	l,w		
tygerberg II	1,13,23	a	z42		

atlanta	13,23	b	-	assorbita da mississippi 1,13,23 : b - 1,5	
sankt-johann	13,23	b	l,w		
mississippi	1,13,23	b	(1,5)		
acres II	1,13,23	b	(1,5) : z42		
bracknell	13,23	b	1,6		
ullevi	1,13,23	b	e,n,x		
durham	13,23	b	e,n,z15		
handen	1,13,23	d	1,2		
mishmar-haemek	1,13,23	d	1,5		
wichita	1,13,23	d	1,6	in fase R può avere il fattore H z37	
grumpensis	1,13,23	d	1,7		
salmonella II	13,23	d	e,n,x		
tel-el-kebir	13,23	d	e,n,z15		
salmonella II	1,13,23	d	e,n,z15		
putten	13,23	d	l,w		
isuge	13,23	d	z6		
tschangu	1,13,23	e,h	1,5		
vridi	1,13,23	e,h	l,w		
epping II	1,13,23	e,n,x	1,(5),7		
havana	1,13,23	f,g,(s)	-	in fase R può avere i fattori H z45 e z79	
salmonella IIIa	1,13,23	g,51	-	= Arizona 18 : 13,14 : -	
agbeni	1,13,23	g,m,(s),(t)	-		
congo	13,23	g,m,s,t	-		
salmonella II	1,13,23	g,m,s,t	1,5		
salmonella II	1,13,23	g,m,s,t	z42		
kraaifontein II	1,13,23	g,m,t	(e,n,x)	assorbita da luanshya 1,13,23 : g,m,s,t - (e,n,x)	
okatie	13,23	g,(s),t	-		
luanshya II	1,13,23	g,m,s,t	(e,n,x)		
gojenberg II	1,13,23	g,t	1,5		
salmonella II	13,23	g,t	e,n,x		
salmonella II	1,13,23	g,(s),t	z42		
kintambo	1,13,23	m,t	-		
katesgrove II	1,13,23	m,t	1,5		
worcester II	1,13,23	m,t	e,n,x		
boulders II	1,13,23	m.t	z42		
idikan	1,13,23	i	1,5		
jukestown	13,23	i	e,n,z15		
kedougou	1,13,23	i	l,w		carni suine, insaccati, acque

marburg	13,23	k	-		
salmonella II	13,23	k	z41		
nanga	1,13,23	l,v	e,n,z15		
salmonella II	13,23	l,w	e,n,x		
salmonella II	13,23	l,z28	1,5		
salmonella II	13,23	l,z28	z6		
vredelust II	1,13,23	l,z28	z42		
adjame	13,23	r	1,6		
linton	13,23	r	e,n,z15		
yarrabah	13,23	y	1,7		
ordonez	1,13,23	y	l,w		
tunis	1,13,23	y	z6		
nachshonim II	1,13,23	z	1,5		
salmonella IIIb	13,23	z	1,5		
farmsen	13,23	z	1,6		
worthington	1,13,23	z	l,w	in fase R può avere il fattore H z45	
salmonella II	1,13,23	z	z42		
ajiobo	13,23	z4,z23	-		
salmonella IIIa	13,23	z4,z23,(z32)	-	= Arizona 18 : 1,6,7 : -	
romanby	1,13,23	z4,z24	-		
salmonella IIIa	1,13,23	z4,z24	-	= Arizona 18 : 1,3,11 : -	
demerara	13,23	z10	l,w		
sapele	13.23	z10	e,n,z15		
cubana	1,13,23	z29	-	in fase R può avere i fattori H z37 e z43	
salmonella II	1,13,23	z29	e,n,x		
salmonella II	1,13,23	z29	1,5		
anna	13,23	z35	e,n,z15		
fanti	13,23	z38	-		
salmonella II	1,13,23	z39	1,5,7		
stevenage II	1,13,23	(z42)	1,(5),7		

Gruppo H (0 6,14,24,25)

garba	1,6,14,25	a	1,5		
salmonella VI	(1),6,14	a	1,5		
ferlac VI	1,6,14,25	a	e,n,x		
banjul	1,6,14,25	a	e,n,z15		
ndjamena	1,6,14,25	b	1,2		
kuntair	1,6,14,25	b	1,5		
tucson	(1),6,14,(25)	b	(1,7)		
salmonella IIIb	(6),14	b	e,n,x,z15	= Arizona 7a,7c : 43 : 28	

bljidorp	1,6,14,25	c	1,5		
kassberg	1,6,14,25	c	1,6		
runby	1,6,14,25	c	e,n,x		
minna	1,6,14,25	c	l,w		
heves	6,14,(24)	d	1,5		
finkenwerder	(1),6,14,(25)	d	1,5		
woodhull	1,6,14,25	d	1,6		
florida	(1),6,14,(25)	d	1,7		
midway	6, 14,24	d	1,7		
lindern	6,14,(24)	d	e,n,x		
charity	(1),6,14,(25)	d	e,n,x		
teko	(1),6,14,(25)	d	e,n,z15		
encino	1,6,14,25	d	l,z13,z28		
albuquerque	1,6,14,24	d	z6		
bahrenfeld	6,14,24	e,h	1,5		
onderstepoort	1,6,14,(25)	e,h	1,5		
magumeri	1,6,14,25	e,h	1,6		
beaudesert	(1),6,14,(25)	e,h	1,7		
salmonella V	6,14	e,n,z15	-		
warragul	(1),6,14,(25)	g,m	-		
caracas	(1),6,14,(25)	g,m,s	-		
sylvania	(1),6,14,(25)	g,p	-		
catanzaro	6,14	g,s,t	-		
kaitaan	1,6,14,25	m,t	-		
rooikrantz II	1,6,14	m,t	1,5		
emmerich II	6,14	(m,t)	e,n,x		
mampeza	1,6,14,25	i	1,5		
buzu	(1),6,14,(25)	i	1,7		
schalkwijk	6,14,24	i	e,n,...		
moussoro	1,6,14,25	i	e,n,z15		
harburg	(1),6,14,(25)	k	1,5		
salmonella II	6,14,(24)	k	1,6		
salmonella II	6,14	k	(e,n,x)		
salmonella IIIb	(6),14	k	z	= Arizona 7a,7c : 29 : 31	
salmonella IIIb	(6),14	k	z53	= Arizona 7a,7c : 29 : 25	
salmonella II	1,6,14	k	z6,z42		
boecker	(1),6,14,(25)	l,v	1,7		
horsham	1,6,14,(25)	l,v	e,n,x		
alpenquai	6,14	l,v	e,n,z15		
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z	= Arizona 7a,7c : 23 : 31	
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z35	= Arizona 7a,7c : 23 : 21	
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z53	= Arizona 7a,7c : 23 : 25	

salmonella VI	6,14	l,v	z88	malonato ±	
aflao	1,6,14,25	l,z28	e,n,x		
salmonella IIIb	(6),14	r	z	= Arizona 7a,7c : 24 : 31	
istoria	1,6,14,25	r,i	1,5		
surat	(1),6,14,(25)	(r),(i)	e,n,z15		
carrau	6,14,(24)	y	1,7		
madelia	1,6,14,25	y	1,7		
fischerkietz	1,6,14,25	y	e,n,x		
mornington	1,6,14,25	y	e,n,z15		
homosassa	1,6,14,25	z	1,5		
kanifing	1,6,14,25	z	1,6		
soahanina	6,14,24	z	e,n,x		
sundsvall	(1),6,14,(25)	z	e,n,x		
royan	1,6,14,25	z	e,n,z15		
poano	1,6,14,25	z	l,z13,z28		
salmonella IV	6,14	z4,z23	-		
arapahoe	1,6,14	z4,z23	1,5		
bousso	1,6,14,25	z4,z23	(e,n,z15)		
chichiri	6,14,24	z4,z24	-		
uzaramo	1,6,14,25	z4,z24	-		
nessa	1,6,14,25	z10	1,2		
laredo	1,6,14,25	z10	1,6		
simonstown II	1,6,14	z10	1,5		
bornheim VI	1,6,14,25	z10	1,(2),7	classificata anche nel sottogenere II	
salmonella IIIb	(6),14	z10	e,n,x,z15	= Arizona 7a,7c : 27 : 28	
salmonella IIIb	(6), 14	z10	z53	corrisponed ad arizona 7a,7c : 27 : 25	
salmonella IIIb	(6),14	z10	z : (z53)	corrisponed ad arizona 7a,7c : 27 : 31 : (25)	
slangkop II	1,6,14	z10	z6: z42		
salmonella II	6,14	z36	-		
potosi	6,14	z36	1,5		
sara	1,6,14,25	z38	(e,n,x)		
salmonella II	1,6,14	z42	1,6		
salmonella IIIb	(6),14	z52	-	= Arizona 7a,7c : 26 : 28	
salmonella IIIb	(6),14	z52	z35	= Arizona 7a,7c : 26 : 21	

Gruppo I (O 16)

hannover	16	a	1,2		
brazil	16	a	1,5		

amunigun	16	a	1,6		
nyeko	16	a	1,7		
togba	16	a	e,n,x		
fischerhuette	16	a	e,n,z15		
heron	16	a	z6		
hull	16	b	1,2		
melaka	16	b	1,2,5		
wa	16	b	1,5		
glasgow	16	b	1,6		
hvittingfoss	16	b	e,n,x		
salmonella II	16	b	e,n,x		
sangera	16	b	e,n,z15		
vegesack	16	b	l,w		
malstatt	16	b	z6		
salmonella II	16	b	z39		
salmonella II	16	b	z42		
vancouver	16	c	1,5		
gafsa	16	c	1,6		
shamba	16	c	e,n,x		
hithergreen	16	c	e,n,z15		
yoruba	16	c	l,w		
oldenburg	16	d	1,2		
sculcoates	16	d	1,5		
salmonella II	16	d	1,5		
sherbrooke	16	d	1,6		
gaminara	16	d	1,7		
barranquilla	16	d	e,n,x		
salmonella II	16	d	e,n,x		
nottingham	16	d	e,n,z15		
caen	16	d	l,w		
barmbek	16	d	z6		
malakal	16	e,h	1,2		
saboya	16	e,h	1,5		
rhydyfelin	16	e,h	e,n,x		
weston	16	e,h	z6		
bellville	16	e,n,x	1,(5),7		
salmonella II	16	(e,n,x)	1,6 : z42		
tees	16	f,g	-		
adeoyo	16	g,m,(t)	-		
nikolaifleet	16	g,m,s	-		
mobeni II	16	g,(m),(s),t	(e,n,x)		
cardoner	16	g,s,t	-		
merseyside II	16	g,t	(1,5)		
salmonella II	16	g,(m),(s),t	z42		

mpouto	16	m,t	-		
salmonella II	16	m,t	e,n,x		
morbihan	16	m,t	e,n,z15		
rowburton II	16	m,t	(z42)		
amina	16	i	1,5		
agbara	16	i	1,6		
wisbech	16	i	1,7		
frankfurt	16	i	e,n,z15		
pisa	16	i	l,w		
abobo	16	i	z6		
salmonella IIIb	16	i	z35	= Arizona 25 : 33 : 21	
szentes	16	k	1,2		
nuatja	16	k	e,n,x		
orientalis	16	k	e,n,z15		
salmonella IIIb	16	k	z	= Arizona 25 : 29 : 31	
salmonella IIIb	16	k	z35	= Arizona 25 : 22 : 21	
salmonella IIIb	16	k	z53	= Arizona 25 : 29 : 25	
salmonella IIIb	16	l,v	1,5,7	= Arizona 25 : 23 : 30	
shanghai	16	l,v	1,6		
welikade	16	l,v	1,7		
salford	16	l,v	e,n,x		
burgas	16	l,v	e,n,z15		
essingen	16	l,v	z6		
salmonella IIIb	16	l,v	z35	= Arizona 25 : 23 : 21	
salmonella IIIb	16	l,v	z53	= Arizona 25 : 23 : 25	
los-angeles	16	l,v	z6		
salmonella IIIb	16	l,v	z : (z61)	= Arizona 25 : 23 : 31 : (41)	
zigong	16	l,w	1,5		
westeinde	16	l,w	1,6		
brooklyn	16	l,w	e,n,x		
lomnava	16	l,w	e,n,z15		
noordhoek II	16	l,w	z6		
mandera	16	l,z13	e,n,z15		
enugu	16	l,(z13), z28	(1,5)		
battle	16	l,z13,z28	1,6		
ablogame	16	l,z13,z28	z6		
sarepta II	16	l,z28	z42		
ivory	16	r	1,6		
brunflo	16	r	1,7		
rovaniemi	16	r,i	1,5		

annedal	16	r,i	e,n,x		
zwickau	16	r,i	e,n,z15		
saphra	16	y	1,5		
akuafo	16	y	1,6		
kikoma	16	y	e,n,x		
avignon	16	y	e,n,z15		
gerland	16	z	1,5		
fortlamy	16	z	1,6		
lingwala	16	z	1,7		
louwbester II	16	z	e,n,x		
brevik	16	z	e,n,(x),z15		
bouake	16	z	z6		
salmonella II	16	z	z42		
kibi	16	z4,z23	(1,6)		
haddon II	16	z4,z23	-		
axim	16	z4,z23	z6		
salmonella II	16	z4,z24	-		
salmonella IV	16	z4,z24	-		
salmonella II	16	z6	1,6		
badagry	16	z10	1,5		
salmonella IIIb	16	z10	1,5,7	= Arizona 25 : 27 : 30	
lisboa	16	z10	1,6		
redlands	16	z10	e,n,z15		
angouleme	16	z10	z6		
saloniki	16	z29	-		
jacksonville II	16	z29	(e,n,x)		
salmonella II	16	z29	1,5		
trier	16	z35	1,6		
salmonella II	16	z35	e,n,x		
dakota	16	z35	e,n,z15		
salmonella IV	16	z36	-		
salmonella II	16	z36	e,n,z15		
naware	16	z38	-		
grancanaria	16	z39	(1,6)	d-tartrato - , dulcite -, ONPG +	
woodstoch II	16	z42	1,(5),7		
elsiesriver II	16	z42	1,6		
salmonella IIIb	16	z52	z35	= Arizona 25 : 26 : 21	

Gruppo J (O 17)

bonames	17	a	1,2		
jangwani	17	a	1,5		
kinondoni	17	a	e,n,x		
kirkee	17	b	1,2		

dahra	17	b	1,5		
mattenhof	17	b	e,n,x		
hillbrow II	17	b	e,n,x,z15		
bignona	17	b	e,n,z15		
salmonella II	17	b	z6		
luedinghausen	17	c	1,5		
victoriaborg	17	c	1,6		
woerden II	17	c	z39		
berlin	17	d	1,5		
niamey	17	d	l,w		
karlshamn	17	d	e,n,z15		
jubilee	17	e,h	1,2		
verity II	17	e,n,x,z15	1,6		
salmonella II	17	e,n,x,z15	1,(5),7		
bleadon II	17	(f),g,t	(e,n,x,z15)		
salmonella II	17	g,t	z39		
salmonella II	17	g,m,s,t	-		
lowestoft	17	g,s,t	-		
bama	17	m,t	-		
salmonella II	17	m,t	-		
ahanou	17	i	1,7		
salmonella IIIb	17	i	z35	= Arizona 12 : 33 : 21	
irenea	17	k	1,5		
warri	17	k	1,7		
salmonella II	17	k	-		
matadi	17	k	e,n,x		
zaria	17	k	e,n,z15		
salmonella IIIb	17	k	z	= Arizona 12 : 29 : 32	
morotai	17	l,v	1,2		
michigan	17	l,v	1,5		
lancaster	17	l,v	1,7		
car mel	17	l,v	e,n,x		
salmonella IIIb	17	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 12 : 23 : 28	
salmonella IIIb	17	l,v	z35	= Arizona 12 : 23 : 21	
granlo	17	l,z28	e,n,x		
lode	17	r	1,2		
salmonella IIIb	17	r	z	= Arizona 12 : 24 : 31	
lokomo	17	y	l,w		
tendeba	17	y	e,n,x		
hadejia	17	y	e,n,z15		
salmonella II	17	y	-		
gori	17	z	1,2		

warengo	17	z	1,5		
salmonella II	17	z	1,7		
tchamba	17	z	e,n,z15		
constantia II	17	z	l,w : z42		
salmonella II	17	z10	-		
djibouti	17	z10	e,n,x		
salmonella IIIb	17	z10	e,n,x,z15	= Arizona 12 : 27 : 28 in fase R può avere il fattore z56	
salmonella IIIb	17	z10	z	= Arizona 12 : 27 : 31	
kandla	17	z29	-		
salmonella IIIa	17	z29	-	= Arizona 12 : 16,17,18 : -	
salmonella IV	17	z29	-		
salmonella IIIa	17	z4,z23	-	= Arizona 12 : 1,2,5 : - e 12 : 1,2,6 : -	
salmonella IIIa	17	z4,z23,z32	-	= Arizona 12 : 1,6,7,9 : -	
salmonella IIIa	17	z4,z24	-	= Arizona 12 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	17	z4,z32	-	= Arizona 12 : 1,6,7 : - e 12 : 1,7,8 : -	
aachen	17	z35	1,6		

Gruppo K (O 18)

brazos	6,14,18	a	e,n,z15		
fluntern	6,14,18	b	1,5		
rawash	6,14,18	c	e,n,x		
groenekan	18	d	1,5		
usumbura	6,14,18	d	1,7		
pontypridd	18	g,m	-		
salmonella IIIa	18	g,z51	-	= Arizona 7a,7b : 13,14 : -	
langenhorn	18	m,t	-		
salmonella II	18	m,t	1,5		
memphis	18	k	1,5		
salmonella IIIb	18	(k)	z53	= Arizona 7a,7b : 22 : 25	
salmonella IIIa	18	(k)	z54	= Arizona 7a,7b : 22 : 34	
salmonella IIIa	18	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 7a,7b . 23 : 28	
orlando	18	l,v	e,n,z15		
salmonella IIIb	18	l,v	z	= Arizona 7a,7b : 23 : 31	
salmonella IIIb	18	l,v	z53	= Arizona 7a,7b : 23 : 25	

toulon	18	l,w	e,n,z15		
salmonella IIIb	18	r	z	= Arizona 7a,7b : 24 : 31	
tennenlohe	18	r	1,5		
troy	18	y	1,7		
salmonella II	18	y	e,n,x,z15		
potengi	18	z	-		
cerro	18	z4,z23	(1,5)		
siegburg	6,14,18	z4,z23	(1,5)	considereta varietà O14+ di cerro assorbita da cerro	
salmonella II	18	z4,z23	-		
aarhus	18	z4,z23	z64		
salmonella IIIa	18	z4,z23	-	= Arizona 7a,7b : 1,2,5 : - e 7a,7b : 1,2,6 : -	
blukwa	6,14,18	z4,z24	-		
salmonella II	18	z4,z24	-		
shomron II	18	z4,z32	-	assorbita da arizona 7a,7b : 1,7,8 : -	
salmonella IIIa	18	Z4,Z32	-	= Arizona 7a,7b : 1,6,7 : - e 7a,7b : 1,7,8 : -	
leer	18	z10	1,5		
salmonella IIIb	18	z10	e,n,x,z15	= Arizona 7a,7b : 27 : 28	
carnac	18	z10	z6		
zeist II	18	z10	z6		
beloha II	18	z36	-		
salmonella IV	18	z36,z38	-		
sinthia	18	z38	-		
cotia	18	-	1,6		
delmenhorst	18	z71	-		

Gruppo L (O 21)

assen	21	a	(1,5)		
salmonella II	21	b	1,5		
ghana	21	b	1,6		
minnesota	21	b	e,n,x	in fase R può avere i fattori H z33 o z49	
hydra	21	c	1,6		
rhone	21	c	e,n,x		
salmonella II	21	c	e,n,x		
salmonella IIIb	21	c	e,n,x,z15	= Arizona 22 : 32 : 28	
spartel	21	d	1,5		
magwa	21	d	e,n,x		

madison	21	d	z6		
good	21	f,g	e,n,x		
salmonella II	21	m,t	-		
salmonella II	21	g,(m),(s),t	-		
salmonella IIIb	21	g,z51	-	= Arizona 22 : 13,14 : -	
salmonella IV	21	g,z51	-		
diourbel	21	i	1,2		
salmonella IIIb	21	i	1,5,7	= Arizona 22 : 33 : 30	
salmonella IIIb	21	i	e,n,x,z15	= Arizona 22 : 33 : 28	
salmonella IIIb	21	k	e,n,x,z15	= Arizona 22 : 29 : 28	
salmonella IIIb	21	k	z	= Arizona 22 : 29 : 31	
salmonella IIIb	21	l,v	z	= Arizona 22 : 23 : 31	
salmonella IIIb	21	l,v	z57	= Arizona 22 : 23 : 40	
surrey	21	k	1,(2),5		
keve	21	l,w	-		
jambur	21	l,z28	e,n,z15		
mountmagnet	21	r	-		
salmonella IIIb	21	r	z	= Arizona 22 : 24 : 31	
ibaragi	21	y	1,2		
ruiru	21	y	e,n,x		
salmonella II	21	z	-		
baguida	21	z4,z23	-		
gwaai II	21	z4,z24	-		
salmonella IIIa	21	z4,z24	-	= Arizona 22 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	21	z4,z23	-	= Arizona 22 : 1,2,5 : - e 22 : 1,2,6 : -	
soesterberg IV	21	z4,z23	-		
salmonella IV	21	z4,z32	-		
wandsbek II	21	z10	(z6)		
salmonella IIIb	21	z10	e,n,x,z15	= Arizona 22 : 27 : 28	
salmonella IIIb	21	z10	z	= Arizona 22 : 27 : 31	
salmonella IIIb	21	z10	z53	= Arizona 22 : 27 : 25	
gambaga	21	z35	e,n,z15		
salmonella IIIb	21	z65	e,n,x,z15	= Arizona 22 : 32 : 28	

Gruppo M (O 28)

solna	28	a	1,5		

dakar	28	a	1,6		
bakau	28	a	1,7		
seattle	28	a	e,n,x		
salmonella II	28	a	e,n,x		
honelis	28	a	e,n,z15		
dibra	28	a	z6		
freefalls	28	b	l,w		
moero	28	b	1,5		
ashanti	28	b	1,6		
bokanjac	28	b	1,7		
soumbedioune	28	b	e,n,x		
salmonella II	28	b	e,n,x		
langford	28	b	e,n,z15		
kaltenhausen II	28	b	z6		
hermannswerder	28	c	1,5		
eberswalde	28	c	1,6		
halle	28	c	1,7		
dresden	28	c	e,n,x		
wedding	28	c	e,n,z15		
techimani	28	c	z6		
amoutive	28	d	1,5		
hatfield	28	d	1,6		
mundonobo	28	d	1,7		
mocamedes	28	d	e,n,x		
patience	28	d	e,n,z15		
cullingworth	28	d	l,w		
kpeme	28	e,h	1,7		
gozo	28	e,h	e,n,z15		
salmonella II	28	e,n,x	1,7		
salmonella II	28	e,n,z15	z87		
friedrichsfelde	28	f,g	-		
yardley	28	g,m	1,6		
abadina	28	g,m	(e,n,z15)		
croft	28	g,m,s	(e,n,z15)		
llandudno II	28	g,(m),(s),t	1,5		
salmonella II	28	g,m,t	e,n,x		
salmonella II	28	g,m,t	z39		
ona	28	g,s,t	-		
salmonella II	28	g,s,t	e,n,x		
morillons	28	m,t	1,6		
vinohrady	28	m,t	(e,n,z15)		
salmonella II	28	m,t	(e,n,x)		
doorn	28	i	1,2		
cotham	28	i	1,5		

volksmarsdorf	28	i	1,6		
dieuppeul	28	i	1,7		
warnemuende	28	i	e,n,x		
kuessel	28	i	e,n,z15		
douala	28	i	l,w		
guildford	28	k	1,2		
ilala	28	k	1,5		
adamstown	28	k	1,6		
ikeja	28	k	1,7		
salmonella IIIb	28	k	1,7		
taunton	28	k	e,n,x		
ank	28	k	e,n,z15		
leoben	28	l,v	1,5		
vitkin	28	l,v	e,n,x		
nashua	28	l,v	e,n,z15		
ramsey	28	l,w	1,6		
catalunia	28	l,z13,z28	1,5		
penilla	28	l,z13,z28	e,n,z15		
fajara	28	l,z28	e,n,x		
salmonella II	28	l,z28	1,5		
chicago	28	r, (i)	1,5		
bassadji	28	r	1,6		
banco	28	r,i	1,7		
kibusi	28	r	e,n,x		
oevelgoenne II	28	r	e,n,z15		
sankt-georg	28	r, (i)	e,n,z15		
fairfield	28	r	l,w		
oskarshamn	28	y	1,2		
nima	28	y	1,5		
pomona	28	y	1,7	in fase R può avere i fattori H z60, z70, z80	
kitenge	28	y	e,n,x		
tel-aviv	28	y	e,n,z15		
shomolu	28	y	l,w		
selby	28	y	z6		
vanier	28	z	1,5		
salmonella II	28	z	1,5		
doel	28	z	1,6		
ezra	28	z	1,7		
brisbane	28	z	e,n,z15		
ceres II	28	z	z39		
cannobio	28	z4,z23	1,5		
teltow	28	z4,z23	1,6		
babelsberg	28	z4,z23	(e,n,z15)		

rogy	28	z10	1,2		
farakan	28	z10	1,5		
libreville	28	z10	1,6		
malaysia	28	z10	1,7		
umbilo	28	z10	e,n,x		bovini, acque
luckenwalde	28	z10	e,n,z15		
moroto	28	z10	l,w		
salmonella IIIb	28	z10	z	= Arizona 35 : 27 : 31	
salmonella IIIb	28	z10	z : (z57)	= Arizona 35 : 27 : 31 : (40)	
djermaia	28	z29	-		
salmonella II	28	z29	1,5		
salmonella II	28	z29	e,n,x		
konolfingen	28	z35	1,6		
babili	28	z35	1,7		
santander	28	z35	e,n,z15		
aderike	28	z38	(e,n,z15)		

Gruppo N (O 30)

overvecht	30	a	1,2		
zehlendorf	30	a	1,5		
guarapiranga	30	a	e,n,x		
doulassame	30	a	e,n,z15		
odijk	30	a	z39		
louga	30	b	1,2		
aschersleben	30	b	1,5		
tempe	30	b	1,7		
urbana	30	b	e,n,x		
neudorf	30	b	e,n,z15		
salmonella II	30	b	z6		
zaire	30	c	1,7		
morningside	30	c	e,n,z15		
salmonella II	30	c	z39		
messina	30	d	1,5		
livulu	30	e,h	1,2		
torhout	30	e,h	1,5		
slatograd II	30	g,t	-		
godesberg	30	g,m,(t)	-		
giessen	30	g,m,s	-		
salmonella II	30	g,m,s	e,n,x		
sternschanze	30	g,s,t	-	in fase R può avere il fattore H z59	
wayne	30	g,z51	-		

salmonella II	30	m,t	-		
landau	30	i	1,2		
morehead	30	i	1,5		
mjordan	30	i	e,n,z15		
soerenga	30	i	l,w		
hilversum	30	k	1,2		
ramatgan	30	k	1,5		
aqua	30	k	1,6		
angoda	30	k	e,n,x		
odozi	30	k	e,n,(x),z15		
salmonella II	30	k	e,n, x,z15		
ligeo	30	l,v	1,2		
donna	30	l,v	1,5		
ockenheim	30	l,z13,z28	1,6		
morocco	30	l,z13,z28	e,n,z15		
salmonella II	30	l,z28	z6		
grandhaven	30	r	1,2		
gege	30	r	1,5		
quincy	30	r	1,6		
matopeni	30	y	1,2		
bietri	30	y	1,5		
steinplatz	30	y	1,6		
baguirmi	30	y	e,n,x		
nijmegen	30	y	e,n,z15		
stoneferry	30	z4,z23	-		
bodjonegoro	30	z4,z24	-		
salmonella II	30	z6	1,6		
sada	30	z10	1,2		
senneville	30	z10	1,5		
kumasi	30	z10	e,n,z15		
salmonella II	30	z10	e,n,x,z15		
aragua	30	z29	-		
kokoli	30	z35	1,6		
wuiti	30	z35	e,n,z15		
ago	30	z38	-		
salmonella II	30	z39	1,7		

Gruppo O (O 35)

umhlatazana	35	a	e,n,z15		
tchad	35	b	-		
yolo	35	c	(e,n,z15)		
gouloumbo	35	c	1,5		
dembe	35	d	l,w		
salmonella II	35	d	1,5		

gassi	35	e,h	z6		
adelaide	35	f,g	-	in fase R può avere il fattore H z27	
salmonella II	35	(f),g,t	1,5		
ealing	35	g,m,s	-		
salmonella II	35	g,m,s,t	-		
ebrie	35	g,m,t	-		
anecho	35	g,s,t	-		
agodi	35	g,t	-		
salmonella II	35	g,t	1,5		
salmonella II	35	g,t	z42		
monschaui	35	m,t	-		
salmonella II	35	m,t	-		
salmonella IIIa	35	g,z51	-	= Arizona 20 : 13,14 : -	
salmonella IIIb	35	i	e,n,x,z15	= Arizona 20 : 33 . 28	
gamba	35	i	e,n,z15		
bandia	35	i	l,w		
salmonella IIIb	35	i	z	= Arizona 20 : 33 : 31	
salmonella IIIb	35	i	z35	= Arizona 20 : 33 : 21	
salmonella IIIb	35	i	z53	= Arizona 20 : 33 : 25	
salmonella IIIb	35	k	e,n,x,z15	= Arizona 20 : 29 : 28	
salmonella IIIb	35	k	z	= Arizona 20 . 29 : 31	
salmonella IIIb	35	k	z53	= Arizona 20 : 29 : 25 in fase R può avere il fattore H z50	
salmonella IIIb	35	(k)	z	= Arizona 20 : 22 : 31	
salmonella IIIb	35	(k)	z35	= Arizona 20 : 22 : 21	
salmonella IIIb	35	l,v	1,5,7	= Arizona 20 : 23 : 30	
salmonella IIIb	35	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 20 : 23 : 28	
salmonella IIIb	35	l,v	z35, (z67)	= Arizona 20 : 23 : 21	
salmonella II	35	l,z28	-		
salmonella IIIb	35	r	e,n,x,z15	= Arizona 20 : 24 : 28	
massakory	35	r	l,w		
salmonella IIIb	35	r	z	= Arizona 20 : 24 : 31	
salmonella IIIb	35	r	z35	= Arizona 20 : 24 : 21	

salmonella IIIb	35	r	z61	= Arizona 20 : 24 : 41	
alachua	35	z4,z23	-	in fase R può avere i fattori H z37 e z45	carni suine
salmonella IIIa	35	z4,z23	-	= Arizona 20 : 1,2,6 : -	
westphalia	35	z4,z24	-		
salmonella IIIa	35	z4,z32	-	= Arizona 20 : 1,7,8 : -	
camberene	35	z10	1,5		
enschede	35	z10	l,w		
salmonella IIIb	35	z10	z35	= Arizona 20 : 27 : 21	
ligna	35	z10	z6		
widemarsch	35	z29	-		
salmonella IIIa	35	z29	-	= Arizona 20 : 16,17,18 : -	
utbremen II	35	z29	e,n,x		
salmonella IIIa	35	z36	-	= Arizona 20 : 17,20 : -	
haga	35	z38	-		
salmonella IIIb	35	z52	1,5,7	= Arizona 20 : 26 : 30	
salmonella IIIb	35	z52	e,n,x,z15	= Arizona 20 : 26 : 28	
salmonella IIIb	35	z52	z	= Arizona 20 : 26 : 31	
salmonella IIIb	35	z52	z35	= Arizona 20 : 26 : 21	

Gruppo P (O 38)

oran	38	a	e,n,z15		
salmonella II	38	b	1,2		
rittersbach	38	b	e,n,z15		
sheffield	38	c	1,5		
kidderminster	38	c	1,6		
carletonville II	38	d	(1,5)		
salmonella II	38	d	z39		
thiaroye	38	e,h	1,2		
kasenyi	38	e,h	1,5		
korovi	38	g,m,(s)	-		
foulpointe II	38	g,t	-		
rothenburgsort	38	m,t	-		
salmonella IIIa	38	g,z51	-	= Arizona 16 : 13,14 : -	
salmonella IV	38	g,z51	-		
mgulani	38	i	1,2		
lansing	38	i	1,5		

salmonella IIIb	38	i	z	= Arizona 16 : 33 : 31	
salmonella IIIb	38	i	z53	= Arizona 16 : 33 : 25	
echa	38	k	1,2		
mango	38	k	1,5		
inverness	38	k	1,6		
njala	38	k	e,n,x		
salmonella IIIb	38	k	e,n,x,z15	= Arizona 16 : 29 : 28	
salmonella IIIb	38	k	z	= Arizona 16 : 29 : 31	
salmonella IIIb	38	k	z53	= Arizona 16 : 29 : 25	
salmonella IIIb	38	(k)	1,5,7	= Arizona 16 : 22 : 30	
salmonella IIIb	38	(k)	z	= Arizona 16 : 22 : 31	
salmonella IIIb	38	(k)	z35	= Arizona 16 : 22 : 21 in fase R può avere il fattore H z56	
salmonella IIIb	38	(k)	z54	= Arizona 16 : 22 : 34	
salmonella IIIb	38	(k)	z55	= Arizona 16 : 22 : 37	
alger	38	l,v	1,2		
kimberley	38	l,v	1,5		
roan	38	l,v	e,n,x		
taylor	38	l,v	e,n,z15		
salmonella IIIb	38	l,v	z	= Arizona 16 : 23 : 31	
salmonella IIIb	38	l,v	z35	= Arizona 16 : 23 : 21	
salmonella IIIb	38	l,v	z53 : (z54)	= Arizona 16 : 23 : 25 : (34)	
lindi	38	r	1,5		
salmonella IIIb	38	r	1,5,7	= Arizona 16 : 24 : 30	
emmastad	38	r	1,6		
salmonella IIIb	38	r	e,n,x,z15	= Arizona 16 : 24 : 28	
salmonella IIIb	38	r	z : (z57)	= Arizona 16 : 24 : 31 : (40)	
salmonella IIIb	38	r	z35	= Arizona 16 : 24 : 21	
freetown	38	y	1,5		
colombo	38	y	1,6		
perth	38	y	e,n,x		
stachus	38	z	-		
yoff	38	z4,z23	1,2		

salmonella IIIa	38	z4,z23	-	= Arizona 16 : 1,2,6 : -	
salmonella IV	38	z4,z23	-		
bangkok	38	z4,z24	-		
neunkirchen	38	z10	1,5		
salmonella IIIb	38	z10	z	= Arizona 16 : 27 : 31	
salmonella IIIb	38	z10	z53	= Arizona 16 : 27 : 25	
klouto	38	z38	-		
salmonella IIIb	38	z47	z53	= Arizona 16 : 39 : 25	
salmonella IIIb	38	z52	z35	= Arizona 16 : 26 : 21	
salmonella IIIb	38	z52	z53	= Arizona 16 : 26 : 25	
salmonella IIIb	38	z53	-	= Arizona 16 : 25 : - in fase R può avere i fattori H z50 e z76	
salmonella IIIa	38	z61	-	= Arizona 16 : 41 : -	
salmonella IIIb	38	z61	z53	= Arizona 16 : 41 : 25	

Gruppo Q (O 39)

salmonella II	39	-	1,7		
salmonella II	39	a	z39		
wandsworth	39	b	1,2		
abidjan	39	b	l,w		
salmonella II	39	c	e,n,x		
logone	39	d	1,5		
bruebach	39	e,h	1,2		
mara	39	e,h	(1,5)		
salmonella II	39	e,n,x	1,7		
salmonella II	39	(g),m,t	(e,n,x)		
hofit	39	i	1,5		
cumberland	39	i	e,n,x		
alma	39	i	e,n,z15		
champaign	39	k	1,5	in fase R può avere il fattore H z48	
new jersey	39	k	e,n,x		
salmonella II	39	l,v	1,5		
kokomlemle	39	l,v	e,n,x		
oerlikon	39	l,v	e,n,z15		
mondeor II	39	l,z28	e,n,x		
salmonella II	39	l,z28	z39		
anfo	39	y	1,2		

windermere	39	y	1,5		
delan	39	y	e,n,z15		
hegau	39	z10	-		
cook	39	z48 (in fase R)	1,5	assorbita da champaign 39 : k - 1,5	

Gruppo R (O 40)

shikmonah	40	a	1,5		
salmonella II	1,40	a	1,5		
greiz	40	a	z6		
salmonella II	1,40	a	z6		
springs II	40	a	z39		
salmonella II	40	b	-		
riogrande	40	b	1,5		
saugus	40	b	1,7		
johannesburg	1,40	b	e,n,x		
duval	1,40	b	e,n,z15		
benguella	40	b	z6		
suarez II	1,40	c	e,n,x,z15		
salmonella II	1,40	c	z39		
driffield	1,40	d	1,5		
ottershaw II	40	d	-		
tilene	1,40	e,h	1,2		
salmonella II	1,40	e,n,x	1,(5),7		
salmonella II	1,40	e,n,x,z15	1,6		
salmonella II	1,40	(f),g,(t)	e,n,x,z15		
bijlmer	1,40	g,m	-		
boksburg II	40	g,(m),s,(t)	e,n,x		
alsterdorf II	1,40	g,m,(s),t	(1,5)		
salmonella II	1,40	g,(m),(s),t	z42		
salmonella IV	1,40	g,t	-		
salmonella II	1,40	g,t	(e,n,x)		
salmonella II	1,40	g,t	1,5		
salmonella II	40	g,t	z39		
salmonella II	1,40	g,t	e,n,x,z15		
seminole IV	1,40	g,z51	-		
salmonella IIIb	40	g,z51	(e,n,x,z15)	= Arizona 10a,10b : 13,14 : (28)	
salmonella IV	40	m,t	-		
salmonella II	40	m,t	z39		
salmonella II	1,40	m,t	z42		
goulfey	1,40	k	1,5		
allandale	1,40	k	1,6		
hann	40	k	e,n,x		

sunnydale II	1,40	k	e,n,z15		
salmonella II	40	k	z6		
salmonella IIIb	40	k	z53	= Arizona 10a,10b : 29 : 25	
salmonella IIIb	40	k	z : z57	= Arizona 10a,10b : 23 : 25	
millesi	1,40	l,v	1,2		
canary	40	l,v	1,6		
salmonella II	40	l,v	e,n,x		
overchurch	1,40	l,w	(1,2)		
salmonella IIIb	40	l,v	z	= Arizona 10a,10b,(10c) : 23 : 31	
salmonella IIIb	40	l,v	z53	= Arizona 10a,10b : 23 : 25	
tiko	40	l,z13,z28	1,2		
bukavu	1,40	l,z28	1,5		
santhiaba	40	l,z28	1,6		
salmonella II	1,40	l,z28	1,5 : z42		
salmonella II	1,40	l,z28	z39		
salmonella IIIb	40	r	z53		
odienne	40	y	1,5		
bulawayo II	1,40	z	1,5		
casamance	40	z	e,n,x		
nowawes	40	z	z6		
salmonella II	1,40	z	z6		
salmonella II	40	z	z39		
salmonella II	40	z	z42		
salmonella II	40	z4,z24	(z39)		
salmonella II	1,40	z6	1,5		
salmonella IIIb	40	z10	z35	= Arizona 10a,10b : 27 : 21	
trotha	40	z10	z6		
omifisan	40	z29	-		
salmonella IIIa	40	z29	-	= Arizona 10a,10b : 16,18 : -	
salmonella V	1,40	z35	-		
yekepa	1,40	z35	e,n,z15		
fandran II	1,40	z35	e,n,x,z15		
salmonella IIIa	40	z35	-	= Arizona 10a,10b : 17,20 : -	
salmonella IIIb	40	z39	1,5 : z42		
grunty II	1,40	z39	1,6		
salmonella II	40	z39	1,7		
salmonella IIIa	40	z4,z23	-	= Arizona 10a,10b : 1,2,5 : - 10a,10b : 1,2,5 6 : - 10a,10b : 1,2,6 : -	

sachsenwald IV	1,40	z4,z23	-		
salmonella IIIa	40	z4,z24	-	= Arizona 10a,10b : 1,3,11 : -	
degania IV	40	z4,z24	-		
degania II	40	z4,z24	(z39)		
salmonella IIIa	40	z4,z32	-	= Arizona 10a,10b : 1,2,10 : - 10a,10c : 1,2,10 : - 10a,10b : 1,7,8 : -	
bern IV	1,40	z4,z32	-		
karamoja	40	z41	1,2		
salmonella II	1,40	z42	1,(5),7		
salmonella II	1,40	z42	1,6		
salmonella II	40	-	1,(5),7		
salmonella II	1,40	z42	1,6		
salmonella II	1,40	(z42)	1,(5),7		
salmonella II	1,40	z6	1,5		
salmonella V	40	z81	-		

Gruppo S (O 41)

burundi	41	a	-		
vietnam II	41	b	-		
salmonella II	41	b	(1,5)		
vaugirard	41	b	1,6		
salmonella VI	41	b	1,7		
sica	41	b	e,n,z15		
vietnam	41	b	(z6)		
salmonella IIIb	41	c	e,n,x,z15	= Arizona 13 : 23 : 28	
salmonella II	41	c	(z6)		
egusi	41	d	(1,5)		
hennepin II	41	d	z6		
salmonella II	41	g,m,s,t	z6		
lethe II	41	g,t	-		
leatherhead	41	m,t	1,6		
salmonella IIIa	41	g,z51	-	= Arizona 13 : 13,14 : -	
samaru	41	i	1,5		
verona	41	i	1,6		
ferlo	41	k	1,6		
salmonella II	41	k	1,6		
salmonella II	41	k	(z6)		
salmonella IIIb	41	(k)	(z35)	= Arizona 13 : 22 : (21)	
salmonella II	41	l,z13,z28	e,n,x,z15		
lubumbashi	41	r	1,5		
konongo	41	r	1,7		

dubrovnik II	41	z	1,5		
waycross IV	41	z4,z23	-		
waycross	41	z4,z23	(e,n,z15)		
salmonella IIIa	41	z4,z23,z32	-	= Arizona 13 : 1,6,7,9 : -	
salmonella IIIa	41	z4,z24	-	= Arizona 13 : 1,3,11 : -	
bofflens	41	z4,z23	1,7		
ipswich	41	z4,z24	(1,5)		
salmonella IIIa	41	z4,z32	-	= Arizona 13 : 1,6,7 : - e 13 : 1,7,8 : -	
negev II	41	z10	1,2		
leipzig	41	z10	1,5		
landala	41	z10	1,6		
inpraw	41	z10	e,n,x		
lurup II	41	z10	e,n,x,z15		
lichtenberg II	41	z10	(z6)		
lodz	41	z29	-		
salmonella IIIa	41	z29	-	= Arizona 13 : 16,17,18 : -	
salmonella IV	41	z29	-		
ahoutoue	41	z35	1,6		
salmonella IIIa	41	z36	-	= Arizona 13 : 17,20 : -	
salmonella IV	41	z36	-		
offa	41	z38	-		
salmonella IV	41	z52	-		
salmonella II	41	-	1,6		

Gruppo T (O 42)

faji	1,42	a	e,n,z15		
frederiksberg	1,42	b	l,w		
chinovum II	42	b	1,5		
orbe	42	b	1,6		
uphill II	42	b	e,n,x,z15		
tomegbe	1,42	b	e,n,z15		
egusitoo	1,42	b	z6		
salmonella II	42	b	z6		
antwerpen	1,42	c	e,n,z15		
kampala	1,42	c	z6		
salmonella II	42	d	z6		
fremantle II	42	(f),g,t	-		
salmonella IIIa	42	g,z51	-	= Arizona 15 : 13,14 : -	
salmonella IV	1,42	g,z51	-		
maricopa	1,42	g,z51	1,5		

waral	1,42	m,t	-		
salmonella II	42	m,t	(e,n,x,z15)		
borromea	42	i	1,6		
kaneshie	1,42	i	l,w		
middlesbrough	1,42	i	z6		
salmonella IIIb	42	k	-	= Arizona 15 : 29 : -	
haferbreite	42	k	(1,6)		
salmonella IIIb	42	k	e,n,x,z15	= Arizona 15 : 29 : 28	
salmonella IIIb	42	k	z	= Arizona 15 : 29 : 31	
salmonella IIIb	42	k	z35	= Arizona 15 : 29 : 21	
gwale	1,42	k	z6		
salmonella IIIb	42	(k)	z35	= Arizona 15 : 22 : 21	
salmonella IIIb	42	l,v	1,5,7	= Arizona 15 : 23 : 30	
portbech II	42	l,v	e,n,x,z15		
salmonella IIIb	42	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 15 : 23 : 28	
coogee	42	l,v	e,n,z15		
salmonella IIIb	42	l,v	z	= Arizona 15 : 23 : 31	
salmonella IIIb	42	l,v	z53	= Arizona 15 : 23 : 25	
salmonella II	1,42	l,w	e,n,x		
salmonella II	42	l,(z13),z28	(z6)		
salmonella II	1,42	l,z28	-		
nairobi II	42	r	-		
salmonella IIIb	42	r	-	= Arizona 15 : 24 : - in fase R può avere il fattore H z50	
sipane	1,42	r	e,n,z15		
brive	1,42	r	l,w		
salmonella IIIb	42	r	z	= Arizona 15 : 24 : 31	
salmonella IIIb	42	r	z53	= Arizona 15 : 24 : 25	
spalentor	1,42	y	e,n,z15		
harvestehude	1,42	y	z6		
detroit II	42	z	1,5		acqua
ursenbach	1,42	z	1,6		
melbourne	42	z	e,n,z15		
rand II	42	z	e,n,x,z15		
nuernberg II	42	z	z6		
salmonella IIIa	42	z4,z23	-	= Arizona 15 : 1,2,5 : - e 15 : 1,2,6 : -	

gera	1,42	z4,z23	(1,6)		
broc	42	z4,z23	e,n,z15		
toricada	1,42	z4,z24	-		
salmonella IIIa	42	z4,z24	-	= Arizona 15 : 1,3,11 : -	
salmonella IV	1,42	z4,z24	-		
salmonella II	42	z6	1,6		
salmonella IIIb	42	z10	-	= Arizona 15 : 27 : - in fase R può avere i fattori H z50 e z56	
salmonella II	42	z10	1,2		
salmonella II	42	z10	e,n,x,z15		
salmonella IIIb	42	z10	e,n,x,z15	= Arizona 15 : 27 : 28	
salmonella IIIb	42	z10	z	= Arizona 15 : 27 . 31	
salmonella IIIb	42	z10	z35	= Arizona 15 : 27 : 21	
loenga	1,42	z10	z6		
salmonella II	42	z10	z6		
salmonella IIIb	42	z10	z67	= Arizona 15 : 27 : 46	
salmonella II	42	z29	-		
djama	1,42	z29	(1,5)		
hennekamp	42	z35	e,n,z15		
kahla	1,42	z35	1,6		
tema	1,42	z35	z6		
weslaco	42	z36	-		
salmonella IV	42	z36	-		
vogan	1,42	z38	z6		
taset	1,42	z41	-		
salmonella IIIb	42	z52	z	= Arizona 15 : 26 : 31	
salmonella II	42	(e,n,x)	1,6		

Gruppo U (O 43)

graz	43	a	1,2		
berkeley	43	a	1,5		
salmonella II	43	a	1,5		
salmonella II	43	a	z6		
niederoderwitz	43	b	-		
kommetje II	43	b	z42		
montreal	43	c	1,5		
orleans	43	d	1,5		
salmonella II	43	d	e,n,x,z15		

gera	1,42	z4,z23	(1,6)		
broc	42	z4,z23	e,n,z15		
toricada	1,42	z4,z24	-		
salmonella IIIa	42	z4,z24	-	= Arizona 15 : 1,3,11 : -	
salmonella IV	1,42	z4,z24	-		
salmonella II	42	z6	1,6		
salmonella IIIb	42	z10	-	= Arizona 15 : 27 : - in fase R può avere i fattori H z50 e z56	
salmonella II	42	z10	1,2		
salmonella II	42	z10	e,n,x,z15		
salmonella IIIb	42	z10	e,n,x,z15	= Arizona 15 : 27 : 28	
salmonella IIIb	42	z10	z	= Arizona 15 : 27 . 31	
salmonella IIIb	42	z10	z35	= Arizona 15 : 27 : 21	
loenga	1,42	z10	z6		
salmonella II	42	z10	z6		
salmonella IIIb	42	z10	z67	= Arizona 15 : 27 : 46	
salmonella II	42	z29	-		
djama	1,42	z29	(1,5)		
hennekamp	42	z35	e,n,z15		
kahla	1,42	z35	1,6		
tema	1,42	z35	z6		
weslaco	42	z36	-		
salmonella IV	42	z36	-		
vogan	1,42	z38	z6		
taset	1,42	z41	-		
salmonella IIIb	42	z52	z	= Arizona 15 : 26 : 31	
salmonella II	42	(e,n,x)	1,6		

Gruppo U (O 43)

graz	43	a	1,2		
berkeley	43	a	1,5		
salmonella II	43	a	1,5		
salmonella II	43	a	z6		
niederoderwitz	43	b	-		
kommetje II	43	b	z42		
montreal	43	c	1,5		
orleans	43	d	1,5		
salmonella II	43	d	e,n,x,z15		

salmonella II	43	d	z39		
salmonella II	43	d	z42		
salmonella II	43	e,n,x,z15	1,(5),7		
salmonella II	43	e,n,x,z15	1,6		
milwaukee	43	f,g,(t)	-		
salmonella II	43	f,g,t	1,5		
mosselbay II	43	g,m,(s),t	(z42)		
veddel II	43	g,t	-		
salmonella IIIa	43	g,z51	-	= Arizona 21 : 13,14 : -	
salmonella IV	43	g,z51	-		
salmonella II	43	g,z62	e,n,x		
mbao	43	i	1,2		
voulte	43	i	e,n,x		
thetford	43	k	1,2		
ahuza	43	k	1,5		
salmonella IIIb	43	k	z	= Arizona 21 : 29 : 31	
salmonella IIIb	43	l,v	z53 : (z56 in fase R)	= Arizona 21 : 23 : 25 . (38)	
sudan	43	l,z13	-		
salmonella II	43	l,z13,z28	1,5		
salmonella IIIb	43	r	e,n,x,z15	= Arizona 21 : 24 : 28	
salmonella IIIb	43	r	z	= Arizona 21 : 24 : 31	
salmonella IIIb	43	r	z53	= Arizona 21 : 24 : 25	
farcha	43	y	1,2		
kingabwa	43	y	1,5		acqua
ogbete	43	z	1,5		
salmonella II	43	z	1,5		
arusha	43	z	e,n,z15		
salmonella II	43	z4,z23	-		
salmonella IIIa	43	z4,z23	-	= Arizona 21 : 1,2,5 : - e 21 : 1,2,6 : -	
houten IV	43	z4,z23	-		
salmonella IIIa	43	z4,z24	-	= Arizona 21 : 1,3,11 : -	
salmonella IV	43	z4,z24	-		
tuindorp IV	43	z4,z32	-		
adana	43	z10	1,5		
makiling	43	z29	-		
salmonella IV	43	z29	-		
salmonella II	43	z29	e,n,x		
salmonella II	43	z29	z42		
ahepe	43	z35	1,6		

salmonella IIIa	43	z36	-	= Arizona 21 : 17,20 : -	
irigny	43	z38	-		
bunnik II	43	z42	(1,5,7)		
salmonella IIIb	43	z52	z53	= Arizona 21 . 26 : 25	

Gruppo V (O 44)

salmonella IV	44	a	-		
niakhar	44	a	1,5		
tiergarten	44	a	e,n,x		
niarembe	44	a	l,w		
sedgwick	44	b	e,n,z15		
shahalam	44	b	1,6		
madigan	44	c	1,5		
quebec	44	c	e,n,z15		
bobo	44	d	1,5		
kermel	44	d	e,n,x		
fischerstrasse	44	d	e,n,z15		
palamaner	1,44	d	z35		
salmonella II	1,44	e,n,x	1,6		
vleuten	44	f,g	-		
gamaba	44	g,m,(s)	-		
salmonella IIIb	1,44	g,t	1,5 : z42		
splott	44	g,s,t	-		
salmonella II	44	g,t	z42		
carswell	44	g,z51	-		
salmonella IV	44	g,z51	-		
muguga	44	m,t	-		
salmonella II	1,44	m,t	z42		
lawra	44	k	e,n,z15		
maritzburg	1,44	i	e,n,z15		
malika	44	l,z28	1,5		
camdeni V	44	r	-		
brefet	44	r	e,n,z15		
bolama	44	z	e,n,z15		
uhlenhorst	44	z	l,w		
brackenridge	44	z	1,5		
kua	44	z4,z23	-		
salmonella II	44	z4,z23	-		
salmonella IIIa	44	z4,z23	-	= Arizona 1,3 : 1,2,5 : - e 1,3 : 1,2,6 : -	
salmonella IV	44	z4,z23	-		
ploufragan	1,44	z4,z23	e,n,z15		
christiansborg	44	z4,z24	-		

salmonella IIIa	44	z4,z24	-	= Arizona 1,3 : 1,3,11 : -	
salmonella IV	44	z4,z24	-		
salmonella IIIa	44	z4,z32	-	= Arizona 1,3 : 1,2,10 : - e 1,3 : 1,7,8 : -	
lohbruegge IV	44	z4,z32	-		
guinea	1,44	z10	(1,7)		
llobregat	1,44	z10	e,n,x		
zinder	44	z29	-		
salmonella IV	44	z29	-		
salmonella II	44	z29	e,n,x : z42		
salmonella IV	44	z36,(z38)	-		
koketime	44	z38	-		
salmonella V	44	z39	-		
clovelly II	1,44	z39	(e,n,x,z15)		

Gruppo W (O 45)

meekatharra	45	a	e,n,z15		
vrindaban VI	45	a	e,n,x		
ejeda II	45	a	z10		
riverside	45	b	1,5		
fomeco	45	b	e,n,z15		
deversoir	45	c	e,n,x		
dugbe	45	d	1,6		
karachi	45	d	e,n,x		
warmsen	45	d	e,n,z15		
suelldorf	45	f,g	-		
tornow	45	g,m,(s),(t)	-		acqua
windhoek II	45	g,m,s,t	1,5		
bremen II	45	g,m,s,t	e,n,x		
perinet II	45	g,m,t	e,n,x,z15		
binningen	45	g,s,t	-		
salmonella IIIa	45	g,z51	-	= Arizona 11 : 13,14 : -	
salmonella IV	45	g,z51	-		
apapa	45	m,t	-		
salmonella II	45	m,t	1,5		
imo	45	l,v	(e,n,z15)		
verviers	45	k	1,5		
casablanca	45	k	1,7		
cairns	45	k	e,n,z15		
kofandoka	45	r	e,n,z15		
salmonella II	45	z	1,5		
yopougon	45	z	e,n,z15		

klapmuts II	45	z	z39		
salmonella IIIa	45	z4,z23	-	= Arizona 11 : 1,2,5 : -	
salmonella IV	45	z4,z23	-		
transvaal	45	z4,z24	-		
salmonella IIIa	45	z4,z24	-	= Arizona 11 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	45	z4,z32	-	= Arizona 11 : 1,7,8 : -	
aprad	45	z10	-		
jodhpur	45	z29	-		
salmonella IIIa	45	z29	-	= Arizona 11 : 16,18 : -	
salmonella II	45	z29	1,5		
salmonella II	45	z29	e,n,x		
salmonella II	45	z29	z42		
lattenkamp	45	z35	1,5		
balcones	45	z36	-		
salmonella IV	45	z36,z38	-		

Gruppo X (O 47)

bilthoven	47	a	(1,5)		
salmonella II	47	a	e,n,x,z15		
saka	47	b	-	assorbita da sya 47 : b : z6	
wenatchee	47	b	1,2		
phoenix II	47	b	1,5		
khami II	47	b	(e,n,x,z15)		
sya	47	b	z6		
salmonella II	47	b	z6		
salmonella IIIb	47	c	1,5,7	= Arizona 28 : 32 : 30	
kodjovi	47	c	(1,6)	in fase R può avere il fattore H z78	
salmonella IIIb	47	c	e,n,x,z15 : (z57)	= Arizona 23 : 32 : 28 e 28 : 32 : 28 : (40)	
salmonella IIIb	47	c	z	= Arizona 28 : 32 : 31	
salmonella IIIb	47	c	z35	= Arizona 28 : 32 : 21	
salmonella II	47	d	1,5		
stellingen	47	d	(e,n,x)		
salmonella II	47	d	e,n,x,z15		
quimbamba II	47	d	z39		
salmonella II	47	e,n,x,z15	1,6		
sljeme	1,47	f,g	-		

luke	1,47	g,m	-		
anie	47	(g),m,t	-	assorbita da mesbit 47 : m,t : (e,n,z15)	
mesbit	47	m,t	(e,n,z15)		
salmonella II	47	g,t	e,n,x		
salmonella IIIa	47	g,z51	-	= Arizona 28 : 13,14 : -	
salmonella IIIb	47	i	e,n,z15	= Arizona 23 : 33 : 28 in fase R può avere il fattore H z50	
bergen	47	i	e,n,z15		
salmonella IIIb	47	i	z	= Arizona 28 : 33 : 31	
salmonella IIIb	47	i	z35	= Arizona 23 . 33 : 21 e 28 : 33 : 21	
salmonella IIIb	47	i	z53 : (z57)	= Arizona 23 : 33 : 25 e 28 : 33 : 25 : (40)	
staoueli	47	k	1,2		
bootle	47	k	1,5		
salmonella IIIb	47	k	1,5,7	= Arizona 28 : 29 : 30	
dahomey	47	k	1,6	in fase R può avere il fattore H z58	
salmonella IIIb	47	k	e,n,x,z15	= Arizona 28 : 29 : 28	
lyon	47	k	e,n,z15		
salmonella IIIb	47	k	z	= Arizona 28 : 29 : 31	
salmonella IIIb	47	k	z35	= Arizona 23 : 29 : 21	
salmonella IIIb	47	k	z53	= Arizona 23 : 29 : 25	
salmonella IV	47	l,v	-		
salmonella IIIb	47	l,v	1,5,(7)	= Arizona 22 : 23 : 30 in fase R può avere il fattore H z50	
drac	47	l,v	e,n,x		
salmonella IIIa	47	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 28 : 23 : 28	
salmonella IIIb	47	l,v	z	= Arizona 23 : 23 : 31	
salmonella IIIb	47	l,v	z35	= Arizona 28 : 23 : 21	
salmonella IIIb	47	l,v	z53	= Arizona 28 : 23 : 25	
salmonella IIIb	47	l,v	z57	= Arizona 28 : 23 : 40	

teshie	1,47	l,z13,z28	e,n,z15		
salmonella IIIa	47	r	-	= Arizona 23 : 24 : -	
salmonella IIIb	47	r	e,n,x,z15		
dapango	47	r	1,2		
salmonella IIIb	47	r	1,5,7	= Arizona 23 : 24 : 30	
salmonella IIIb	47	r	z	= Arizona 23 : 24 : 31	
salmonella IIIb	47	r	z35	= Arizona 23 : 24 : 21 e 28 : 24 : 21	
salmonella IIIb	47	r	z53	= Arizona 23 : 24 : 25 in fase R può avere il fattore H z74	
salmonella IIIb	47	r	z53 : z60	= Arizona 28 : 24 : 25 : 42 : 44 in fase R può avere il fattore H z50	
salmonella IIIb	47	r	z53	= Arizona 23 : 24 : 25 : (44) in fase R può avere i fattori H z70 e z72	
moualine	47	y	1,6		
blitta	47	y	e,n,x		
mount-pleasant	47	z	1,5		
kaolack	47	z	1,6		
salmonella II	47	z	e,n,x,z15		
chersina II	47	z	z6		
salmonella IIIa	47	z4,z23	-	= Arizona 28 : 1,2,5 : -	
tabligbo	47	z4,z23	(e,n,z15)		
binche	47	z4,z23	l,w		
fehrbellin	47	z4,z23	1,6		
bere	47	z4,z23	(z6)	in fase R può avere il fattore H z45	
tamberma	47	z4,z24	-		
salmonella II	47	z6	1,6		
salmonella IIIb	47	z10	1,5,7	= Arizona 28 : 27 : 30	
salmonella IIIb	47	z10	z	= Arizona 28 : 27 : 31	
salmonella IIIb	47	z10	z35	= Arizona 28 : 27 : 21	
namoda	47	z10	e,n,z15		
ekpoui	47	z29	-		

salmonella IIIa	47	z29	-	= Arizona 28 : 16,18 : -	
salmonella II	47	z29	e,n,x,z15		
bingerville	47	z35	e,n,z15		
salmonella IV	47	z36	-		
alexanderplatz	47	z38	-		
quinhon	47	z44	-		
salmonella IIIb	47	z52	1,5,7	= Arizona 28 : 26 : 30	
salmonella IIIb	47	z52	e,n,x,z15	= Arizona 28 : 26 : 28	
salmonella IIIb	47	z52	z	= Arizona 28 : 26 : 31	
salmonella IIIb	47	z52	z35	= Arizona 28 : 26 : 21	

-

Gruppo Y (O48)

hisingen	48	a	1,5,7		
salmonella IIIb	48	a	z35	= Arizona 5 : 35 : 21	
salmonella II	48	a	z6		
salmonella II	48	a	z39		
salmonella V	48	b	-		
salmonella II	48	b	e,n,x,z15		
salmonella II	48	b	z6		
salmonella IIIb	48	c	z	= Arizona 29 : 32 : 31	
buckeye	48	d	-		
etosha II	48	d	1,11	non è considerata nuovo sierotipo	
salmonella II	48	d	1,2		
hagenbeck II	48	d	z6		
fitzroy	48	e,h	1,5		
hammonia II	48	e,n,x,z15	z6		
erlangen II	48	g,m,t	-		
salmonella IIIa	48	g,z51	-	= Arizona 5 : 13,14 : -	
salmonella V	48	i	-		
sydney II	48	i	z	assorbita da salmonella IIIb 48 : i : z	
salmonella IIIb	48	i	z	= Arizona 5 : 33 : 31	
salmonella IIIb	48	i	z35 : (z57)	= Arizona 29 : 33 : 21 : (40)	
salmonella IIIb	48	i	z53	= Arizona 5 : 33 : 25	

salmonella IIIb	48	i	z61	= Arizona 5,29 : 33 : 41	
salmonella IIIb	48	i	z : (z72)	= Arizona 5,29 : 33 : 31 : (z72)	
salmonella II	48	k	e,n,x,z15		
salmonella IIIb	48	k	e,n,x,z15	= Arizona 5 : 29 : 28	
dahlem	48	k	e,n,z15		
salmonella IIIb	48	k	1,5,(7)	= Arizona 5 : 29 : 30	
salmonella IIIb	48	k	z	= Arizona 5,29 : 29 : 31	
salmonella IIIb	48	k	z35	= Arizona 5 : 29 : 21 in fase R può avere il fattore H z75	
salmonella IIIb	48	k	z53	= Arizona 5,29 : 29 : 25	
salmonella IIIb	48	(k)	z53	= Arizona 5 : 22 : 25 e 5,29 : 22 : 25	
sakaraha II	48	(k)	z39		
australia	48	l,v	1,5		
salmonella IIIb	48	l,v	1,5,(7) : z89	= Arizona 5 : 23 : 30 in fase R può avere i fattori H z47 o z50	
salmonella IIIb	48	l,v	z	= Arizona 5,29 : 23 : 31	
salmonella IIIb	48	r	e,n,x,z15	= Arizona 5 : 24 : 28	
salmonella IIIb	48	r	z	= Arizona 5,29 : 24 : 31	
toucra	48	z	1,5	in fase R può avere il fattore z58	
salmonella II	48	z	1,5		
salmonella IIIb	48	z	1,5,7		
salmonella IIIa	48	z4,z23	-	= Arizona 5 : 1,2,5 : - e 5 : 1,2,5,6 : - e 5 : 1,6 : -	
salmonella IV	48	z4,z23	-		
salmonella IIIa	48	z4,z23,z32	-	= Arizona 5 : 1,6,7,9 : - e 5 : 1,6,7 : -	
djakarta	48	z4,z24	-		
salmonella IIIa	48	z4,z24	-	= Arizona 5 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	48	z4,z32	-	= Arizona 5 : 1,6,7 : - e 5 : 1,7,8 : - e 5 : 1,2,10 : -	

salmonella IV	48	z4,z32	-		
salmonella VI	48	z10	1,5		
ngozi II	48	z10	(1,5)		
isaszeg	48	z10	e,n,x		
salmonella IIIb	48	z10	e,n,x,z15	= Arizona 5 : 27 : 28	
salmonella IIIb	48	z10	z	corrispomde ad arizona 5,29 : 27 : 31	
salmonella II	48	z29	-		
salmonella IIIa	48	z29	-	= Arizona 5 : 16,18 : -	
salmonella IV	48	z29	-		
bongor V	48	z35	-		
salmonella IIIb	48	z35	z52	= Arizona 5 : 21 : 26	
salmonella IIIa	48	z36	-	= Arizona 5,29 : 17,20 : -	
salmonella IV	48	z36, (z38)	-		
salmonella V	48	z39	-		
balboa V	48	z41	-		
salmonella IIIb	48	z52	e,n,x,z15	= Arizona 29 : 26 . 28	
salmonella IIIb	48	z52	z	= Arizona 5 : 26 : 31	
salmonella V	48	z65	-		
salmonella V	48	z81	-		

Gruppo Z (O 50)

salmonella IV	50	a	-		
salmonella IV	50	b	-		
rochdale	50	b	e,n,x		
salmonella II	50	b	z6		
salmonella IV	50	d	-		
hemingford	50	d	1,5	in fase R può avere il fattore H z82	
krugersdorp II	50	e,n,x	1,7		
namib II	50	g,(m),s,t	(1,5)		
wassenaar IV	50	g,z51	-		
salmonella II	50	g,z52	e,n,x		
salmonella IIIb	50	i	1,5,7	= Arizona 9a,9c : 33 : 30	
salmonella IIIb	50	i	e,n,x,z15	= Arizona 9a,9c : 33 : 28	
salmonella IIIb	50	i	z	= Arizona 9a,9c : 33 : 31	

salmonella IIIb	50	k	1,5,7	= Arizona 9a,9c : 29 : 30	
salmonella IIIb	50	k	e,n,x,z15	= Arizona 9a,9c : 29 : 28	
salmonella II	50	k	e,n,x : z42		
atra II	50	m,t	z6 : z42		
salmonella II	50	k	e,n,x : z42		
salmonella IIIb	50	k	z : (z57) : (z68)	= Arizona 9a,9b : 29 : 31 e 9a,9c : 29 : 31 in fase R può avere il fattore H z50	
salmonella IIIb	50	k	z35	= Arizona 9a,9b : 29 : 21	
salmonella IIIb	50	k	z53	= Arizona 9a,9b : 29 : 25 e 9a,9c : 29 : 25	
seaforth II	50	k	z6		
salmonella IIIb	50	(k)	z	= Arizona 9a,9b : 22 : 31	
salmonella IIIb	50	(k)	z35	= Arizona 9a,9b : 22 : 21	
fass	50	l,v	1,2		
salmonella IIIb	50	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 9a,9b : 23 : 28	
salmonella IIIb	50	l,v	z	= Arizona 9a,9b : 23 : 31 e 9a,9c : 23 : 31	
salmonella IIIb	50	l,v	z35	= Arizona 9a,9c : 23 : 21	
salmonella IIIb	50	l,v	z57		
salmonella VI	50	l,v	z67		
salmonella II	50	l,w	e,n,x,z15 : z42		
salmonella II	50	l,z28	z42		
salmonella IIIb	50	r	1,5,(7)	= Arizona 9a,9b : 24 : 30	
salmonella IIIb	50	r	e,n,x,z15	= Arizona 9a,9c : 24 : 28	
salmonella IIIb	50	r	z : (z67)	= Arizona 9a,9b : 24 : 31 e 9a,9c : 24 : 31	
salmonella IIIb	50	r	z35	= Arizona 9a,9b : 24 : 21 in fase R può avere il fattore H z58	
salmonella IIIb	50	r	z53	= Arizona 9a,9b : 24 : 25 in fase R può avere il fattore H z50	
dougi	50	y	1,6		

greenside II	50	z	e,n,x		
salmonella IIIb	50	z10	z	= Arizona 9a,9c : 27 : 31 in fase R può avere il fattore H z56	
salmonella IIIb	50	z10	z53	= Arizona 9a,9c : 27 : 25	
hooggraven II	50	z10	z6 : z42		
ivorycoast	50	z29	-		
salmonella IIIa	50	z29	-	= Arizona 9a,9b : 16,18 : -	
salmonella IIIa	50	z36	-	= Arizona 9a,9b : 17,20 : -	
salmonella IIIa	50	Z4,Z23	-	= Arizona 9a,9b : 1,2,5 : - e 9a,9b : 1,2,6 : -	
flint IV	50	z4,z23	-		
salmonella IIIa	50	z4,z23,z32	-	= Arizona 9a,9b : 1,2,10 : - e 9a,9b : 1,6,7 : -	
salmonella IIIa	50	z4,z24	-	= Arizona 9a,9b : 1,3,11 : -	
salmonella IV	50	z4,z24	-		
salmonella IIIa	50	z4,z32	-	= Arizona 9a,9b : 1,2,10 : - e 9a,9b : 1,6,7 : - e 9a,9b : 1,7,8 : -	
bonaire IV	50	z4,z32	-		
faure II	50	z42	1,7		
salmonella IIIb	50	z52	1,5,7	= Arizona 9a,9b : 26 : 30 e 9a,9c : 26 : 30	
salmonella IIIb	50	z52	z	= Arizona 9a,9b : 26 : 31 e 9a,9c : 26 : 31	
salmonella IIIb	50	z52	z35	= Arizona 9a,9b : 26 : 21 e 9a,9c : 26 : 21	
salmonella IIIb	50	z52	z53	= Arizona 9a,9b : 26 : 25 e 9a,9c : 26 : 25	

Gruppo O 51

salmonella IV	51	a	-		
windsheim	51	a	1,2		
tione	51	a	e,n,x		
salmonella IV	51	b	-		
karaya	51	b	1,5		
salmonella II	51	c	-		
gokul	1,51	d	(1,5)		
meskin	51	e,h	1,2		

salmonella II	51	g,s,t	e,n,x		
salmonella IIIa	51	g,z51	-	= Arizona 1,2 : 13,14 : -	
djinten	51	m,t	-		
kabete	51	i	1,5		
dan	51	k	e,n,z15		
salmonella IIIb	51	k	z35	= Arizona 1,2 : 29 : 21	
harcourt	51	l,v	1,2		
overschie	51	l,v	1,5		
dadzie	51	l,v	e,n,x		
salmonella IIIb	51	l,v	z	= Arizona 1,2 : 23 : 31	
moundou	51	l,z28	1,5		
askraal II	51	l,z28	(z6)		
salmonella II	51	l,z28	z39		
lutetia	51	r,i	l,z13,z28		
antsalova	51	z	1,5		
treforest	1,51	z	1,6		
lechler	51	z	e,n,z15		
bergues	51	z10	1,5		
salmonella II	51	z29	e,n,x,z15		
salmonella IIIa	51	z4,z23	-	= Arizona 1,2 : 1,2,5 : - e 1,2 : 1,2,6 : -	
harmelen IV	51	z4,z23	-		
salmonella IIIa	51	z4,z24	-	= Arizona 1,2 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	51	z4,z32	-	= Arizona 1,2 : 1,7,8 : -	
roggeveld II	51	-	1,7		

Gruppo 52

uithof	52	a	1,5		
ord	52	a	e,n,z15		
flottbek	52	b	(e,n,x)		
molesey	52	b	1,5		
salmonella II	52	c	k		
salmonella IIIb	52	c	k	= Arizona 31 : 32 : 29	
utrecht	52	d	1,5		
salmonella II	52	d	e,n,x,z15		
salmonella II	52	d	z39		
butare	52	e,h	1,6		
derkle	52	e,h	1,7		
sainte-marie	52	g,t	-		
salmonella II	52	g,t	-		
bordeaux	52	k	1,5		

salmonella IIIb	52	k	z35	= Arizona 31 : 29 : 21	
salmonella IIIb	52	k	z53	= Arizona 31 : 29 : 25	
salmonella IIIb	52	(k)	z35	= Arizona 31 : 22 : 21	
salmonella IIIb	52	l,v	z53	= Arizona 31 : 23 : 25	
salmonella II	52	z	z39		
salmonella II	52	z39	1,5,7		
wilhelmstrasse II	52	z44	1,5	assorbita da lobatsi 52 : z44 : 1,5,7	
lobatsi II	52	z44	1,5,7		
salmonella IIIb	52	z52	z	= Arizona 31 : 26 : 31	

Gruppo 53

salmonella II	53	c	1,5		
salmonella II	53	d	1,5		
salmonella II	53	d	z39		
salmonella II	53	d	z42		
salmonella IIIa	53	g,z51	-	= Arizona 1,4 : 13,14 : -	
salmonella IV	1,53	g,z51	-		
salmonella IIIb	53	i	z	= Arizona 1,4 : 33 : 31	
salmonella IIIb	53	k	e,n,x,z15	= Arizona 1,4 : 29 : 28	
salmonella IIIb	53	k	z	= Arizona 1,4 : 29 : 31	
salmonella IIIb	53	(k)	z	= Arizona 1,4 : 22 : 31	
salmonella IIIb	53	(k)	z35	= Arizona 1,4 : 22 : 21	
salmonella IIIb	53	k	z53		
salmonella IIIb	53	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 1,4 : 23 : 28	
salmonella IIIb	53	l,v	z		
salmonella IIIb	53	l,v	z35	= Arizona 1,4 : 23 : 21	
salmonella II	53	l,z28	e,n,x		
salmonella II	53	l,z28	z6		
midhurst II	53	l,z28	z39		
salmonella IIIb	53	r	z	= Arizona 1,4 : 24 : 31	
salmonella IIIb	53	r	z35	= Arizona 1,4 : 24 : 21	
salmonella IIIb	53	r	z68	= Arizona 1,4 : 24 : 47	
salmonella II	53	z	1,5		
salmonella IIIb	53	z	1,5,(7)	= Arizona 1,4 : 30 : 31	

salmonella II	53	z	z6		
humber II	53	z4,z24	-		
salmonella IIIa	53	z4,z23	-	= Arizona 1,4 : 1,2,5 : - e 1,4 : 1,2,6 . -	
salmonella IV	53	z4,z23	-		
salmonella IIIa	53	z4,z23,z32	-	= Arizona 1,4 : 1,6,7 : - e 1,4 : 1,6,7,9 : -	
salmonella IIIa	53	z4,z24	-	= Arizona 1,4 : 1,3,11 : -	
salmonella IIIa	53	z4,z32	-	= Arizona 1,4 : 1,6,7,9 : -	
salmonella IIIb	53	z10	z		
salmonella IIIb	53	z10	z35	= Arizona 1,4 : 27 : 21	
salmonella IIIa	53	z29	-	= Arizona 1,4 : 16,18 : -	
salmonella IIIb	53	z52	z35	= Arizona 1,4 : 26 : 21	
salmonella IIIb	53	z52	z53	= Arizona 1,4 : 26 : 25	
leda	53	-	1,6		

Gruppo 54

tonev	21, 54	b	e,n,x		
winnipeg	54	e,h	1,5		
rossleben	54	e,h	1,6		
borreze	54	f,g,s	-		
uccle	54	g,s,t	-		
new-holland	4, 12, 54	m,t	-		
poeseldorf	8, 20, 54	i	z6		
ochsenwerder	6, 7, 54	k	1,5		
czernyring	54	r	1,5		
steinwerder	3, 15, 54	y	1,5		
yerba	54	z4,z23	-		
canton	54	z10	e,n,x		
barry	54	z10	e,n,z15		
mundubbera	54	z29	-		

Gruppo 55

tranoroa II	55	k	z39		

Gruppo 56

artis II	56	b	-		
salmonella II	56	d	-		
salmonella II	56	e,n,x	1,7		

salmonella II	56	l,v	z39		
salmonella II	56	l,z28	-		
salmonella II	56	z	z6		
salmonella II	56	z10	e,n,x		
salmonella IIIa	56	z29	-	= Arizona 14 : 16,18 : -	
salmonella IIIa	56	z4,z23	-	= Arizona 14 : 1,2,5 : - e 14 : 1,2,6 :	
salmonella IIIa	56	z4,z23,z32	-	= Arizona 14 : 1,6,7,9 : -	

Gruppo O 57

antonio	57	a	z6		
salmonella II	57	a	z42		
maryland	57	b	1,7		
batonrouge	57	b	e,n,z15		
salmonella IIIb	53	c	e,n,x,z15		
salmonella II	57	d	1,5		
salmonella II	57	g,(m),s,t	z42		
salmonella II	57	g,t	-		
salmonella IIIb	57	i	e,n,x,z15	= Arizona 34 : 33 : 28	
salmonella IIIb	57	i	z	= Arizona 34 : 33 : 31	
salmonella IIIb	57	k	e,n,x,z15	= Arizona 34 : 29 : 28	
salmonella IV	57	z4,z23	-		
salmonella IIIb	57	z10	z	= Arizona 34 : 27 : 31	
locarno II	57	z29	z42		
manombo II	57	z39	e,n,x,z15		
tokai II	57	z42	1,6 : z53		

Gruppo 58

salmonella II	58	a	z6		
salmonella II	58	b	1,5		
salmonella II	58	c	z6		
salmonella II	58	d	z6		
salmonella IIIb	58	i	e,n,x,z15	= Arizona 1,33 : 33 : 28	
salmonella IIIb	58	k	z	= Arizona 1,33 : 29 : 31	
salmonella IIIb	58	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 1,33 : 23 : 28	
salmonella IIIb	58	l,v	z35	= Arizona 1,33 : 23 : 21	
basel II	58	l,z13	1,5		
salmonella II	58	l,z13,z28	z6		

salmonella IIIb	58	r	e,n,x,z15	= Arizona 1,33 : 24 : 28	
salmonella IIIb	58	r	z	= Arizona 1,33 : 24 : 31	
salmonella IIIb	58	r	z53	= Arizona 1,33 : 24 : 25 in fase R può avere i fattori H z47 o z57 o z70	
salmonella II	58	z6	1,6		
salmonella II	58	z10	z6		
salmonella II	58	z10	1,6		
salmonella IIIb	58	z10	e,n,x,z15	= Arizona 1,33 : 27 : 28	
salmonella IIIb	58	z10	z53	= Arizona 1,33 : 27 : 25 in fase R può avere il fattore H z50	
salmonella II	58	z39	e,n,x,z15		
salmonella IIIb	58	z52	z	= Arizona 1,33 : 26 : 31	
salmonella IIIb	58	z52	z35	= Arizona 1,33 : 26 : 21	

Gruppo O 59

salmonella IIIb	59	c	e,n,x,z15	= Arizona 19 : 32 : 28	
salmonella IIIb	59	i	e,n,x,z15	= Arizona 19 : 33 : 28	
salmonella IIIb	59	i	z	= Arizona 19 : 33 : 31	
salmonella IIIb	59	i	z35	= Arizona 19 : 33 : 21	
betioky II	59	k	z		
salmonella IIIb	59	k	z53	= Arizona 19 : 29 : 25	
salmonella IIIb	59	(k)	e,n,x,z15	= Arizona 19 : 22 : 28	
salmonella IIIb	59	(k)	z	= Arizona 19 : 22 : 31	
salmonella IIIb	59	(k)	z35	= Arizona 19 : 22 : 21	
salmonella IIIb	59	l,v	z	= Arizona 19 : 23 : 31	
salmonella IIIb	59	l,v	z53	= Arizona 19 : 23 : 25	
salmonella IIIb	59	r	z35	= Arizona 19 : 24 : 21	
salmonella II	1,59	z	z6		
salmonella IIIb	59	z10	z53	= Arizona 19 : 27 : 25	
salmonella IIIb	59	z10	z57	= Arizona 19 : 27 : 40	
salmonella IIIb	59	z29	-	= Arizona 19 : 16,18 : -	

salmonella IIIb	59	z36	-	= Arizona 19 : 17,20 : -	
salmonella IIIb	59	z4,z23	-	= Arizona 19 : 1,2,5 : - e 19 : 1,2,6 : -	
salmonella IIIb	59	z52	(z53)	= Arizona 19 . 26 : (25)	

Gruppo O 60

salmonella II	60	b	(1,16)		
setubal II	60	g,m,t	z6		
salmonella IIIb	60	i	-	= Arizona 24 : 33 : - in fase R può avere il fattore H z50	
salmonella IIIb	60	i	e,n,x,z15	= Arizona 24 . 33 : 28	
salmonella IIIb	60	i	z		
salmonella IIIb	60	i	z35	= Arizona 24 : 33 : 21	
salmonella IIIb	60	k	z	= Arizona 24 : 29 : 31	
salmonella IIIb	60	k	z35	= Arizona 24 : 29 : 21	
salmonella IIIb	60	(k)	z53	= Arizona 24 : 22 : 25	
salmonella IIIb	60	l,v	z	= Arizona 24 : 23 : 31	
salmonella IIIb	60	r	e,n,x,z15	= Arizona 24 : 24 : 28	
salmonella IIIb	60	r	z	= Arizona 24 : 24 : 31	
salmonella IIIb	60	r	z35	= Arizona 24 : 24 : 21	
salmonella IIIb	60	r	z53	= Arizona 24 : 24 : 25	
luton II	60	z	e,n,x		
salmonella IIIb	60	z10	z	= Arizona 24 : 27 : 31	
salmonella IIIb	60	z10	z35	= Arizona 24 : 27 : 21	
salmonella IIIb	60	z10	z53	= Arizona 24 : 27 : 25	
salmonella II	60	z29	e,n,x		
salmonella V	60	z41	-		
salmonella IIIb	60	z52	1,5,(7)	= Arizona 24 : 26 : 30	
salmonella IIIb	60	z52	z	= Arizona 24 : 26 : 31	
salmonella IIIb	60	z52	z35	= Arizona 24 : 26 : 21	
salmonella IIIb	60	z52	z53	= Arizona 24 : 26 : 25	

Gruppo O 61

salmonella IIIb	61	c	1.5.(7)	= Arizona 26 : 32 : 30	
salmonella IIIb	61	c	z35	= Arizona 26 : 32 : 21	
salmonella IIIb	61	i	e,n,x,z15	= Arizona 26 : 33 : 28	
eilbeck IIIb	61	i	z	assorbita da arizona 26 : 33 : 31	
salmonella IIIb	61	i	z	= Arizona 26 : 33 : 31	
salmonella IIIb	61	i	z35	= Arizona 26 : 33 : 21	
salmonella IIIb	61	i	z53	= Arizona 26 : 33 : 25	
salmonella IIIb	61	k	1,5,(7)	= Arizona 26 : 29 : 30	
salmonella IIIb	61	k	z35	= Arizona 26 : 29 : 21	
salmonella IIIb	61	(k)	z53	= Arizona 26 : 22 : 25	
salmonella IIIb	61	l,v	1,5,7 : (z57)	= Arizona 26 : 23 : 30 : (40)	
salmonella IIIb	61	l,v	z	= Arizona 26 : 23 : 31	
salmonella IIIb	61	l,v	z35	= Arizona 26 : 23 : 21	
salmonella IIIb	61	r	1,5,7	= Arizona 26 : 24 : 30	
salmonella IIIb	61	r	z	= Arizona 26 : 24 : 31	
salmonella IIIb	61	r	z35	= Arizona 26 : 24 : 21	
salmonella IIIb	61	r	z53	= Arizona 26 : 24 : 25 in fase R può avere il fattore H z47	
salmonella IIIb	61	z10	z35	= Arizona 26 : 27 : 21	
salmonella V	61	z35	-		
salmonella IIIb	61	z52	1,5,7	= Arizona 26 : 26 : 30	
salmonella IIIb	61	z52	z	= Arizona 26 : 26 : 31	
salmonella IIIb	61	z52	z35	= Arizona 26 : 26 : 21	
salmonella IIIb	61	z52	z53	= Arizona 26 : 26 : 25	

Gruppo O 62

salmonella IIIa	62	g,z51	-	= Arizona 6 . 13,14 : -	
salmonella IIIa	62	z29	-	= Arizona 6 : 17,18 : -	

salmonella IIIa	62	z36	-	= Arizona 6 : 17,20 : -	
salmonella IIIa	62	z4,z23	-	= Arizona 6 : 1,2,5 : -	
salmonella IIIa	62	z4,z32	-	= Arizona 6 : 1,7,8 : -	

Gruppo O 63

salmonella IIIa	63	g,z51	-	= Arizona 8 : 13,14 : -	
salmonella IIIa	63	z36	-	= Arizona 8 : 17,20 : -	
salmonella IIIa	63	z4,z23	-	= Arizona 8 : 1,2,5 : -	
salmonella IIIa	63	z4,z32	-	= Arizona 8 : 1,7,8 : -	

Gruppo O 64

salmonella II	64	k	e,n,x,z15		
salmonella II	64	z29	-		

Gruppo O 65

salmonella II	65 -	-	1,6		
salmonella IIIb	65	c	1,5,7	= Arizona 30 : 32 : 30	
salmonella IIIb	65	c	z	= Arizona 30 : 32 : 31	
salmonella IIIb	65	c	z53	= Arizona 30 : 32 : 25	
salmonella II	65	g,t	-		
salmonella IIIb	65	i	e,n,x,z15	= Arizona 30 : 33 : 28	
salmonella IIIb	65	(k)	z	= Arizona 30 : 22 : 31	
salmonella IIIb	65	(k)	z35	= Arizona 30 : 22 : 21	
salmonella IIIb	65	(k)	z53	= Arizona 30 : 22 : 25	
salmonella IIIb	65	l,v	e,n,x,z15	= Arizona 30 : 23 : 28	
salmonella IIIb	65	l,v	z	= Arizona 30 : 23 : 31	
salmonella IIIb	65	l,v	z35	= Arizona 30 : 23 : 21	
salmonella IIIb	65	l,v	z53	= Arizona 30 : 23 : 25	
salmonella IIIb	65	r	z35	= Arizona 30 : 24 : 21	
salmonella IIIb	65	z10	e,n,x,z15	= Arizona 30 : 27 . 28	
salmonella IIIb	65	z10	z	= Arizona 30 : 27 : 31	
salmonella IIIb	65	z52	e,n,x,z15	= Arizona 30 : 26 : 28	

salmonella IIIb	65	z52	z	= Arizona 30 : 26 : 31	
salmonella IIIb	65	z52	z35	= Arizona 30 : 26 : 21	
salmonella IIIb	65	z52	z53	= Arizona 30 : 26 : 25	

Gruppo O 66

maregrosso V	66	z35	-		
salmonella V	66	z39	-		
brookfield V	66	z41	-		
malawi V	66	z65	-		
salmonella V	66	z81	-		

Gruppo O 67

crossness	67	r	1,2		

ELENCO IN ORDINE ALFABETICO DEI SIEROTIPI DI *SALMONELLA*

aachen	17	z35	1,6
aarhus	18	z4,z23	z64
aba	6,8	i	e,n,z15
abadina	28	g,m	(e,n,z15)
abaetetuba	11	k	1,5
aberdeen	11	i	1,2
abidjan	39	b	l,w
ablogame	16	l,z13,z28	z6
abobo	16	i	z6
abony	1,4,5,12,27	b	e,n,x
abortus-bovis	1,4,12,27	b	e,n,x
abortus-canis	4,5,12	b	z5 (fase R)
abortus-equi	4,12	-	e,n,x
abortus-ovis	4,12	c	1,6
abuja	11	g,m	1,5
accra	1,3,19	b	z6
ackwepe	9,46	l,w	-
acres II	1,13,23	b	(1,5) : z42
adabraka	3,10	z4,z23	(1,7)
adamstown	28	k	1,6
adamstua	11	e,h	1,6
adana	43	z10	1,5
adelaide	35	f,g	-
adeoyo	16	g,m,(t)	-
aderike	28	z38	(e,n,z15)
adime	6,7	b	1,6
adjame	13,23	r	1,6
aequatoria	6,7	z4,z23	(e,n,z15)
aesch	6,8	z60	1,2
aflao	1,6,14,25	l,z28	e,n,x
africana	4,12	r,i	l,w
afula	6,7	f,g,t	e,n,x
agama	4,12	i	1,6
agbara	16	i	1,6
agbeni	1,13,23	g,m,(s),(t)	-
agege	3,10	c	e,n,z15
ago	30	z38	-
agodi	35	g,t	-
agona	1,4,(5),12	f,g,s	(1,2)
agoueve	13,22	z29	-
ahanou	17	i	1,7
ahepe	43	z35	1,6
ahmadi	1,3,19	d	1,5
ahoutoue	41	z35	1,6
ahuza	43	k	1,5
ajiobo	13,23	z4,z23	-
akanji	6,8	r	1,7
akuafo	16	y	1,6
alabama	9,12	c	e,n,z15
alachua	35	z4,z23	-
alagbon	8	y	1,7
alamo	6,7	g,z51	1,5
albany	8,20	z4,z24	-
albert	4,12	z10	e,n,x
albuquerque	1,6,14,24	d	z6

alexander II	3,10	z	1,5
alexanderplatz	47	z38	-
alexanderpolder	8	c	l,w
alfort	3,10	f,g	e,n,x
alger	38	l,v	1,2
alkmaar	1,3,19	a	l,w
allandale	1,40	k	1,6
allerton	3,10	b	1,6
alma	39	i	e,n,z15
alminko	8,20	g,s,t	-
alpenquai	6,14	l,v	e,n,z15
alsterdorf II	1,40	g,m,(s),t	(1,5)
altendorf	4,12,27	c	1,7
amager	3,10	y	1,2
amba	11	k	l,z13,z28
amersfoort	6,7	d	e,n,x
amherstiana	8	l,v	1,6
amina	16	i	1,5
aminatu	3,10	a	1,2
amounderness	3,10	i	1,5
amoutive	28	d	1,5
amsterdam	3,10	g,m,s	-
amunigun	16	a	1,6
anatum	3,10	e,h	1,6
anderlecht	3,10	c	l,w
anecho	35	g,s,t	-
anfo	39	y	1,2
angers	8,20	z35	z6
angoda	30	k	e,n,x
angola II	1,9,12	z	z6
angouleme	16	z10	z6
anie	47	(g),m,t	-
ank	28	k	e,n,z15
anna	13,23	z35	e,n,z15
annedal	16	r,i	e,n,x
antarctica	9,12	g,z63	-
antonio	57	a	z6
antsalova	51	z	1,5
antwerpen	1,42	c	e,n,z15
apapa	45	m,t	-
apeyeme	8,20	z38	-
aprad	45	z10	-
aqua	30	k	1,6
aragua	30	z29	-
arapahoe	1,6,14	z4,z23	1,5
ardwick	6,7,14	f,g	-
arechavaleta	4,(5),12	a	(1,7)
argentina IV	6,7	z36	-
arkansas	3,15,34	e,h	1,5
artis II	56	b	-
arusha	43	z	e,n,z15
aschersleben	30	b	1,5
ashanti	28	b	1,6
askraal II	51	l,z28	(z6)
assen	21	a	(1,5)

assinie	3,10	l,w	z6
asylanta	3,10	c	1,2
atakpame	8,20	e,h	1,7
atento	11	b	1,2
athinai	6,7	i	e,n,z15
ati	11	d	1,2
atlanta	13,23	b	-
atra II	50	m,t	z6 : z42
augustenborg	6,7,14	i	1,2
austin	6,7	a	1,7
australia	48	l,v	1,5
avignon	16	y	e,n,z15
avonmounth	1,3,19	i	e,n,z15
axim	16	z4,z23	z6
ayinde	1,4,12,27	d	z6
ayton	1,4,12,27	l,w	z6
azteca	4,(5),12,27	l,v	1,5
babelsberg	28	z4,z23	(e,n,z15)
babili	28	z35	1,7
bacongo II	6,7	z36	z42
badagry	16	z10	1,5
baguida	21	z4,z23	-
baguirmi	30	y	e,n,x
bahati	13,22	b	e,n,z15
bahrenfeld	6,14,24	e,h	1,5
baiboukoum	6,7	k	1,7
baildon	9,46	a	e,n,x
bakau	28	a	1,7
balboa V	48	z41	-
balcones	45	z36	-
ball	1,4,12,27	y	e,n,x
bama	17	m,t	-
bamboye	9,46	b	l,w
bambylor	9,46	z	e,n,z15
banalia	6,8	b	z6
banana	1,4,(5),12	m,t	(1,5)
banco	28	r,i	1,7
bandia	35	i	l,w
bangkok	38	z4,z24	-
bangui	9,12	d	e,n,z15
banjul	1,6,14,25	a	e,n,z15
baragwanath II	6,8	m,t	1,5
bardo	8	e,h	1,2
bareilly	6,7,14	y	1,5
bargny	8,20	i	1,5
barmbek	16	d	z6
barranquilla	16	d	e,n,x
barry	54	z10	e,n,z15
basel II	58	l,z13	1,5
basingstoke	9,46	z35	e,n,z15
bassa	6,8	m,t	-
bassadji	28	r	1,6
batonrouge	57	b	e,n,z15
battle	16	l,z13,z28	1,6
bazenheid	8,20	z10	1,2
be	8,20	a	(z6)
beaudesert	(1),6,14,(25)	e,h	1,7
bechuana II	1,4,12,27	g,m,t : (1,5)	(z39)
bedford	1,3,19	l,z13,z28	e,n,z15

belem	6,8	c	e,n,x
belfast	6,8	c	1,7
bellevue	8	z4,z23	1,7
bellville	16	e,n,x	1,(5),7
beloha II	18	z36	-
benfica	3,10	b	e,n,x
benguella	40	b	z6
benin	9,46	y	1,7
benue	6,8	y	l,w
bere	47	z4,z23	(z6)
bergedorf	9,46	e,h	1,2
bergen	47	i	e,n,z15
bergues	51	z10	1,5
berkeley	43	a	1,5
berlin	17	d	1,5
bern IV	1,40	z4,z32	-
berta	1,9,12	f,g,(t)	-
bessi	3,10	i	e,n,x
bethune	1,3,19	k	1,7
betioky II	59	k	z
biafra	3,10	z10	z6
bida	1,3,19	c	1,6
bietri	30	y	1,5
bignona	17	b	e,n,z15
bijlmer	1,40	g,m	-
bilthoven	47	a	(1,5)
bilu	(1),3,10,(19)	f,g,t	1,(2),7
binche	47	z4,z23	l,w
bingerville	47	z35	e,n,z15
binningen	45	g,s,t	-
binza	3,15	y	1,5
birkenhead	6,7	c	1,6
birmingham	3,10	d	l,w
bispebjerg	1,4,(5),12	a	e,n,x
bissau	4,12	c	e,n,x
blankenese II	1,9,12	b	z6
bleadon II	17	(f),g,t	(e,n,x,z15)
blegdam	9,12	g,m,q	-
blitta	47	y	e,n,x
bljidorp	1,6,14,25	c	1,5
blockley	6,8	k	1,5
bloemfontein II	6,7	b	(e,n,x:z42)
bloomsbury	3,10	g,t	1,5
blukwa	6,14,18	z4,z24	-
bobo	44	d	1,5
bochum	4,(5),12	r,(i)	l,w
bodjonegoro	30	z4,z24	-
boecker	(1),6,14,(25)	l,v	1,7
bofflens	41	z4,z23	1,7
bokanjac	28	b	1,7
boksburg II	40	g,(m),s,(t)	e,n,x
bolama	44	z	e,n,z15
bolombo	3,10	z38	(z6)
bolton	3,10	y	e,n,z15
bonaire IV	50	z4,z32	-
bonames	17	a	1,2
bonariensis	6,8	i	e,n,x
bongor V	48	z35	-
bonn	6,7	l,v	e,n,x

bootle	47	k	1,5
borbeck	13,22	l,v	1,6
bordeaux	52	k	1,5
bornheim VI	1,6,14,25	z10	1,(2),7
bornum	6,7,14	z38	-
borreze	54	f,g,s	-
borromea	42	i	1,6
bouake	16	z	z6
boulders II	1,13,23	m.t	z42
bournemounth	9,12	e,h	1,2
bousso	1,6,14,25	z4,z23	(e,n,z15)
bovis-morbificans	6,8,20	r,(i)	1,5
brackenridge	44	z	1,5
bracknell	13,23	b	1,6
bradford	4,12,27	r	1,5
braenderup	6,7,14	e,h	e,n,z15
brancaster	1,4,12,27	z29	-
brandenburg	1,4,(5),12,27	l,v	e,n,z15
brazil	16	a	1,5
brazos	6,14,18	a	e,n,z15
brazzaville	6,7	b	1,2
breda	6,8	z4,z23	e,n,x
bredeney	1,4,12,27	l,v	1,7
brefet	44	r	e,n,z15
bremen II	45	g,m,s,t	e,n,x
breukelen	6,8	l,z13,(z28)	e,n,z15
brevik	16	z	e,n,(x),z15
brezany	1,4,12,27	d	1,6
brijbhumi	11	i	1,5
brikama	8,20	r,(i)	l,w
brindisi	11	c	1,6
brisbane	28	z	e,n,z15
bristol	13,22	z	1,7
brive	1,42	r	l,w
broc	42	z4,z23	e,n,z15
bron	13,22	g,m	(e,n,z15)
bronx	6,8	c	1,6
brookfield V	66	z41	-
brooklyn	16	l,w	e,n,x
broughton	1,3,19	b	l,w
bruck	6,7	z	l,w
bruebach	39	e,h	1,2
brunei	8,20	y	1,5
brunflo	16	r	1,7
bsilla	6,8	r	1,2
buckeye	48	d	-
budapest	1,4,12,27	g,t	-
bukavu	1,40	l,z28	1,5
bukuru	6,8	b	l,w
bulawayo II	1,40	z	1,5
bulgaria	6,8	y	1,6
bullbay	11	l,v	e,n,z15
bulovka	6,7	z44	-
bunnik II	43	z42	(1,5,7)
burgas	16	l,v	e,n,z15
burundi	41	a	-
bury	4,12,27	c	z6
businga	6,7	z	e,n,z15

butantan	3,10	b	1,5
butare	52	e,h	1,6
buzu	(1),6,14,(25)	i	1,7
caen	16	d	l,w
cairina	3,10	z35	z6
cairns	45	k	e,n,z15
cairo	1,4,12,27	d	1,2
calabar	1,3,19	e,h	l,w
caledon II	1,4,12,27	g,(m),(s),t	e,n,x
california	4,12	g,m,t	(z67)
calvinia	6,7	a	z42
camberene	35	z10	1,5
camberwell	9,12	r	1,7
cambridge	3,15	e,h	l,w
camdeni V	44	r	-
campinense	9,12	r	e,n,z15
canada	4,12,27	b	1,6
canary	40	l,v	1,6
canastel II	9,12	z29	1,5
cannobio	28	z4,z23	1,5
cannonhill	1,3,15,19	y	e,n,x
cannstatt	1,3,19	m,t	-
cannstatt	1,3,19	m,t	-
canoga	3,15,34	g,s,t	-
canton	54	z10	e,n,x
cape II	6,7	z6	1,7
car mel	17	l,v	e,n,x
caracas	(1),6,14,(25)	g,m,s	-
cardiff	6,7	k	1,10 (fase R)
cardoner	16	g,s,t	-
carletonville II	38	d	(1,5)
carnac	18	z10	z6
carno	1,3,19	z	l,w
carrau	6,14,(24)	y	1,7
carswell	44	g,z51	-
casablanca	45	k	1,7
casamance	40	z	e,n,x
catalunia	28	l,z13,z28	1,5
catanzaro	6,14	g,s,t	-
cayar	6,7	z	e,n,x
ceres II	28	z	z39
cerro	18	z4,z23	(1,5)
ceyco	9,46	k	z35
chagoua	1,13,23	a	1,5
chailey	6,8	z4,z23	(e,n,z15)
champaign	39	k	1,5
chandans	11	d	e,n,x : (r)
charity	(1),6,14,(25)	d	e,n,x
charlottenburg	6,8	k	e,n,z15
chartres	1,4,12	e,h	l,w
cheltenham	9,46	b	1,5
chersina II	47	z	z6
chester	1.4,(5),12	e,h	e,n,x
chicago	28	r, (i)	1,5
chichester	1,3,19	i	1,6
chichiri	6,14,24	z4,z24	-
chile	6,7	z	1,2
chincol	6,8	g,m,(s)	(e,n,x)

chingola	11	e,h	1,2
chinovum II	42	b	1,5
chiredzi	11	c	1,5
chittagong	1,3,10,19	b	z35
cholerae-suis	6,7	(c)	1,5
cholerae-suis var. kunzendorf	6,7	c	(1,5)
chomedey	8,20	z10	e,n,z15
christiansborg	44	z4,z24	-
chudleigh II	3,10	e,n,x	1,7
clackamas	4,12	l,v, (z13)	1,6
claibornei	1,9,12	k	1,5
clanvillian	11	r	e,n,z15
clerkenwell	3,10	z	l,w
cleveland	6,8	z10	1,7
clichy	3,15	a	1,5
clifton II	13,22	z29	1,5
clontarf	9,46	k	1,6
clovelly II	1,44	z39	(e,n,x,z15)
cochin	9,46	k	1,5
cocody	8,20	r,i	e,n,z15
coeln	1,4,5,12	y	1,2
coleypark	6,7,14	a	l,w
colindale	6,7	r	1,7
colobane	11	k	1,7
colombo	38	y	1,6
colorado	6,7	l,w	1,5
concord	6,7	l,v	1,2
congo	13,23	g,m,s,t	-
connecticut	11	l,z13,z28	1,5
constantia II	17	z	l,w : z42
coogee	42	l,v	e,n,z15
cook	39	z48 (faseR)	1,5
coquilhatville	3,10	z10	1,7
coromandel	6,7	l,v	z35
corvallis	8,20	z4,z23	(z6)
cotham	28	i	1,5
cotia	18	-	1,6
cremieu	6,8	e,h	1,(6)
crewe	11	z	1,5
croft	28	g,m,s	(e,n,z15)
crossness	67	r	1,2
cubana	1,13,23	z29	-
cukmere	3,10	i	1,2
cullingworth	28	d	l,w
cumberland	39	i	e,n,x
curacao	6,8	a	1,6
cyprus	6,8	i	l,w
czernyring	54	r	1,5
daarle	6,8	y	e,n,x
dabou	8,20	z4,z23	l,w
dadzie	51	l,v	e,n,x
dahlem	48	k	e,n,z15
dahomey	47	k	1,6
dahra	17	b	1,5
dakar	28	a	1,6
dakota	16	z35	e,n,z15
dalat	4,5,27	y	e,n,x
dallgow	1,3,19	z10	e,n,z15
damman	6,7	a	z6
dan	51	k	e,n,z15
dapango	47	r	1,2
dar-es-salaam II	1,9,12	l,w	e,n,x
daula	8,20	z	z6
daytona	6,7	k	1,6
decatur	6,7	c	1,5
deckstein	9,46	r	1,7
degania II	40	z4,z24	(z39)
degania IV	40	z4,z24	-
delan	39	y	e,n,z15
delmenhorst	18	z71	-
dembe	35	d	l,w
demerara	13,23	z10	l,w
denver	6,7	a	e,n,z15
derby	1,4,(5),12	f,g	(1,2)
derkle	52	e,h	1,7
dessau	1,3,15,19	g,s,t	-
detroit II	42	z	1,5
deversoir	45	c	e,n,x
dibra	28	a	z6
dieuppeul	28	i	1,7
diguel	1,13,22	d	e,n,z15
diogoye	8,20	z41	z6
diourbel	21	i	1,2
djakarta	48	z4,z24	-
djama	1,42	z29	(1,5)
djelfa	8	b	1,2
djermaia	28	z29	-
djibouti	17	z10	e,n,x
djinten	51	m,t	-
djugu	6,7	z10	e,n,x
doba	9,46	a	e,n,z15
doel	28	z	1,6
doncaster	6,8	a	1,5
donna	30	l,v	1,5
doorn	28	i	1,2
dortmund	3,10	z41	1,(2),5
douala	28	i	l,w
dougi	50	y	1,6
doulassame	30	a	e,n,z15
drac	47	l,v	e,n,x
dresden	28	c	e,n,x
driffield	1,40	d	1,5
drogana	1,4,12,27	r,(i)	e,n,z15
drypool	3,(15),(34)	g,m,s	-
dublin	1,9,12, (Vi)	g,p	-
dubrovnik II	41	z	1,5
duesseldorf	6,8	z4,z24	-
dugbe	45	d	1,6
duisburg	1,4,12,27	d	e,n,z15
duivenhoks II	9,46	g,(m),(s),t	(e,n,x)
dumfries	3,10	r,i	1,6
dunkwa	6,8	d	1,7
durban	9,12	a	e,n,z15
durbanville II	1,4,12,27	(z39)	1,(5),7
durham	13,23	b	e,n,z15
duval	1,40	b	e,n,z15
ealing	35	g,m,s	-

eastbourne	1,9,12	e,h	1,5
eastglam	1,3,19	c	1,5
eberswalde	28	c	1,6
eboko	6,8	b	1,7
ebrie	35	g,m,t	-
echa	38	k	1,2
edinburg	6,7	b	1,5
edmonton	6,8	l,v	e,n,z15
egusi	41	d	(1,5)
egusitoo	1,42	b	z6
eilbeck IIIb	61	i	z
eimsbuettel	6,7,14	d	l,w
eingedi	6,7	f,g,t	1,2,7
ejeda II	45	a	z10
eko	4,12	e,h	1,6
ekotedo	9,46	z4,z23	-
ekpoui	47	z29	-
elisabethville	3,10	r	1,7
elokate	9,12	c	1,7
elomrane	1,9,12	z38	-
elsiesriver II	16	z42	1,6
emek	8,20	g,m,s	-
emmastad	38	r	1,6
emmerich II	6,14	(m,t)	e,n,x
encino	1,6,14,25	d	l,z13,z28
enschede	35	z10	l,w
entebbe	1,4,12,27	z	z6
enteritidis	1,9,12	(f),g,m,(p),(t)	(1,7)
enugu	16	l,(z13),z28	(1,5)
epicrates	3,10	b	l,w
epinay	11	a	l,z13,z28
eppendorf	1,4,12,27	d	1,5
epping II	1,13,23	e,n,x	1,(5),7
erlangen II	48	g,m,t	-
escanaba	6,7	k	e,n,z15
eschberg	9,12	d	1,7
eschersheim	3,15	d	e,n,x
eschweiler	6,7	z10	1,6
essen	4,12	g,m	-
essingen	16	l,v	z6
etosha II	48	d	1,11
etterbeek	11	z4,z23	e,n,z15
euston	11	r,i	e,n,x,z15
everleigh	3,10	z29	e,n,x
ezra	28	z	1,7
fairfield	28	r	l,w
fajara	28	l,z28	e,n,x
faji	1,42	a	e,n,z15
falkensee	3,10	i	e,n,z15
fallowfield	3,10	l,z13,z28	e,n,z15
fandran II	1,40	z35	e,n,x,z15
fann	11	l,v	e,n,x
fanti	13,23	z38	-
farakan	28	z10	1,5
farcha	43	y	1,2
fareham	1,3,19	r,i	l,w
farmsen	13,23	z	1,6
farsta	4,12	i	e,n,x

fass	50	l,v	1,2
faure II	50	z42	1,7
fayed	6,8	l,w	1,2
fehrbellin	47	z4,z23	1,6
ferlac VI	1,6,14,25	a	e,n,x
ferlo	41	k	1,6
ferruch	8	e,h	1,5
finaghy	4,12	y	1,6
finchley II	3,10	z	e,n,x
findorff	11	d	z6
finkenwerder	(1),6,14,(25)	d	1,5
fischerhuette	16	a	e,n,z15
fischerkietz	1,6,14,25	y	e,n,x
fischerstrasse	44	d	e,n,z15
fitzroy	48	e,h	1,5
flint IV	50	z4,z23	-
florian	3,10,(15)	z4,z24	-
florida	(1),6,14,(25)	d	1,7
flottbek	52	b	(e,n,x)
fluntern	6,14,18	b	1,5
fomeco	45	b	e,n,z15
fortlamy	16	z	1,6
fortune	1,4,12,27	z10	z6
foulpointe II	38	g,t	-
franken	9,12	z6	z67
franken	1,9,12	z60	z67
frankfurt	16	i	e,n,z15
frederiksberg	1,42	b	l,w
freefalls	28	b	l,w
freetown	38	y	1,5
freiburg	3,10	l,z13	1,2
fremantle II	42	(f),g,t	-
fresno	9,46	z38	-
friedenau	13,22	d	1,6
friedrichsfelde	28	f,g	-
frintrop	1,9,12	b	1,5
fufu	3,10	z	1,5
fuhlsbuettel II	3,10	l,v	z6
fulda	1,3,19	l,w	1,5
fulica	4,(5),12	a	1,5
fyris	4,(5),12	l,v	1,2
gabon	6,7	l,w	1,2
gafsa	16	c	1,6
galiema	6,7,14	k	1,2
galil	3,10	a	e,n,z15
gallen	11	a	1,2
gallinarum	1,9,12	-	-
gamaba	44	g,m,(s)	-
gamba	35	i	e,n,z15
gambaga	21	z35	e,n,z15
gaminara	16	d	1,7
garba	1,6,14,25	a	1,5
garoli	6,7	i	1,6
gassi	35	e,h	z6
gateshead	9,46	g,s,t	-
gatineau	1,3,19	y	1,5
gatow	6,7	y	1,7
gatun i	6,8	b	e,n,x
gbadago	3,10,(15)	c	1,5

gdansk	6,7	l,v	z6
gege	30	r	1,5
gelsenkirchen	6,7,14	l,v	z6
georgia	6,7	b	e,n,z15
gera	1,42	z4,z23	(1,6)
geraldton	9,46	l,v	1,6
gerland	16	z	1,5
germiston II	6,8	m,t	e,n,x
ghana	21	b	1,6
giessen	30	g,m,s	-
gilbert II	6,7	z39	1,5,7
give	3,10	l,v	1,7
giza	8,20	y	1,2
glasgow	16	b	1,6
glencairn II	11	a	z6 : z42
glidji	11	l,w	1,5
glostrup	6,8	z10	e,n,z15
gloucester	1,4,12,27	i	l,w
gnesta	1,3,19	b	1,5
godesberg	30	g,m,(t)	-
goelzau	3,10	a	1,5
goerlitz	3,15	e,h	1,2
goeteborg	9,12	c	1,5
goettingen	9,12	l,v	e,n,z15
gojenberg II	1,13,23	g,t	1,5
gokul	1,51	d	(1,5)
gold-coast	6,8	r	l,w
goma	6,7	z4,z23	z6
gombe	6,7	d	e,n,z15
good	21	f,g	e,n,x
goodwood II	13,22	z29	e,n,x
gori	17	z	1,2
goulfey	1,40	k	1,5
gouloumbo	35	c	1,5
goverdhan	9,12	k	1,6
gozo	28	e,h	e,n,z15
grabouw II	11	g,(m),s,t	(z39)
grampian	6,7	r	l,w
grancanaria	16	z39	(1,6)
grandhaven	30	r	1,2
granlo	17	l,z28	e,n,x
graz	43	a	1,2
greenside II	50	z	e,n,x
greiz	40	a	z6
groenekan	18	d	1,5
grumpensis	1,13,23	d	1,7
grunty II	1,40	z39	1,6
guarapiranga	30	a	e,n,x
guerin	9,46	e,h	z6
guildford	28	k	1,2
guinea	1,44	z10	(1,7)
gustavia	11	d	1,5
gwaai II	21	z4,z24	-
gwale	1,42	k	z6
gwoza	1,3,19	a	e,n,z15
haardt	8	k	1,5
haarlem II	9,46	z	e,n,x
hadar	6,8	z10	e,n,x
haddon II	16	z4,z23	-
hadejia	17	y	e,n,z15
haduna	4,12	l,z13,(z28)	1,6
haelsingborg	6,7	m,p,t,(u)	-
haferbreite	42	k	(1,6)
haga	35	z38	-
hagenbeck II	48	d	z6
haifa	1,4,(5),12	z10	1,2
halle	28	c	1,7
hallfold	1,4,12,27	c	l,w
halmstad	3,15	g, s,t	-
hamburg II	1,9,12	g, t	-
hamilton	3,15	z27 (fase R)	-
hammonia II	48	e,n,x,z15	z6
handen	1,13,23	d	1,2
hann	40	k	e,n,x
hannover	16	a	1,2
haouaria	13,22	c	e,n,x,z15
harburg	(1),6,14,(25)	k	1,5
harcourt	51	l,v	1,2
harleystreet	3,10	z	1,6
harmelen IV	51	z4,z23	-
harrisonburg	3,10,(15),(34)	z10	1,6
harrisonburg	3,15,34	z10	1,6
hartford	6,7	y	e,n,x
harvestehude	1,42	y	z6
hatfield	28	d	1,6
hato	1,4,12	g,m,s	-
havana	1,13,23	f,g,(s)	-
hayindogo	1,3,19	e,h	1,6
heerlen	11	i	1,6
hegau	39	z10	-
heidelberg	1,4,(5),12	r	1,2
heilbron II	6,7	l,z28	1,5 : (z42)
helsinki II	1,4,12	z29	(e,n,x)
hemingford	50	d	1,5
hennekamp	42	z35	e,n,z15
hennepin II	41	d	z6
hermannswerder	28	c	1,5
heron	16	a	z6
herston	6,8	d	e,n,z15
herzliya	11	y	e,n,x
hessarek	4,12,27	a	
heves	6,14,(24)	d	1,5
hidalgo	6,8	r,i	e,n,z15
hiduddify	6,8	l,z13,z28	1,5
hillbrow II	17	b	e,n,x,z15
hillegersberg	9,46	z35	1,5
hillingdon	9,46	g,m	-
hillsborough	6,7	z41	l,w
hilversum	30	k	1,2
hindmarsh	8,20	r	1,5
hisingen	48	a	1,5,7
hissar	6,7,14	c	1,2
hithergreen	16	c	e,n,z15
hoboken	3,10	i	l,w
hofit	39	i	1,5
hoghton	3,10	l,z13,z28	z6
holcomb	6,8	l,v	e,n,x

homosassa	1,6,14,25	z	1,5
honelis	28	a	e,n,z15
hongkong	1,3,19	z	z6
hooggraven II	50	z10	z6 : z42
horsham	1,6,14,(25)	l,v	e,n,x
houten IV	43	z4,z23	-
huddinge	3,10	z	1,7
hueningen II	9,12	z	z39
huettwilen	1,4,12	a	l,w
huila II	11	l,z28	e,n,x
hull	16	b	1,2
humber II	53	z4,z24	-
huvudsta	3,10	b	1,7
hvittingfoss	16	b	e,n,x
hydra	21	c	1,6
ibadan	13,22	b	1,5
ibaragi	21	y	1,2
idikan	1,13,23	i	1,5
ikayi	3,(10),(15)	c	1,6
ikeja	28	k	1,7
ilala	28	k	1,5
illinois	3,15,34	z10	1,5
ilugun	1,3,10,19	z4,z23	z6
imo	45	l,v	(e,n,z15)
inchpark	6,8	y	1,7
india	9,46	l,v	1,5
indiana	1,4,12	z	1,7
infantis	6,7,14	r	1,5
inganda	6,7	z10	1,5
inglis	9,46	z10	e,n,x
inpraw	41	z10	e,n,x
inverness	38	k	1,6
ipeko	9,12	c	1,6
ipswich	41	z4,z24	(1,5)
irchel	9,46	y	e,n,x
irenea	17	k	1,5
irigny	43	z38	-
irumu	6,7	l,v	1,5
isangi	6,7,14	d	1,5
isaszeg	48	z10	e,n,x
islington II	3,10	g,t	-
israel	9,12	e,h	e,n,z15
istanbul	8	z10	e,n,x
istoria	1,6,14,25	r,i	1,5
isuge	13,23	d	z6
italiana	9,12	l,v	-
itami	9,12	l,z13	1,5
ituri	1,4,12	z10	1,5
itutaba	9,46	c	z6
ivory	16	r	1,6
ivorycoast	50	z29	-
jacksonville II	16	z29	(e,n,x)
jaffna	1,9,12	d	z35
jaja	4,12,27	z4,z23	-
jalisco	11	y	1,7
jamaica	9,12	r	1,5
jambur	21	l,z28	e,n,z15
jangwani	17	a	1,5
java	1,4,5,12	b	(1,2)

javiana	1,9,12	l,z28	1,5
jedburgh	3,10,(15)	z29	-
jedburgh	3,(15)	z29	-
jericho	1,4,12,27	c	e,n,z15
jerusalem	6,7,14	z10	l,w
joal	3,10	l,z28	1,7
jodhpur	45	z29	-
joenkoeping	4,5,12	g,s,t	(1,2)
johannesburg	1,40	b	e,n,x
jos	1,4,12,27	y	e,n,z15
juba	1,3,19	a	1,7
jubilee	17	e,h	1,2
jukestown	13,23	i	e,n,z15
kaapstad	4,12	e,h	1,7
kabete	51	i	1,5
kaduna	6,7,14	c	e,n,z15
kahla	1,42	z35	1,6
kainji	1,3,19	z	1,6
kaitaan	1,6,14,25	m,t	-
kalamu	4,(5),12	z4,z24	(1,5)
kalina	3,10	b	1,2
kallo	6,8	k	1,2
kaltenhausen II	28	b	z6
kalumburu	6,8	z	e,n,z15
kambole	6,7	d	1,(2),7
kamoru	4,12,27	y	z6
kampala	1,42	c	z6
kande	1,3,19	b	e,n,z15
kandla	17	z29	-
kaneshie	1,42	i	l,w
kanifing	1,6,14,25	z	1,6
kano	1,4,12,27	l,z13,z28	e,n,x
kaolack	47	z	1,6
kapemba	9,12	l,v	1,7
karachi	45	d	e,n,x
karamoja	40	z41	1,2
karaya	51	b	1,5
karlshamn	17	d	e,n,z15
kasenyi	38	e,h	1,5
kassberg	1,6,14,25	c	1,6
kastrup	6,7	e,n,z15	1,6
katesgrove II	1,13,23	m,t	1,5
kedougou	1,13,23	i	l,w
kentucky	8,20	i	z6
kenya	6,7	l,z13	e,n,x
kermel	44	d	e,n,x
keve	21	l,w	-
khami II	47	b	(e,n,x,z15)
khartoum	3,15,34	a	1,7
kiambu	1,4,12	z	1,5
kibi	16	z4,z23	(1,6)
kibusi	28	r	e,n,x
kidderminster	38	c	1,6
kiel	1,2,12	g,p	1,5
kikoma	16	y	e,n,x
kilwa II	4,12	l,w	e,n,x
kimberley	38	l,v	1,5
kimpese	9,12	z	1,6
kimuenza	1,4,12,27	l,v	e,n,x

kindia	1,3,19	l,z28	e,n,x
kingabwa	43	y	1,5
kingston	1,4,12,27	g,s,t	(1,2)
kinondoni	17	a	e,n,x
kinshasa	3,15	l,z13	1,5
kinson	1,3,19	y	e,n,x
kintambo	1,13,23	m,t	-
kirkee	17	b	1,2
kisangani	1,4,(5),12	a	
kisarawe	11	k	e,n,x,(z15)
kisii	6,7	d	1,2
kitenge	28	y	e,n,x
kivu	6,7	d	1,6
klapmuts II	45	z	z39
klouto	38	z38	-
kluetjenfelde II	4,12	d	e,n,x
kodjovi	47	c	(1,6)
koenigstuhl	1,4,(5),12	z	e,n,z15
koessen	2,12	l,v	1,5
kofandoka	45	r	e,n,z15
koketime	44	z38	-
kokoli	30	z35	1,6
kokomlemle	39	l,v	e,n,x
kolar	9,46	b	z35
kolda	8,20	z35	1,2
kommetje II	43	b	z42
konolfingen	28	z35	1,6
konongo	41	r	1,7
konstanz	8	b	e,n,x
korbol	8,20	b	1,5
korlebu	1,3,19	z	1,5
korovi	38	g,m,(s)	-
kortrijk	6,7	l,v	1,7
kottbus	6,8	e,h	1,5
kotte	6,7	b	z35
kotu	9,12	l,z28	1,6
kouka	1,3,19	g,m,(t)	-
koumra	6,7	b	1,7
kpeme	28	e,h	1,7
kraaifontein II	1,13,23	g,m,t	(e,n,x)
kralendyk IV	6,7	z4,z24	-
kralingen	8,20	y	z6
krefeld	1,3,19	y	l,w
kristianstad	3,10	z10	e,n,z15
krugersdorp II	50	e,n,x	1,7
kua	44	z4,z23	-
kubacha	1,4,12,27	l,z13,z28	1,7
kuessel	28	i	e,n,z15
kumasi	30	z10	e,n,z15
kunduchi	1,4,(5),12,27	(l,z13),(z28)	(1,2)
kuntair	1,6,14,25	b	1,5
kuru	6,8	z	l,w
labadi	8,20	d	z6
lagos	1,4,(5),12	i	1,5
lamberhurst	3,10	e,h	e,n,z15
lamin	3,10	l,z28	e,n,x
lancaster	17	l,v	1,7
landala	41	z10	1,6
landau	30	i	1,2
landwasser	3,10	z	z6
langenhorn	18	m,t	-
langensalza	3,10	y	l,w
langford	28	b	e,n,z15
lanka	3,15	r	z6
lansing	38	i	1,5
laredo	1,6,14,25	z10	1,6
larochelle	6,7	e,h	1,2
lattenkamp	45	z35	1,5
lawndale	1,9,12	z	1,5
lawra	44	k	e,n,z15
leatherhead	41	m,t	1,6
lechler	51	z	e,n,z15
leda	53	-	1,6
leer	18	z10	1,5
leeuwarden	11	b	1,5
legon	1,4,12,27	c	1,5
leiden	13,22	z38	-
leipzig	41	z10	1,5
leith	6,8	a	e,n,z15
lekke	3,10	d	1,6
lene	11	z38	-
leoben	28	l,v	1,5
leopoldville	6,7,14	b	z6
lerum	1,3,19	z	1,7
lethe II	41	g,t	-
lexington	3,10	z10	1,5
lezennes	6,8	z4,z23	1,7
libreville	28	z10	1,6
lichtenberg II	41	z10	(z6)
ligeo	30	l,v	1,2
ligna	35	z10	z6
lika	6,7	i	1,7
lille (bornum)	6,7	z38	-
limbe II	1,13,22	g,m,t	(1,5)
limete	1,4,12,27	b	1,5
lincoln II	11	m,t	e,n,x
lindenburg	6,8	i	1,2
lindern	6,14,(24)	d	e,n,x
lindi	38	r	1,5
lindrick II	9,12	e,n,x	1,(5),7
linguere	9,46	b	z6
lingwala	16	z	1,7
linton	13,23	r	e,n,z15
lisboa	16	z10	1,6
lishabi	9,46	z10	1,7
litchfield	6,8	l,v	1,2
liverpool	1,3,19	d	e,n,z15
livingstone	6,7	d	l,w
livulu	30	e,h	1,2
ljubljana	4,12,27	k	e,n,x
llandoff	1,3,19	z29	(z6)
llandudno II	28	g,(m),(s),t	1,5
llobregat	1,44	z10	e,n,x
loanda	6,8	l,v	1,5
lobatsi II	52	z44	1,5,7
locarno II	57	z29	z42
lockleaze	6,7,14	b	e,n,x
lode	17	r	1,2

lodz	41	z29	-
loenga	1,42	z10	z6
logone	39	d	1,5
lohbruegge IV	44	z4,z32	-
lokomo	17	y	l,w
lokstedt	1,3,19	l,z13,z28	1,2
lomalinda	1,9,12	a	e,n,x
lome	9,12	r	z6
lomita	6,7	e,h	1,5
lomnava	16	l,w	e,n,z15
london	3,10	l,v	1,6
los-angeles	16	l,v	z6
loubono	4,12	z	1,6
louga	30	b	1,2
louisiana	9,46	z10	z6
louwbester II	16	z	e,n,x
lovelace	13,22	l,v	1,5
lowestoft	17	g,s,t	-
luanshya II	1,13,23	g,m,s,t	(e,n,x)
lubumbashi	41	r	1,5
luciana	11	a	e,n,z15
luckenwalde	28	z10	e,n,z15
luedinghausen	17	c	1,5
luke	1,47	g,m	-
lundby II	9,46	b	e,n,x
lurup II	41	z10	e,n,x,z15
lutetia	51	r,i	l,z13,z28
luton II	60	z	e,n,x
lyon	47	k	e,n,z15
maarssen II	9,46	z4,z24	z39 : z42
maastricht	11	z41	1,2
macallen	3,10	z36	-
macclesfield	9,46	g,m,s,t	1,(2),7
machaga	1,3,19	i	e,n,x
madelia	1,6,14,25	y	1,7
madiago	1,3,19	c	1,7
madigan	44	c	1,5
madison	21	d	z6
madjorio	3,10	d	e,n,z15
madras	4,(5),12	m,t	e,n,z15
magherafelt	8,20	i	l,w
magumeri	1,6,14,25	e,h	1,6
magwa	21	d	e,n,x
mahina	9,46	z10	e,n,z15
maiduguri	1,3,19	f,g,t	e,n,z15
makiling	43	z29	-
makiso	6,7	l,z13,z28	z6
makoma II	1,4,(5),12,27	a	(e,n,x)
makumira II	1,4,12,27	e,n,x	1,(5),7
malakal	16	e,h	1,2
malawi V	66	z65	-
malaysia	28	z10	1,7
malika	44	l,z28	1,5
malmoe	6,8	i	1,7
malstatt	16	b	z6
mampeza	1,6,14,25	i	1,5
mampong	13,22	z35	1,6
mana	9,12	b	e,n,z15
manchester	6,8	l,v	1,7
mandera	16	l,z13	e,n,z15
mango	38	k	1,5
manhattan	6,8	d	1,5
manila	3,15	z10	1,5
mannheim	11	k	l,w
manombo II	57	z39	e,n,x,z15
mapo	6,8	z10	1,5
mara	39	e,h	(1,5)
maracaibo	11	l,v	1,5
marburg	13,23	k	-
maregrosso V	66	z35	-
maricopa	1,42	g,z51	1,5
marienthal	3,10	k	e,n,z15
maritzburg	1,44	i	e,n,z15
maron	3,10	d	z35
maroua	11	z	1,7
marschall	13,22	a	l,z13,z28
marseille	11	a	1,5
maryland	57	b	1,7
marylebone	9,46	k	1,2
masembe	3,10	a	e,n,x
maska	1,4,12,27	z41	e,n,z15
massakory	35	r	l,w
massenya	1,4,12,27	k	1,5
matadi	17	k	e,n,x
mathura	9,46	i	e,n,z15
matopeni	30	y	1,2
matroosfontein II	3,10	a	e,n,x
mattenhof	17	b	e,n,x
mayday	9,46	y	z6
mbandaka	6,7,14	z10	e,n,z15
mbao	43	i	1,2
meekatharra	45	a	e,n,z15
melaka	16	b	1,2,5
melbourne	42	z	e,n,z15
meleagridis	3,10	e,h	l,w
memphis	18	k	1,5
menden	6,7	z10	1,2
mendoza	9,12	l,v	1,2
menhaden	3,15,34	l,v	1,7
menston	6,7	g,s,(t)	(1,6)
merseyside II	16	g,t	(1,5)
mesbit	47	m,t	(e,n,z15)
meskin	51	e,h	1,2
messina	30	d	1,5
mgulani	38	i	1,2
miami	1,9,12	a	1,5
michigan	17	l,v	1,5
middlesbrough	1,42	i	z6
midhurst II	53	l,z28	z39
midway	6, 14,24	d	1,7
mikawasima	6,7,14	y	e,n,z15
millesi	1,40	l,v	1,2
milwaukee	43	f,g,(t)	-
mim	13,22	a	1,6
minna	1,6,14,25	c	l,w
minneapolis	3,15,34	e,h	1,6
minnesota	21	b	e,n,x
mishmar-haemek	1,13,23	d	1,5

mission	6,7	d	1,5
mississippi	1,13,23	b	(1,5)
missouri	11	g,s,t	-
miyazaki	9,12	l,z13	1,7
mjimwema	1,9,12	b	e,n,x
mjordan	30	i	e,n,z15
mkamba	6,7	l,v	1,6
mobeni II	16	g,(m),(s),t	(e,n,x)
mocamedes	28	d	e,n,x
moero	28	b	1,5
moers	11	m,t	-
mokola	3,10	y	1,7
molade	8,20	z10	z6
molesey	52	b	1,5
mondeor II	39	l,z28	e,n,x
mono	4,12	l,w	1,5
mons	1,4,12,27	d	l,w
monschaui	35	m,t	-
montaigu	9,46	b	1,2
montevideo	6,7,14	g,m,(p),s	(1,2,7)
montgomery	11	d : a	e,n,z15
montgomery II	11	a,(d)	(d),e,n,z15
montreal	43	c	1,5
morehead	30	i	1,5
morillons	28	m,t	1,6
morningside	30	c	e,n,z15
mornington	1,6,14,25	y	e,n,z15
morbihan	16	m,t	e,n,z15
morocco	30	l,z13,z28	e,n,z15
morotai	17	l,v	1,2
moroto	28	z10	l,w
moscow	9,12	g,q	-
mosselbay II	43	g,m,(s),t	(z42)
moualine	47	y	1,6
moundou	51	l,z28	1,5
mountmagnet	21	r	-
mount-pleasant	47	z	1,5
moussoro	1,6,14,25	i	e,n,z15
mowanjum	6,8	z	1,5
mpila II	3,10	z38	z42
mpouto	16	m,t	-
muenchen	6,8	d	1,2 : (z67)
muenster	3,10	e,h	1,5
muguga	44	m,t	-
muizenberg II	9,12	g,m,s,t	1,5
mulhouse	1,9,12	z	1,2
mundonobo	28	d	1,7
mundsburg IV	11	g,z51	-
mundubbera	54	z29	-
mura	1,4,12	z10	l,w
nachshonim II	1,13,23	z	1,5
naestved	1,9,12	g,p,s	-
nagoya	6,8	b	1,5
nairobi II	42	r	-
nakuru	1,4,12,27	a	z6
namib II	50	g,(m),s,t	(1,5)
namibia	6,7	c	e,n,x
namoda	47	z10	e,n,z15
nancy	3,15	l,v	1,2
nanergou	6,8	g,s,t	-
nanga	1,13,23	l,v	e,n,z15
nantes	9,46	y	l,w
napoli	1,9,12	l,z13	e,n,x
narashino	6,8	a	e,n,x
nashua	28	l,v	e,n,z15
natal	9,12	z4,z24	-
naware	16	z38	-
nchanga	3,10	l,v	1,2
ndjamena	1,6,14,25	b	1,2
ndolo	1,9,12	d	1,5
neasden II	9,12	g,s,t	e,n,x
neftenbach	4,12	z	e,n,x
negev II	41	z10	1,2
nessa	1,6,14,25	z10	1,2
nessziona	6,7	l,z13	1,5
neudorf	30	b	e,n,z15
neukoelin	6,7	l,z13,(z28)	e,n,z15
neumuenster	1,4,12,27	k	1,6
neunkirchen	38	z10	1,5
new york	13,22	g,s,t	-
new-brunswick	3,15	l,v	1,7
new-haw	3,15	e,h	1,5
new-holland	4, 12, 54	m,t	-
newholland	4,12,54	m,t	-
newington	3,15	e,h	1,6
new jersey	39	k	e,n,x
newlands	3,10,(15),(34)	e,h	e,n,x
new-mexico	9,12	g,z51	1,5
newport	6,8,20	e,h	1,2 : (z67)
new-rochelle	3,10	k	l,w
ngaparou	9,46	z4,z24	-
ngili	6,7	z10	1,7
ngor	1,3,19	l,v	1,5
ngozi II	48	z10	(1,5)
niakhar	44	a	1,5
niamey	17	d	l,w
niarembe	44	a	l,w
niederoderwitz	43	b	-
nienstedten	6,7,14	b	(l,w)
nieukerk	6,7,14	d	z6
nigeria	6,7	r	1,6
nijmegen	30	y	e,n,z15
nikolaifleet	16	g,m,s	-
niloese	1,3,19	d	z6
nima	28	y	1,5
nimes	13,22	z35	e,n,z15
nissii	6,7,14	b	-
nitra	2,12	g,m	1,2
niumi	1,3,19	a	1,5
njala	38	k	e,n,x
nola	6,7	e,h	1,7
noordhoek II	16	l,w	z6
nordenham II	1,4,12,27	z	e,n,x
nordrhein	9,46	l,z13,z28	e,n,z15
nordufer	6,8	a	1,7
norton	6,7	i	l,w
norwich	6,7	e,h	1,6
nottingham	16	d	e,n,z15

nowawes	40	z	z6
noya	8	r	1,7
nuatja	16	k	e,n,x
nuernberg II	42	z	z6
nyanza	11	z	z6, (z83)
nyborg	3,10	e,h	1,7
nyeko	16	a	1,7
oakey	6,7	m,t	z64
oakland	6,7	z	1,6,(7)
obogu	6,7	z4,z23	1,5
ochiogu	1,3,19	z38	(e,n,z15)
ochsenwerder	6, 7, 54	k	1,5
ockenheim	30	l,z13,z28	1,6
odienne	40	y	1,5
odijk	30	a	z39
odozi	30	k	e,n,(x),z15
oerlikon	39	l,v	e,n,z15
oesterbro	1,3,19	k	1,5
oevelgoenne II	28	r	e,n,z15
offa	41	z38	-
ogbete	43	z	1,5
ohio	6,7	b	l,w
ohlstedt	3,10	y	e,n,x
okatie	13,23	g,(s),t	-
okefoko	3,10	c	z6
okerara	3,10	z10	1,2
oldenburg	16	d	1,2
olten	9,46	d	e,n,z15
omderman	6,7,14	d	e,n,x
omifisan	40	z29	-
omuna	6,7	z10	z35
ona	28	g,s,t	-
onarimon	1,9,12	b	1,2
onderstepoort	1,6,14,(25)	e,h	1,5
onireke	3,10	d	1,7
ontario	9,46	d	1,5
oran	38	a	e,n,z15
oranienburg	6,7	m,t	-
orbe	42	b	1,6
ord	52	a	e,n,z15
ordonez	1,13,23	y	l,w
orientalis	16	k	e,n,z15
orion	3,10	y	1,5
oritamerin	6,7	i	1,5
orlando	18	l,v	e,n,z15
orleans	43	d	1,5
os	9,12	a	1,6
oskarshamn	28	y	1,2
oslo	6,7,14	a	e,n,x
osnabrueck	11	l,z13,z28	e,n,x
othmarschen	6,7,14	g,m,(t)	-
ottawa	1,9,12	z41	1,5
ottershaw II	40	d	-
ouagadougou	1,3,19	i	1,5
oudwijk	13,22	b	1,6
oukam	9,46	z29	-
overchurch	1,40	l,w	(1,2)
overschie	51	l,v	1,5
overvecht	30	a	1,2
oxford	3,10	a	1,7
oyonnax	6,7	y	1,6
oysterbeds II	6,7	z	z42
pakistan	8	l,v	1,2
palamaner	1,44	d	z35
palime	6,7	z35	e,n,z15
panama	1,9,12	l,v	1,5
pankow	3,15	d	1,5
papuana	6,7	r	e,n,z15
paratyphi A	1,2,12	a	(1,5)
paratyphi B	1,4,(5),12	(b)	(1,2)
paratyphi C	6,7 (Vi)	c	1,5
paris	8,20	z10	1,5
parkroyal	1,3,19	l,v	1,7
parow II	3,10,(15)	g,m,s,t	-
parow II	3,15	g,m,s,t	-
pasing	4,12	z35	1,5
patience	28	d	e,n,z15
penarth	9,12	z35	z6
penilla	28	l,z13,z28	e,n,z15
pensacola	1,9,12	m,t	(1,2)
perinet II	45	g,m,t	e,n,x,z15
perth	38	y	e,n,x
petahtikva	1,3,19	f,g,t	1,7
phaliron	8	z	e,n,z15
pharr	11	b	e,n,z15
phoenix II	47	b	1,5
pietersburg	3,10,(15),(34)	z69	1,7
pietersburg	3,(15),(34)	z29	1,7
pikine	8,20	r,(i)	z6
pisa	16	i	l,w
planckendael	6,7	z4,z23	1,6
ploufragan	1,44	z4,z23	e,n,z15
plumaugat	6,7	g,s,q	-
plymouth	9,46	d	z6
poano	1,6,14,25	z	l,z13,z28
poeseldorf	8, 20, 54	i	z6
poitiers	6,7	z	1,5
pomona	28	y	1,7
pontypridd	18	g,m	-
poona	13,22	z	1,6 : (z44)
portanigra	8,20	d	1,7
portbech II	42	l,v	e,n,x,z15
portland	9,12	z10	1,5
portsmouth	3,15	l,v	1,6
potengi	18	z	-
potosi	6,14	z36	1,5
potsdam	6,7,14	l,v	e,n,z15
potto	9,46	i	z6
powell	9,12	y	1,7
praha	6,8	y	e,n,z15
pramiso	3,10	c	1,7
presov	6,8	b	e,n,z15
preston	1,4,12	z	l,w
pretoria	11	k	1,2
pullorum	1,9,12	-	-
putten	13,23	d	l,w
quebec	44	c	e,n,z15
quentin	9,46	d	1,6

quimbamba II	47	d	z39
quincy	30	r	1,6
quinhon	47	z44	-
quiniela	6,8	c	e,n,z15
ramatgan	30	k	1,5
ramsey	28	l,w	1,6
rand II	42	z	e,n,x,z15
ratchaburi	3,10	z35	1,6
raus	13,22	f,g	e,n,x
rawash	6,14,18	c	e,n,x
reading	1,4,(5),12	e,h	(1,5)
rechovot	8,20	e,h	z6
redba	6,7	z10	z6
redhill	11	e,h	l,z13,z28
redlands	16	z10	e,n,z15
regent	3,10	f,g,(s)	(1,6)
reinichendorf	4,12	l,z28	e,n,x
remete	11	z4,z23	1,6
remiremont	8,20	z10	l,w
remo	1,4,12,27	r	1,7
reubeuss	8,20	g,m,t	-
rhodesiense II	1,9,12	d	e,n,x
rhone	21	c	e,n,x
rhydyfelin	16	e,h	e,n,x
richmond	6,7	y	1,2
rideau	1,3,19	f,g	-
ridge	9,12	c	z6
ried	1,13,22	z4,z23	(e,n,z15)
riggil	6,7	g,t	-
riogrande	40	b	1,5
rissen	6,7	f,g	-
rittersbach	38	b	e,n,z15
riverside	45	b	1,5
roan	38	l,v	e,n,x
rochdale	50	b	e,n,x
roggeveld II	51	-	1,7
rogy	28	z10	1,2
romanby	1,13,23	z4,z24	-
roodepoort	1,13,22	z10	1,5
rooikrantz II	1,6,14	m,t	1,5
rosenberg	9,12	g,z85	-
rosenthal	3,15	b	1,5
rossleben	54	e,h	1,6
rostock	1,9,12	g,p,u	-
roterberg	6,7	z4,z23	-
rothenburgsort	38	m,t	-
rotterdam II	13,22	g,t	(1,5)
rottnest	1,13,22	b	1,7
rovaniemi	16	r,i	1,5
rowburton II	16	m,t	(z42)
royan	1,6,14,25	z	e,n,z15
ruanda	9,12	z10	e,n,z15
rubislaw	11	r	(e,n,x)
ruiru	21	y	e,n,x
ruki	4,5,12	y	e,n,x
rumford	6,7	z38	1,2
runby	1,6,14,25	c	e,n,x
rutgers	3,10	l,z40	1,7
ruzizi	3,10	l,v	e,n,z15

saarbruecken	1,9,12	a	1,7
saboya	16	e,h	1,5
sachsenwald IV	1,40	z4,z23	-
sada	30	z10	1,2
sainte-marie	52	g,t	-
saint-paul	1,4,(5),12	e,h	1,2
saka	47	b	-
sakaraha II	48	(k)	z39
salford	16	l,v	e,n,x
salinatis	4,12	d : e,h	e,n,z15
salmonella	4,5,12	d	e,n,x
salmonella	4,5,12	z38	-
salmonella	3,10	z41	1,(2),5
salmonella IIIb	11	k	z53
salmonella IIIb	48	z52	e,n,x,z15
salmonella II	1,4,(5),12,27	a	e,n,x
salmonella II	1,4,12,27	a	z39
salmonella II	4,12	b	1,5
salmonella II	4,12	e,n,x	1,2,7
salmonella II	4,12	f,g	-
salmonella II	4,(5),12	f,g,t	z6,z42
salmonella II	4,12	g,m,t	z39
salmonella II	4,12	g,z62	-
salmonella II	4,12,27	i	z35
salmonella II	1,4,12,27	k	1,6
salmonella II	4,12,27	l,v	1,5
salmonella II	1,4,12,27	l,v	e,n,x
salmonella II	1,4,12,27	l,v	z39
salmonella II	4,12	l,z28	(e,n,x)
salmonella II	1,4,12,27	z	1,5
salmonella II	4,12	z	1,7
salmonella II	4,12	z	z39
salmonella II	6,7	-	1,6
salmonella II	6,7,14	a	1,5
salmonella II	6,7	a	z6
salmonella II	6,7	b	z39
salmonella II	6,7	d	1,7
salmonella II	6,7	d	z42
salmonella II	6,7	e,n,x	1,6 : z42
salmonella II	6,7	(g),m,(s),t	(1,5)
salmonella II	6,7	g,m,(s),t	(e,n,x)
salmonella II	6,7	g,m,s,t	Z39
salmonella II	6,7	g,t	e,n,x : z42
salmonella II	6,7	m,t	-
salmonella II	6,7	m,t	1,5
salmonella II	6,7	k	(z6)
salmonella II	6,7	l,w	1,5,7
salmonella II	6,7	l,w	z42
salmonella II	6,7	l,z28	z6
salmonella II	6,7	l,z28	e,n,x
salmonella II	6,7	z	e,n,x
salmonella II	6,7	z	z6
salmonella II	6,7	z	z39
salmonella II	6,7	z4,z24	z42
salmonella II	6,7	z10	z35
salmonella II	6,7	z29	(1,2,7)
salmonella II	6,7	z29	(z42)
salmonella II	6,7	z42	e,n,x : 1,6
salmonella II	6,8	-	1,5,7

salmonella II	6,8	a	e,n,x
salmonella II	6,8	a	z39
salmonella II	6,8	b	1,5
salmonella II	6,8	d	z6,z42
salmonella II	6,8	f,g,m,t	(e,n,x)
salmonella II	6,8	g,m,t	1,7
salmonella II	6,8	l,v	e,n,x
salmonella II	6,8	l,w	z6,z42
salmonella II	6,8	l,z28	e,n,x
salmonella II	6,8	y	1,6 : z42
salmonella II	6,8	y	1,6 : z42
salmonella II	6,8	z	1,5
salmonella II	6,8	z29	1,5
salmonella II	8	z29	e,n,x,z42
salmonella II	6,8	z29	e,n,x
salmonella II	9,12	a	1,5
salmonella II	1,9,12	a	e,n,x
salmonella II	9,12	a	z39
salmonella II	1,9,12	a	z42
salmonella II	9,12	d	z39
salmonella II	9,12	e,n,x	1,6
salmonella II	9,46	e,n,x	1,5,7
salmonella II	1,9,12	g,(m),(s),t	1,5,7 : (z42)
salmonella II	9,12,(46), 27	g,t	e,n,x
salmonella II	1,9,12	g,z62	(e,n,x)
salmonella II	9,46	g,z62	-
salmonella II	1,9,12	m,t	1,5
salmonella II	1,9,12	m,t	z39
salmonella II	9,46	m,t	e,n,x
salmonella II	9,12	l,v	e,n,x
salmonella II	9,12	l,v	z39
salmonella II	1,9,12,(46),27	l,z13,z28	z39
salmonella II	9,12	l,z28	1,5 : (z42)
salmonella II	9,12	l,z28	e,n,x
salmonella II	1,9,12	y	z39
salmonella II	9,46	z	1,5
salmonella II	9,46	z10	z6
salmonella II	9,46	z10	z39
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	1,5
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	e,n,x
salmonella II	1,9,12,(46),27	z10	z39
salmonella II	1,9,12	z29	e,n,x
salmonella II	9,46	z39	1,7
salmonella II	1,9,12	z42	1,(5),7
salmonella II	1,9,12,46,27	a	z6
salmonella II	9,12,46,27	g,t	e,n,x
salmonella II	1,9,12,46,27	l,z13,z28	z39
salmonella II	1,9,12,46, 27	y	z39
salmonella II	1,9,12,46, 27	z4,z24	(1,5)
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	1,5
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	e,n,x
salmonella II	1,9,12,46,27	z10	Z39
salmonella II	3,10	a	l,v
salmonella II	3,10	a	z39
salmonella II	3,10	b	e,n,x
salmonella II	3,10	b	z39
salmonella II	3,10	d	e,n,x
salmonella II	3,10	g,m,s,t	(1,5)
salmonella II	3,10	m,t	1,5
salmonella II	3,10	l,v	e,n,x
salmonella II	3,10	l,z28	1,5
salmonella II	3,10	l,z28	z39
salmonella II	3,10	z4,z24	-
salmonella II	3,10	z29	(e,n,x)
salmonella II	3,10	z35	e,n,x,z15
salmonella II	11	-	1,5
salmonella II	11	a	1,5
salmonella II	11	c	e,n,z15
salmonella II	11	z	e,n,x
salmonella II	11	-	1,5
salmonella II	13,22	a	e,n,x
salmonella II	1,13,22	b	z42
salmonella II	13,22	f,g,t	-
salmonella II	13,22	g,t	z6
salmonella II	13,22	m,t	z42 : z39
salmonella II	13,22	k	1,5 : z42
salmonella II	13,22	l,z28	1,5
salmonella II	13,22	z	-
salmonella II	1,13,22	z10	z6
salmonella II	13,22	z39	1,7
salmonella II	13,23	-	1,6
salmonella II	1,13,23	a	1,5
salmonella II	13,23	d	e,n,x
salmonella II	1,13,23	d	e,n,z15
salmonella II	1,13,23	g,m,s,t	1,5
salmonella II	1,13,23	g,m,s,t	z42
salmonella II	1,13,23	g,(s),t	z42
salmonella II	13,23	g,t	e,n,x
salmonella II	13,23	k	z41
salmonella II	13,23	l,w	e,n,x
salmonella II	13,23	l,z28	1,5
salmonella II	13,23	l,z28	z6
salmonella II	1,13,23	z	z42
salmonella II	1,13,23	z29	e,n,x
salmonella II	1,13,23	z29	1,5
salmonella II	1,13,23	z39	1,5,7
salmonella II	6,14,(24)	k	1,6
salmonella II	6,14	k	(e,n,x)
salmonella II	1,6,14	k	z6,z42
salmonella II	6,14	z36	-
salmonella II	1,6,14	z42	1,6
salmonella II	16	b	e,n,x
salmonella II	16	b	z39
salmonella II	16	b	z42
salmonella II	16	d	1,5
salmonella II	16	d	e,n,x
salmonella II	16	(e,n,x)	1,6 : z42
salmonella II	16	g,(m),(s),t	z42
salmonella II	16	m,t	e,n,x
salmonella II	16	z	z42
salmonella II	16	z4,z24	-
salmonella II	16	z6	1,6
salmonella II	16	z29	1,5
salmonella II	16	z35	e,n,x
salmonella II	16	z36	e,n,z15
salmonella II	17	b	z6
salmonella II	17	e,n,x,z15	1,(5),7
salmonella II	17	g,t	z39

salmonella II	17	g,m,s,t	-
salmonella II	17	m,t	-
salmonella II	17	k	-
salmonella II	17	y	-
salmonella II	17	z	1,7
salmonella II	17	z10	-
salmonella II	18	m,t	1,5
salmonella II	18	y	e,n,x,z15
salmonella II	18	z4,z23	-
salmonella II	18	z4,z24	-
salmonella II	21	b	1,5
salmonella II	21	c	e,n,x
salmonella II	21	m,t	-
salmonella II	21	g,(m),(s),t	-
salmonella II	21	z	-
salmonella II	28	a	e,n,x
salmonella II	28	b	e,n,x
salmonella II	28	e,n,x	1,7
salmonella II	28	e,n,z15	z87
salmonella II	28	g,m,t	e,n,x
salmonella II	28	g,m,t	z39
salmonella II	28	g,s,t	e,n,x
salmonella II	28	m,t	(e,n,x)
salmonella II	28	l,z28	1,5
salmonella II	28	z	1,5
salmonella II	28	z29	1,5
salmonella II	28	z29	e,n,x
salmonella II	30	b	z6
salmonella II	30	c	z39
salmonella II	30	g,m,s	e,n,x
salmonella II	30	m,t	-
salmonella II	30	k	e,n, x,z15
salmonella II	30	l,z28	z6
salmonella II	30	z6	1,6
salmonella II	30	z10	e,n,x,z15
salmonella II	30	z39	1,7
salmonella II	35	d	1,5
salmonella II	35	(f),g,t	1,5
salmonella II	35	g,m,s,t	-
salmonella II	35	g,t	1,5
salmonella II	35	g,t	z42
salmonella II	35	m,t	-
salmonella II	35	l,z28	-
salmonella II	38	b	1,2
salmonella II	38	d	z39
salmonella II	39	-	1,7
salmonella II	39	a	z39
salmonella II	39	c	e,n,x
salmonella II	39	e,n,x	1,7
salmonella II	39	(g),m,t	(e,n,x)
salmonella II	39	l,v	1,5
salmonella II	39	l,z28	z39
salmonella II	1,40	a	1,5
salmonella II	1,40	a	z6
salmonella II	40	b	-
salmonella II	1,40	c	z39
salmonella II	1,40	e,n,x	1,(5),7
salmonella II	1,40	e,n,x,z15	1,6
salmonella II	1,40	(f),g,(t)	e,n,x,z15
salmonella II	1,40	g,(m),(s),t	z42
salmonella II	1,40	g,t	(e,n,x)
salmonella II	1,40	g,t	1,5
salmonella II	40	g,t	z39
salmonella II	1,40	g,t	e,n,x,z15
salmonella II	40	m,t	z39
salmonella II	1,40	m,t	z42
salmonella II	40	k	z6
salmonella II	40	l,v	e,n,x
salmonella II	1,40	l,z28	1,5 : z42
salmonella II	1,40	l,z28	z39
salmonella II	1,40	z	z6
salmonella II	40	z	z39
salmonella II	40	z	z42
salmonella II	40	z4,z24	(z39)
salmonella II	1,40	z6	1,5
salmonella II	40	z39	1,7
salmonella II	1,40	z42	1,(5),7
salmonella II	1,40	z42	1,6
salmonella II	40	-	1,(5),7
salmonella II	1,40	z42	1,6
salmonella II	1,40	(z42)	1,(5),7
salmonella II	1,40	z6	1,5
salmonella II	41	b	(1,5)
salmonella II	41	c	(z6)
salmonella II	41	g,m,s,t	z6
salmonella II	41	k	1,6
salmonella II	41	k	(z6)
salmonella II	41	l,z13,z28	e,n,x,z15
salmonella II	41	-	1,6
salmonella II	42	b	z6
salmonella II	42	d	z6
salmonella II	42	m,t	(e,n,x,z15)
salmonella II	1,42	l,w	e,n,x
salmonella II	42	l,(z13),z28	(z6)
salmonella II	1,42	l,z28	-
salmonella II	42	z6	1,6
salmonella II	42	z10	1,2
salmonella II	42	z10	e,n,x,z15
salmonella II	42	z10	z6
salmonella II	42	z29	-
salmonella II	42	(e,n,x)	1,6
salmonella II	43	a	1,5
salmonella II	43	a	z6
salmonella II	43	d	e,n,x,z15
salmonella II	43	d	z39
salmonella II	43	d	z42
salmonella II	43	e,n,x,z15	1,(5),7
salmonella II	43	e,n,x,z15	1,6
salmonella II	43	f,g,t	1,5
salmonella II	43	g,z62	e,n,x
salmonella II	43	l,z13,z28	1,5
salmonella II	43	z	1,5
salmonella II	43	z4,z23	-
salmonella II	43	z29	e,n,x
salmonella II	43	z29	z42
salmonella II	1,44	e,n,x	1,6
salmonella II	44	g,t	z42
salmonella II	1,44	m,t	z42

salmonella II	44	z4,z23	-
salmonella II	44	z29	e,n,x : z42
salmonella II	45	m,t	1,5
salmonella II	45	z	1,5
salmonella II	45	z29	1,5
salmonella II	45	z29	e,n,x
salmonella II	45	z29	z42
salmonella II	47	a	e,n,x,z15
salmonella II	47	b	z6
salmonella II	47	d	1,5
salmonella II	47	d	e,n,x,z15
salmonella II	47	e,n,x,z15	1,6
salmonella II	47	g,t	e,n,x
salmonella II	47	z	e,n,x,z15
salmonella II	47	z6	1,6
salmonella II	47	z29	e,n,x,z15
salmonella II	48	a	z6
salmonella II	48	a	z39
salmonella II	48	b	e,n,x,z15
salmonella II	48	b	z6
salmonella II	48	d	1,2
salmonella II	48	k	e,n,x,z15
salmonella II	48	z	1,5
salmonella II	48	z29	-
salmonella II	50	b	z6
salmonella II	50	g,z52	e,n,x
salmonella II	50	k	e,n,x : z42
salmonella II	50	k	e,n,x : z42
salmonella II	50	l,w	e,n,x,z15 : z42
salmonella II	50	l,z28	z42
salmonella II	51	c	-
salmonella II	51	g,s,t	e,n,x
salmonella II	51	l,z28	z39
salmonella II	51	z29	e,n,x,z15
salmonella II	52	c	k
salmonella II	52	d	e,n,x,z15
salmonella II	52	d	z39
salmonella II	52	g,t	-
salmonella II	52	z	z39
salmonella II	52	z39	1,5,7
salmonella II	53	c	1,5
salmonella II	53	d	1,5
salmonella II	53	d	z39
salmonella II	53	d	z42
salmonella II	53	l,z28	e,n,x
salmonella II	53	l,z28	z6
salmonella II	53	z	1,5
salmonella II	53	z	z6
salmonella II	56	d	-
salmonella II	56	e,n,x	1,7
salmonella II	56	l,v	z39
salmonella II	56	l,z28	-
salmonella II	56	z	z6
salmonella II	56	z10	e,n,x
salmonella II	57	a	z42
salmonella II	57	d	1,5
salmonella II	57	g,(m),s,t	z42
salmonella II	57	g,t	-

salmonella II	58	a	z6
salmonella II	58	b	1,5
salmonella II	58	c	z6
salmonella II	58	d	z6
salmonella II	58	l,z13,z28	z6
salmonella II	58	z6	1,6
salmonella II	58	z10	z6
salmonella II	58	z10	1,6
salmonella II	58	z39	e,n,x,z15
salmonella II	1,59	z	z6
salmonella II	60	b	(1,16)
salmonella II	60	z29	e,n,x
salmonella II	64	k	e,n,x,z15
salmonella II	64	z29	-
salmonella II	65 -	-	1,6
salmonella II	65	g,t	-
salmonella II	6,7	g,(m),s,t	(z42)
salmonella IIIa	6,7	k	z : (z55)
salmonella IIIa	13,22	z4,z23	-
salmonella IIIa	1,13,23	g,51	-
salmonella IIIa	13,23	z4,z23, (z32)	-
salmonella IIIa	1,13,23	z4,z24	-
salmonella IIIa	17	z29	-
salmonella IIIa	17	z4,z23	
salmonella IIIa	17	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	17	z4,z24	-
salmonella IIIa	17	z4,z32	-
salmonella IIIa	18	g,z51	-
salmonella IIIa	18	(k)	z54
salmonella IIIa	18	l,v	e,n,x,z15
salmonella IIIa	18	z4,z23	-
salmonella IIIa	18	Z4,Z32	-
salmonella IIIa	21	z4,z24	-
salmonella IIIa	21	z4,z23	-
salmonella IIIa	35	g,z51	-
salmonella IIIa	35	z4,z23	-
salmonella IIIa	35	z4,z32	-
salmonella IIIa	35	z29	-
salmonella IIIa	35	z36	-
salmonella IIIa	38	g,z51	-
salmonella IIIa	38	z4,z23	-
salmonella IIIa	38	z61	-
salmonella IIIa	40	z29	-
salmonella IIIa	40	z35	-
salmonella IIIa	40	z4,z23	-
salmonella IIIa	40	z4,z24	-
salmonella IIIa	40	z4,z32	-
salmonella IIIa	41	g,z51	-
salmonella IIIa	41	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	41	z4,z24	-
salmonella IIIa	41	z4,z32	-
salmonella IIIa	41	z29	-
salmonella IIIa	41	z36	-
salmonella IIIa	42	g,z51	-
salmonella IIIa	42	z4,z23	-
salmonella IIIa	42	z4,z24	-
salmonella IIIa	43	g,z51	-
salmonella IIIa	43	z4,z23	-

salmonella IIIa	43	z4,z24	-
salmonella IIIa	43	z36	-
salmonella IIIa	44	z4,z23	-
salmonella IIIa	44	z4,z24	-
salmonella IIIa	44	z4,z32	-
salmonella IIIa	45	g,z51	-
salmonella IIIa	45	z4,z23	-
salmonella IIIa	45	z4,z24	-
salmonella IIIa	45	z4,z32	-
salmonella IIIa	45	z29	-
salmonella IIIa	47	g,z51	-
salmonella IIIa	47	l,v	e,n,x,z15
salmonella IIIa	47	r	-
salmonella IIIa	47	z4,z23	-
salmonella IIIa	47	z29	-
salmonella IIIa	48	g,z51	-
salmonella IIIa	48	z4,z23	-
salmonella IIIa	48	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	48	z4,z24	-
salmonella IIIa	48	z4,z32	-
salmonella IIIa	48	z29	-
salmonella IIIa	48	z36	-
salmonella IIIa	50	z29	-
salmonella IIIa	50	z36	-
salmonella IIIa	50	Z4,Z23	-
salmonella IIIa	50	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	50	z4,z24	-
salmonella IIIa	50	z4,z32	-
salmonella IIIa	51	g,z51	-
salmonella IIIa	51	z4,z23	-
salmonella IIIa	51	z4,z24	-
salmonella IIIa	51	z4,z32	-
salmonella IIIa	53	g,z51	-
salmonella IIIa	53	z4,z23	-
salmonella IIIa	53	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	53	z4,z24	-
salmonella IIIa	53	z4,z32	-
salmonella IIIa	53	z29	-
salmonella IIIa	56	z29	-
salmonella IIIa	56	z4,z23	-
salmonella IIIa	56	z4,z23,z32	-
salmonella IIIa	62	g,z51	-
salmonella IIIa	62	z29	-
salmonella IIIa	62	z36	-
salmonella IIIa	62	z4,z23	-
salmonella IIIa	62	z4,z32	-
salmonella IIIa	63	g,z51	-
salmonella IIIa	63	z36	-
salmonella IIIa	63	z4,z23	-
salmonella IIIa	63	z4,z32	-
salmonella IIIb	11	l,v	z53
salmonella IIIb	11	l,v	z
salmonella IIIb	13,22	l,v	1,5,7
salmonella IIIb	13,23	z	1,5
salmonella IIIb	(6),14	b	e,n,x,z15
salmonella IIIb	(6),14	k	z
salmonella IIIb	(6),14	k	z53
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z35
salmonella IIIb	(6),14	l,v	z53
salmonella IIIb	(6),14	r	z
salmonella IIIb	(6),14	z10	e,n,x,z15
salmonella IIIb	(6), 14	z10	z53
salmonella IIIb	(6),14	z10	z : (z53)
salmonella IIIb	(6),14	z52	-
salmonella IIIb	(6),14	z52	z35
salmonella IIIb	16	i	z35
salmonella IIIb	16	k	z
salmonella IIIb	16	k	z35
salmonella IIIb	16	k	z53
salmonella IIIb	16	l,v	1,5,7
salmonella IIIb	16	l,v	z35
salmonella IIIb	16	l,v	z53
salmonella IIIb	16	l,v	z : (z61)
salmonella IIIb	16	z10	1,5,7
salmonella IIIb	16	z52	z35
salmonella IIIb	17	i	z35
salmonella IIIb	17	k	z
salmonella IIIb	17	l,v	e,n,x,z15
salmonella IIIb	17	l,v	z35
salmonella IIIb	17	r	z
salmonella IIIb	17	z10	e,n,x,z15
salmonella IIIb	17	z10	z
salmonella IIIb	18	(k)	z53
salmonella IIIb	18	l,v	z
salmonella IIIb	18	l,v	z53
salmonella IIIb	18	r	z
salmonella IIIb	18	z10	e,n,x,z15
salmonella IIIb	21	c	e,n,x,z15
salmonella IIIb	21	g,z51	-
salmonella IIIb	21	i	1,5,7
salmonella IIIb	21	i	e,n,x,z15
salmonella IIIb	21	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	21	k	z
salmonella IIIb	21	l,v	z
salmonella IIIb	21	l,v	z57
salmonella IIIb	21	r	z
salmonella IIIb	21	z10	e,n,x,z15
salmonella IIIb	21	z10	z
salmonella IIIb	21	z10	z53
salmonella IIIb	21	z65	e,n,x,z15
salmonella IIIb	28	k	1,7
salmonella IIIb	28	z10	z
salmonella IIIb	28	z10	z : (z57)
salmonella IIIb	35	i	e,n,x,z15
salmonella IIIb	35	i	z
salmonella IIIb	35	i	z35
salmonella IIIb	35	i	z53
salmonella IIIb	35	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	35	k	z
salmonella IIIb	35	k	z53
salmonella IIIb	35	(k)	z
salmonella IIIb	35	(k)	z35
salmonella IIIb	35	l,v	1,5,7
salmonella IIIb	35	l,v	e,n,x,z15
salmonella IIIb	35	l,v	z35,(z67)
salmonella IIIb	35	r	e,n,x,z15
salmonella IIIb	35	r	z

salmonella IIIb	35	r	z35
salmonella IIIb	35	r	z61
salmonella IIIb	35	z10	z35
salmonella IIIb	35	z52	1,5,7
salmonella IIIb	35	z52	e,n,x,z15
salmonella IIIb	35	z52	z
salmonella IIIb	35	z52	z35
salmonella IIIb	38	i	z
salmonella IIIb	38	i	z53
salmonella IIIb	38	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	38	k	z
salmonella IIIb	38	k	z53
salmonella IIIb	38	(k)	1,5,7
salmonella IIIb	38	(k)	z
salmonella IIIb	38	(k)	z35
salmonella IIIb	38	(k)	z54
salmonella IIIb	38	(k)	z55
salmonella IIIb	38	l,v	z
salmonella IIIb	38	l,v	z35
salmonella IIIb	38	l,v	z53 : (z54)
salmonella IIIb	38	r	1,5,7
salmonella IIIb	38	r	e,n,x,z15
salmonella IIIb	38	r	z : (z57)
salmonella IIIb	38	r	z35
salmonella IIIb	38	z10	z
salmonella IIIb	38	z10	z53
salmonella IIIb	38	z47	z53
salmonella IIIb	38	z52	z35
salmonella IIIb	38	z52	z53
salmonella IIIb	38	z53	-
salmonella IIIb	38	z61	z53
salmonella IIIb	40	g,z51	(e,n,x,z15)
salmonella IIIb	40	k	z53
salmonella IIIb	40	k	z : z57
salmonella IIIb	40	l,v	z
salmonella IIIb	40	l,v	z53
salmonella IIIb	40	r	z53
salmonella IIIb	40	z10	z35
salmonella IIIb	40	z39	1,5 : z42
salmonella IIIb	41	c	e,n,x,z15
salmonella IIIb	41	(k)	(z35)
salmonella IIIb	42	k	-
salmonella IIIb	42	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	42	k	z
salmonella IIIb	42	k	z35
salmonella IIIb	42	(k)	z35
salmonella IIIb	42	l,v	1,5,7
salmonella IIIb	42	l,v	e,n,x,z15
salmonella IIIb	42	l,v	z
salmonella IIIb	42	l,v	z53
salmonella IIIb	42	r	-
salmonella IIIb	42	r	z
salmonella IIIb	42	r	z53
salmonella IIIb	42	z10	-
salmonella IIIb	42	z10	e,n,x,z15
salmonella IIIb	42	z10	z
salmonella IIIb	42	z10	z35
salmonella IIIb	42	z10	z67
salmonella IIIb	42	z52	z
salmonella IIIb	43	k	z
salmonella IIIb	43	l,v	z53 : (z56 fase R)
salmonella IIIb	43	r	e,n,x,z15
salmonella IIIb	43	r	z
salmonella IIIb	43	r	z53
salmonella IIIb	43	z52	z53
salmonella IIIb	1,44	g,t	1,5 : z42
salmonella IIIb	47	c	1,5,7
salmonella IIIb	47	c	e,n,x,z15 : (z57)
salmonella IIIb	47	c	z
salmonella IIIb	47	c	z35
salmonella IIIb	47	i	e,n,z15
salmonella IIIb	47	i	z
salmonella IIIb	47	i	z35
salmonella IIIb	47	i	z53 : (z57)
salmonella IIIb	47	k	1,5,7
salmonella IIIb	47	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	47	k	z
salmonella IIIb	47	k	z35
salmonella IIIb	47	k	z53
salmonella IIIb	47	l,v	1,5,(7)
salmonella IIIb	47	l,v	z
salmonella IIIb	47	l,v	z35
salmonella IIIb	47	l,v	z53
salmonella IIIb	47	l,v	z57
salmonella IIIb	47	r	e,n,x,z15
salmonella IIIb	47	r	1,5,7
salmonella IIIb	47	r	z
salmonella IIIb	47	r	z35
salmonella IIIb	47	r	z53
salmonella IIIb	47	r	z53 : z60
salmonella IIIb	47	r	z53
salmonella IIIb	47	z10	1,5,7
salmonella IIIb	47	z10	z
salmonella IIIb	47	z10	z35
salmonella IIIb	47	z52	1,5,7
salmonella IIIb	47	z52	e,n,x,z15
salmonella IIIb	47	z52	z
salmonella IIIb	47	z52	z35
salmonella IIIb	48	a	z35
salmonella IIIb	48	c	z
salmonella IIIb	48	i	z
salmonella IIIb	48	i	z35 : (z57)
salmonella IIIb	48	i	z53
salmonella IIIb	48	i	z61
salmonella IIIb	48	i	z : (z72)
salmonella IIIb	48	k	e,n,x,z15
salmonella IIIb	48	k	1,5,(7)
salmonella IIIb	48	k	z
salmonella IIIb	48	k	z35
salmonella IIIb	48	k	z53
salmonella IIIb	48	(k)	z53
salmonella IIIb	48	l,v	1,5,(7) : z89
salmonella IIIb	48	l,v	z
salmonella IIIb	48	r	e,n,x,z15
salmonella IIIb	48	r	z

NOTA - I sierotipi evidenziati da uno sfondo grigio sono stati assorbiti da altre *Salmonelle.* Consultare lo schema precedente di Kauffmann-White. I sierotipi appartenenti alle sotto-specie IIIa oppure IIIb, corrispondenti, rispettivamente, a *Salmonella arizonae* e *Salmonella diarizonae,* presentano il solo nome su sfondo tratteggiato.

APPENDICE

REAGENTI E PREPARAZIONI VARIE

DOTAZIONE (CONSIGLIATA) DI ATTREZZATURE DEL LABORATORIO

APPARECCHIATURE
Autoclave, stufa a secco, lavavetreria, bilancia tecnica, omogeneizzatore di tipo peristaltico, pHmetro, bagnomaria, centrifuga con testa fissa e testa a braccio libero, microscopio, tavolinetto a luce trasmessa, termostati, frigorifero, congelatore, cappa a flusso laminare.

VETRERIA
Provette da sierologia (mm 8×120 mm), provette da centrifuga (mm 16×100), provette comuni (mm 16x160), provettoni (mm 20×200) con tappi riutilizzabili.
Tubetti in vetro di Craigie (da introdurre nelle provette da sierologia per inversione di fase, *vedi testo per le dimensioni*).
Bottiglie vetro pyrex o Duran 50 con tappo a vite.
Becker, matracci e cilindri graduati pyrex, filtri SEITZ EKS1 per matracci da 300 ml.

STRUMENTARIO CHIRURGICO E DI USO CORRENTE
Pinze anatomiche, forbici anatomiche di differenti misure, pinze di Mohr, ago-cannule per prelievi sanguigni, micropipette a volume variabile da 0 a 20 microlitri e da 20 a 200 microlitri.

MATERIALE MONOUSO STERILE
Pipette graduate (da ml 1 - 2 - 5 - 10 - 25), piastre Petri diametro mm 90, spatole a L per batteriologia, sacchetti presto-chiuso e sacchetti con filtro per omogeneizzatore, filtri a membrana da 0,45 mmicron, puntali per micropipette, piastre "*microtiter*" a 48 pozzetti a fondo piatto per colture cellulari.

REAGENTARIO
Terreni batteriologici, materie prime riportate in elenco, farmaci per anestesia animali, disinfettanti di uso corrente.

PREPARAZIONE E CONSERVAZIONE DEI TERRENI COLTURALI
- *Quantità consigliata per partita* = non superiore a 500 ml.
- *Sterilizzazione* = a 121 °C per 15 minuti (per la maggior parte dei terreni ove si richiede autoclavatura).
- *Distribuzione*
  brodi in provette mm 16×160 = ml 10, in provettoni mm 20×200 = ml 25 ; terreni solidi a becco di clarino in provette mm 16×160 = ml 5 (per il Kligle Iron

Agar = ml 7), in provettoni mm 20×200 = ml 15; in piastre Petri diametro mm 90 = ml 15.

- *Conservazione* (dopo asciugatura dei terreni solidi a temperatura ambiente per 24 - 48 h) = in frigorifero a + 4 °C.

- *Validità dei terreni preparati* = liquidi in provetta, 1 mese ; liquidi in bottiglia ermetica, 3 mesi ; solidi in provetta e in piastra (chiusi in sacchetto di politene), 3 settimane (con alcune rare eccezioni riguardanti terreni da non autoclavare che vanno consumati in giornata).

ELENCO (CONSIGLIATO) DEI TERRENI DA TENERE IN LABORATORIO

Nonostante esista un numero elevato di terreni batteriologici, viene proposto un elenco ristretto di substrati da considerare come dotazione minima per il lavoro sulle salmonelle.

ELENCO (CONSIGLIATO) DEI REAGENTI DA TENERE IN LABORATORIO

Numerosi reattivi compongono di norma il reagentario di un laboratorio biologico. Oltre ai disinfettanti e ad alcuni terreni già pronti per l'uso (da scegliere fra quelli elencati in precedenza), vengono qui ripetuti alcuni dei prodotti chimici citati nel testo, scelti fra quelli ritenuti di più probabile maggior impiego.

DILUENTI*

** Le quantità degli ingredienti sono indicate in grammi e riferite alla preparazione di 1 litro di diluente*

Soluzione fisiologica sterile (sol. fis.)
Sodio cloruro 8.5, acqua distillata 1000
pH finale = 7.0
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Soluzione tampone fosfato *(Phosphate Buffered Saline, PBS)*
Sodio cloruro 10, potassio cloruro 0.250, potassio fosfato monobasico 0.250, sodio fosfato bibasico biidrato 1.755, acqua distillata 1000
pH finale = 7.4
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 20 minuti

TERRENI*

**Le quantità degli ingredienti sono indicate in grammi e riferite alla preparazione di 1 litro di terreno*

Acqua Peptonata Tamponata (*Buffered Peptone Water*)
Peptone 10, sodio cloruro 5, sodio fosfato bibasico 3.5, potassio fosfato monobasico 1.5, acqua distillata 1000
pH finale = 7.2
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Agar glicerinato
Peptone 10, sodio cloruro 5, estratto di carne 5, glicerina 20, destrosio 20, agar-agar 20, acqua distillata 1000
pH finale = 7.4
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Agar nutritivo (*Nutrient Agar*)
Estratto di carne 3, peptone 5, agar-agar 15, acqua distillata 1000
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti
pH finale = 6.8

Agar siero
Agar nutritivo + siero equino sterile al 5%, aggiunto sterilmente dopo autoclavatura e raffreddamento a circa 50 °C del terreno base

Agar solfito di bismuto (BSA)
Peptone 10, estratto di carne 5, glucosio 5, sodio fosfato bibasico 4, solfato ferroso 0.3, bismuto solfito 8, verde brillante 0.025, agar-agar 20, acqua distillata 1000
Sciogliere per ebollizione. Non autoclavare. Usare in giornata
pH finale = 7.6

Agar verde brillante (*Brillant Green Agar, BGA*)
Estratto di carne 5, estratto di lievito 3, peptone proteose 10, sodio fosfato bibabasico 1, sodio fosfato monobasico 0.6, lattosio 10, saccarosio 10, rosso fenolo 0.09, verde brillante 0.0047, citrato di ferro ammoniacale 0.02, agar-agar 15, acqua distillata 1000
pH finale = 7.0
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

BHI brodo e BHI agar (*BHI Broth/Agar*)
Peptone 10, infuso di cervello 12.5, infuso di cuore 5, glucosio 2, sodio cloruro 5, sodio fosfato bibasico 2.5, acqua distillata 1000
se BHI Agar aggiungere agar-agar 15
pH finale = 7.4
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

BHI agar semi-solido per mobilità
come sopra, ma addizionando BHI brodo 1000 + agar-agar 3.5

Brodo lattosato (*Lactose Broth*)
Estratto di carne 3, peptone 5, lattosio 5, acqua distillata 1000
pH finale = 6.9
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Brodo nutritivo (*Nutrient Broth*)
Estratto di carne 3, peptone 5, acqua distillata 1000
pH finale 7.2
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Brodo Rappaport-Vassiliadis
Peptone di soia 5, sodio cloruro 8, potassio fosfato monobasico 1.6, magnesio cloruro 40, verde malachite 0.04, acqua distillata 1000
pH finale = 5.2
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Brodo selenito - cistina
Digerito triptico di caseina 5, lattosio 4, sodio fosfato bibasico 10, selenito acido di sodio 4, l-cistina 0.01, acqua distillata 1000
pH finale = 7.0
Sterilizzare per ebollizione. Non autoclavare

Brodo tetrationato secondo Muller-Kauffmann
Peptone 5, sali biliari 1, calcio carbonato 10, sodio tiosolfato 30, acqua distillata 1000
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti
Aggiungere sterilmente ml 20 di soluzione iodo-iodurata (potassio ioduro 5, iodio resublimato 6, acqua distillata 20) e ml 10 di soluzione di verde brillante (verde brillante 0.01, acqua distillata 10)

Brodo tetrationato secondo Preuss
Digerito triptico di caseina 15, peptone 10, sodio cloruro 5, cristalvioletto 0.005, acqua distillata 1000
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti
Aggiungere sterilmente potassio terationato 20
pH finale = 6.8

Desossicolato Citrato Agar (DCA)
Estratto di carne 5, peptone proteose 5, lattosio 10, sodio tiosolfato 5.4, ferro citrato ico 1, sodio citrato 8.5, sodio desossicolato 5, rosso neutro 0.02, agar-agar 15, acqua distillata 1000
pH finale = 7.3
Sterilizzare per ebollizione. Non autoclavare

Endo Agar
Triptone 10, lattosio 10, potassio fosfato monobasico 3.5, sodio solfito 2.5, fucsina basica 0.4, agar-agar 15, acqua distillata 1000
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Gassner Agar
Peptone 10, digerito triptico di caseina 15.5, sodio cloruro 5, lattosio 50, saccarosio 30, giallo metacromo 1.25, wasserblau 0.875, agar-agar 20, acqua distillata 1000
pH finale = 7.4
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Hektoen Enteric Agar
Peptone 12, estratto di lievito 3, sali biliari 9, lattosio 12, saccarosio 12, salicina 2, sodio cloruro 5, sodio tiosolfato 5, citrato di ferro ammoniacale ico 1.5, fucsina acida 0.1, blu timolo 0.065, agar-agar 14, acqua distillata 1000
Sciogliere per ebollizione. Non autoclavare
pH finale = 7.6

Kligler Iron Agar
Estratto di carne 3, estratto di lievito 3, peptone di caseina 20, sodio cloruro 5, lattosio 10, glucosio 1, ferro solfato oso 0.2, sodio tiosolfato 0.3, rosso fenolo 0.025, agar-agar 15, acqua distillata 1000
pH finale = 7.4
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Mac Conkey Agar
Peptone di carne 17, polipetone 3, lattosio 10, sali biliari 1, sodio cloruro 5, rosso neutro 0.030, cristalvioletto 0.01, agar-agar 13.5, acqua distillata 1000
pH finale = 7.1
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Mueller - Hinton brodo / agar

Brodo infuso di carne + amido solubile 0,15%. Per il terreno solido, aggiunta di agar-agar all'1,5%.
pH finale = 6.8
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

Rambach Agar
Peptone 8, sodio cloruro 5, sodio desossicolato 1, miscela cromogenica 1.5, glicol propilenico 10.5, agar-agar 15, acqua distillata 1000
Sciogliere per ebollizione. Non autoclavare
pH finale = 7.3

Rappaport-Vassiliadis semi-solido (MSRV)
Triptosio 4.59, idrolisato acido di caseina 4.59, sodio cloruro 7.34, potassio fosfato monobasico 1.4, magnesio cloruro 10.93, verde malachite ossalato 0.037, agar-agar 2.7, novobiocina mg 20, acqua distillata 1000
pH finale = 5.2

Salmonella Shigella Agar (SS)
Estratto di carne 5, peptone 5, lattosio 10, sali biliari 8.5, sodio citrato 8.5, sodio tiosolfato 8.5, ferro citrato ico 1, rosso neutro 0.025, verde brillante 0.00033, agar-agar 12, acqua distillata 1000
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti
pH finale = 7.4

Simmons Citrate Agar
Sodio citrato 2, sodio cloruro 5, potassio fosfato bibasico 1, ammonio fosfato biacido 1, magnesio solfato 0.2, blu di bromotimolo 0.08, agar-agar 15, acqua distillata 1000
pH finale = 6.9
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

***Trypticase Soy Agar* (TSA) e *Trypticase Soy Broth* (TSB)**
Triptone 15, peptone di soia 5, sodio cloruro 5, agar-agar 15, acqua distillata 1000
se TSB, senza aggiunta di agar-agar
pH finale = 7.3
Sterilizzare in autoclave a 121 °C per 15 minuti

XLD Agar
Xilosio 3.5, l-lisina 5, lattosio 7.5, saccarosio 7.5, sodio cloruro 5, estratto di lievito 3, sodio desossicolato 2.5, sodio tiosolfato 6.8, ferro ammonio citrato ico 0.8, rosso fenolo 0.08, agar-agar 15, acqua distillata 1000
Sciogliere per ebollizione. Non autoclavare
pH finale = 7.4

XLT_4 Agar
Peptone proteose 1.6, estratto di lievito 3, l-lisina 5, xilosio 3.75, lattosio 7.5, sac-

carosio 7.5, ferro ammonio citrato ico 0.8, sodio tiosolfato 0.8, sodio cloruro 5, rosso fenolo 0.08, sodio tetradecilsolfato 4.6, agar-agar 18, acqua distillata 1000
Sciogliere per ebollizione
pH finale = 7.4

PREPARAZIONI VARIE

1. *Test* dell' indolo

Terreno (grammi/litro)
Peptone di carne, 8.6, sodio cloruro 6.4, potassio nitrato 1.5, acqua distillata ml 1000
pH finale 7.2 ± 0.2
Distribuire in provette a ml 5 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = brodo trasparente giallastro
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Semina e incubazione
Inoculare con un'ansata di patina colturale da Kligler
Incubare a +37 °C per 18 - 24 ore

Lettura
Aggiungere 0.5 ml di reattivo di Kovacs
Formazione di un anello rosso superficiale = esito positivo
Formazione di un anello giallo superficiale = esito negativo

Reattivo di Kovacs
p-dimetil-amino-benzaldeide gr 5, alcool amilico o isoamilico ml 75, acido cloridrico ml 25
Colore del reattivo = giallo
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C illimitata

2. *Test* dell' urea

Terreno (grammi/litro)
Estratto di lievito 0.1, potassio fosfato monobasico 9.1, sodio fosfato bibasico 9.5, urea 20, rosso fenolo 0.01, acqua distillata ml 1000
pH finale = 6.8 ± 0.2
Sterilizzare per filtrazione (0.2 mmicron) e distribuire sterilmente in provette a ml 5
Colore del terreno = trasparente, rosa-giallastro
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Semina e incubazione
Inoculare con un'ansata di patina colturale da Kligler
Incubare a +37 °C per 18 -24 ore

Lettura
Viraggio al rosso porpora = esito positivo
Sviluppo batterico con colore giallo = esito negativo

3. *Test* della Beta-galattosidasi

Reagente
Soluzione tampone: sodio fosfato monobasico gr 6.9, idrossido di sodio 0.1 M ml 3, acqua distillata ml 50
Soluzione ONPG = orto-nitrofenil - beta - D - galattopiranoside (ONPG) gr 0.08, acqua distillata ml 15
Reagente completo = soluzione tampone ml 5, soluzione ONPG ml 15
Conservabilità del reagente completo = in frigorifero, fino a che rimane incolore

Semina e incubazione
Allestire una sospensione lattescente del germe in ml 1 di soluzione fisiologica sterile, agitare ed aggiungere a ml 0.1 di questa sospensione ml 1 di reagente completo ONPG
Agitare ed incubare a +37 °C per 2 ore

Lettura
Viraggio al giallo = esito positivo
Colore bianco = esito negativo

4. *Test* combinato del rosso metile (RM) e di Voges-Proskauer (VP)

Terreno (grammi/litro)
Peptone 7, glucosio 5, potassio fosfato bibasico 5, cloruro di sodio 5, acqua distillata ml 1000
pH = 7.0
Distribuire in provette a ml 5 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = incolore
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Reagenti
<u>Rosso metile</u>
Rosso metile mg 100, alcool etilico 96 % ml 300, acqua distillata ml 200
Colore rosso intenso, conservare in frigorifero, validità illimitata
<u>VP2</u>
Idrossido di potassio gr 40, acqua distillata ml 100
Incolore, conservare in frigorifero, validità illimitata

<u>VP 1</u>
alfa-naftolo gr 5, alcool etilico 96 % ml 100

Colore rosa pallido, conservare in frigorifero protetto dalla luce, validità fino a comparsa di colore rosa / giallo intenso

Semina e incubazione
Seminare due provette da 5 ml di terreno con un' ansata di patina colturale. Incubare a +37 °C per 24 ore.

Lettura
1ª provetta = *Test* RM = aggiungere 0.5 ml di reattivo rosso metile
Colore rosso = esito positivo
Colore giallo = esito negativo
2ª provetta = *Test* VP = aggiungere 1 ml di reattivo VP 1 e 0.4 ml di reattivo VP 2. Agitare. Leggere dopo 30 minuti a temperatura ambiente
Sviluppo di colore rosso = esito positivo
Colore invariato = esito negativo

5. *Test* dei nitrati

Terreno (grammi/litro)
vedi terreno per *test* dell'indolo

Reagenti
Reagente A = acido sulfanilico gr 0.8, acido acetico 5 M ml 100
Reagente B = alfa-naftolo gr 0.5, acido acetico 5 M ml 100
Entrambi i reagenti sono incolori e vanno conservati in frigorifero a +4°C al riparo dalla luce
Semina e incubazione
Seminare una provetta con un'ansata di patina colturale. Incubare a +37 °C per 24 ore
Lettura
Aggiungere 0.5 ml del reattivo A e 0.5 ml del reattivo B
Formazione di colore rosso = esito positivo
Nessun cambiamento di colore = esito negativo

Nel caso delle Enterobacteriaceae non è generalmente necessario aggiungere al test dei nitrati la polvere di zinco, in quanto la reazione di riduzione dei nitrati a nitriti avviene in maniera netta.

6. *Test* dell' H_2S

Tra le varie possibilità di accertare la formazione di acido solfidrico, si propone la prova che si basa sulla semina del ceppo in brodo tioglicolato e sulla visualizzazione dell'H_2S formato mediante viraggio della cartina all'acetato di piombo introdotta nella provetta.

Terreno (grammi/litro)
Peptone di caseina 15, estratto di lievito 5, glucosio 5.5, l-cistina 0.5, sodio cloruro 2.5, sodio tioglicolato 0.5
pH 7.1 ± 0.2
Distribuire in provette con tappo a vite a ml 10 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = trasparente, giallastro
Conservabilità = a temperatura ambiente, al riparo dalla luce, per 3 mesi

Semina e incubazione
Trapiantare nel brodo tioglicolato un' ansata di patina colturale, introdurre tra il tappo ed il vetro della provetta una striscia lunga circa 5 cm di carta bibula impregnata di acetato di piombo (e successivamente sterilizzata in stufa a secco). Incubare a +37 °C per 7 giorni

Lettura
Viraggio al nero della striscia = esito positivo
Nessun cambiamento o leggero inbrunimento della cartina = esito negativo

7. *Test* di fermentazione dei carboidrati

Terreno base (grammi/litro)
Peptone di caseina 10, estratto di carne 5, sodio cloruro 3, sodio fosfato bibasico 1, soluzione di blu di bromotimolo* ml 12, acqua distillata 1000

*soluzione di blu di bromotimolo = blu di bromotimolo gr 1, NaOH 0.1 N ml 25, acqua distillata ml 475
pH = 7.4
Autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno base e del terreno completo = blu
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Carboidrati da aggiungere al terreno base
Ciascun carboidrato va sciolto al 10 % in acqua distillata sterile ed addizionato al terreno base in proporzione di 5 ml di soluzione ogni 100 ml di terreno
Il terreno completo va sterilizzato per filtrazione attraverso membrana da 0.2 mmicron e distribuito sterilmente in provette a ml 5

Semina e incubazione
Da una sospensione del germe in soluzione fisiologica sterile si seminano ml 0.2 per provetta di terreno e si incuba a +37 °C per 7 giorni, con letture ogni 24 ore
Lettura
Viraggio al giallo = esito positivo
Viraggio al rosso = esito negativo

8. *Test* dell' NH_4-citrato

Terreno (grammi/litro)
Magnesio solfato 0.2, ammonio fosfato biacido 0.2, sodio ammonio fosfato 0.8, sodio citrato tribasico 2, sodio cloruro 5, blu di bromotimolo 0.08, agar 15, acqua distillata 1000
pH = 7.0 ± 0.2
Distribuire in provette a ml 5, autoclavare a 121 °C per 15 minuti, inclinare a becco di clarino
Colore del terreno = verde scuro
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 1 mese

Semina e incubazione
Da una sospensione del germe in soluzione fisiologica inoculare uno *slant* con 0.2 ml ed incubare a +37 °C per 7 giorni
Lettura
Sviluppo con viraggio al blu = esito positivo
Colore inalterato verde = esito negativo

9. *Test* della gelatina

Terreno (grammi/litro)
Peptone di carne 5, estratto di carne 3, gelatina 120, acqua distillata 1000
pH 7.0 ± 0.2
Distribuire in provette a ml 10 e autoclavare a 115 °C per 10 minuti
Colore del terreno = giallo paglierino
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 1 mese
Semina e incubazione
Inoculare con ago per infissione al centro della provetta a partire da patina colturale
Incubare a temperatura ambiente (+25 °C) per 7 giorni
Lettura
Liquefazione della gelatina = esito positivo
Sviluppo senza liquefazione = esito negativo

10. *Test* del KCN

Terreno (grammi/litro)
Peptone 3, sodio cloruro 5, potassio fosfato monobasico 0.225, sodio fosfato bibasico 5.64, acqua distillata 1000
pH = 7.6
Distribuire in provette a ml 10 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = trasparente, incolore
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 1 mese

Semina e incubazione
Inoculare una provetta con 0.1 ml di sospensione del germe in soluzione fisiologica sterile e incubare a +37 °C per 7 giorni, con lettura ogni 24 ore
Lettura
Intorbidamento del terreno = esito positivo
Nessuna variazione = esito negativo

11. *Test* del malonato

Terreno (grammi/litro)
Estratto di lievito 1, ammonio solfato 2, potassio fosfato bibasico 0.6, potassio fosfato monobasico 0.4, sodio cloruro 2, sodio malonato 3, glucosio 0.25, blu di bromotimolo 0.025, acqua distillata 1000
pH = 6.7
Distribuire in provette a ml 5 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = verde
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 1 mese

Semina e incubazione
Da una sospensione in soluzione fisiologica sterile si inoculano ml 0.2 in una provetta di terreno, da incubare a +37 °C per 24 ore (non oltre)
Lettura
Viraggio al blu intenso = esito positivo
Colore verde invariato = esito negativo

12. *Test* di decarbossilazione degli aminoacidi

Terreno base - formula di Moeller - (grammi/litro)
Peptone 5, estratto di carne 5, bromocresolporpora 0.1, rosso cresolo 0.005, piridossale 0.005, glucosio 0.5, acqua distillata 1000

Aminoacidi aggiunti
Lisina, arginina, ornitina se nella forma di idrocloridrato L (+) vanno addizionate all' 1% rispetto al terreno base, se nella forma di idrocloridrato DL (+) al 2 %

Distribuire in provette a ml 5 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = porpora
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Semina e incubazione
Da una sospensione del germe in soluzione fisiologica sterile inoculare ml 0.2 per provetta di terreno completo dell'aminoacido desiderato. Aggiungere 3 ml di olio di vaselina sterile e incubare a +37 °C per 7 giorni
Lettura
Colore porpora (invariato) o più intenso = esito positivo
Viraggio al giallo = esito negativo

13. *Test* della mobilità

Terreno
BHI + agar allo 0.3 % in provette con tubo di Craigie distribuite a ml 5

Semina e incubazione
Inoculare con l'ago una piccola quantità di patina colturale alla profondità di circa 1 cm nel terreno all'interno del tubo di Craigie. Incubare a +37 °C per 7 giorni con lettura ogni 24 ore
Lettura
Intorbidamento esteso al terreno esterno al tubo di Craigie = esito positivo
Sviluppo localizzato attorno al punto di semina = esito negativo

14. *Test* dei tartrati e del mucato

Terreno base (grammi/litro)
Peptone 10, sodio idrato 0.1 M ml 8.5, soluzione di blu di bromotimolo* ml 12, acqua distillata 1000

*Soluzione di blu di bromotimolo = blu di bromotimolo gr 1, NaOH 0.1 N ml 25, acqua distillata ml 475

Gli acidi organici da aggiungere al terreno base sono :
- per il terreno d-tartrato = sodio e potassio tartrato (destrogiro) all'1 % sul terreno base
- per il terreno l-tartrato = acido tartarico (levogiro) allo 0.5 %
- per il terreno m-tartrato = acido tartarico (inattivo) allo 0.5 %
- per il terreno Na-citrato = sodio citrato (neutro) all'1 %
- per il terreno mucato = acido mucico all'1 %

pH finale = 7.4
Distribuire in provette a ml 6 e autoclavare a 121 °C per 15 minuti
Colore del terreno = blu
Conservabilità = in frigorifero a +4 °C per 3 mesi

Semina e incubazione
Da una sospensione del germe in soluzione fisiologica sterile inoculare a ml 0.2 le provette, incubando successivamente a +37 °C per 7 giorni, con lettura ogni 24 ore
Lettura
a) giornalmente rilevare il viraggio, indice di positività
b) al termine dell'incubazione, aggiungere ad ogni provetta ml 1 di soluzione satura (= 50 %) di piombo acetato. Mantenere a temperatura ambiente fino a completa sedimentazione del flocculato:
- precipitato inferiore alla metà dell'altezza del terreno nella provetta = esito positivo
- precipitato uguale o superiore alla metà dell'altezza del terreno nella provetta = esito negativo

AVVERTENZA

1 - Sui terreni elencati, dopo la preparazione, va effettuato il controllo di qualità. Esso consistente nel seminare due provette, rispettivamente con un ceppo a reazione positiva e con un ceppo a reazione negativa, da incubare per i tempiprevisti per le singole prove.
Due provette non seminate vengono lasciate come controllo di sterilità. Anche i reagenti vanno controllati per la reazione positiva e negativa.

2 -Sempre, quando si effettuano prove biochimiche, va affiancata al test una provetta non seminata, che rimane come controllo negativo.

COLORAZIONE DI GRAM (MODIFICATA DA HUCKER)

MATERIALE

1. Soluzione - madre di cristalvioletto: cristalvioletto al 10% in alcool etilico al 95%
2. Soluzione - madre di ossalato: ammonio ossalato all'1% in acqua distillata
3. Soluzione - madre iodo-iodurata (Lugol): iodio cristalli g 1, potassio ioduro g 2, acqua distillata ml 10
4. Miscela decolorante: alcool etilico al 95% e acetone in rapporto 1 : 1
5. Soluzione - madre del secondo colorante: fucsina basica g 0.3, alcool etilico al 95% ml 10

Le soluzioni - madre (1-2-3-5) devono essere preparate con largo anticipo (mesi) prima dell'uso e conservate a temperatura ambiente, al buio, chiuse in recipienti di vetro scuro.
Dalle soluzioni - madre si preparano le soluzioni di lavoro, filtrando la quantità necessaria di soluzione - madre su carta da filtro e diluendo successivamente come segue:
- Soluzione di lavoro di cristalvioletto: soluzione - madre di cristalvioletto ml 20 + soluzione - madre di ossalato ml 80
- Soluzione di lavoro iodo-iodurata (Lugol): soluzione - madre iodo-iodurata ml 5 + acqua distillata fino a ml 100
- Soluzione di lavoro del secondo colorante (fucsina): soluzione - madre di fucsina diluita 1 : 10 in acqua distillata

METODO

A) Strisciare su vetrino. Lasciare asciugare completamente all'aria. Fissare alla fiamma. Lasciar raffreddare.
B) Colorare con cristalvioletto per 1 minuto
C) Lavare con acqua

D) Trattare con soluzione iodo-iodurata (Lugol) per 1 minuto
E) Lavare con acqua
F) Decolorare con alcool-acetone per 30 secondi
G) Lavare con acqua
H) Colorare con fucsina per 30 secondi
I) Lavare con acqua
J) Asciugare con carta assorbente nuova

PREPARAZIONE DEL NEFELOMETRO DI MC FARLAND
(DA LENNETTE, 1978)

PREPARAZIONE DI SOLUZIONI TAMPONE
(DA GEIGY MANUAL, 1963)
(soluzione consigliata: tampone fosfato 1/15 M secondo Sorensen per pH da 5 a 8,2)

Soluzioni di partenza da preparare ciascuna in 1 litro di acqua distillata:

soluzione A: potassio fosfato monobasico, KH_2PO_4 grammi 9,08
soluzione B: sodio fosfato bibasico biidrato, $Na_2HPO_4 . 2 H_2O$ grammi 11,88

Composizione della miscela per ottenere i valori di pH desiderati : x ml A + (100 - x) ml B

INDICAZIONI PRATICHE PER IL LABORATORIO

NORME DI SICUREZZA IN LABORATORIO

La manipolazione di batteri potenzialmente patogeni, come le salmonelle, esige l'osservanza scrupolosa di norme di sicurezza sul lavoro.
Le seguenti norme valgono per la sicurezza delle persone che operano all'interno del laboratorio e servono inoltre per garantire che non vengano trasmesse contaminazioni al di fuori del laboratorio stesso.

Il contenuto delle seguenti pagine è desunto, in gran parte, dalle avvertenze riguardanti la sicurezza sul lavoro e la prevenzione degli infortuni pubblicate nel Decreto Legislativo n° 626/94.

1 - Norme riguardanti il vestiario

- Indossare sempre il camice in laboratorio.
- Non uscire dal laboratorio con il camice da lavoro.
- In caso di contaminazione accidentale del vestiario, togliersi subito ciò che è stato inquinato e riporlo in un sacchetto di politene assieme ad un batuffolo di cotone imbevuto di disinfettante (ad es. formaldeide soluzione acquosa al 40%); chiudere il sacchetto e riaprirlo solo al momento di versarne il contenuto in lavatrice.

2 - Utilizzazione dei mezzi di protezione individuali

Si considerano mezzi di protezione individuali alcuni strumenti che consentono il lavoro in condizioni di sicurezza. In batteriologia si tratta essenzialmente di guanti monouso, disinfettanti, propipette, cappe.

⇨ ***Guanti monouso***: usarli sempre per manipolare prodotti biologici inquinanti pericolosi.

Evitare di toccare con gli stessi guanti altri oggetti non di lavoro (ad es. il telefono, le maniglie delle porte, ecc).
Ricordarsi di gettarli a fine lavoro nel contenitore dei rifiuti speciali.

⇨ ***Disinfettanti*:** usarli per trattare il piano di lavoro prima e dopo le operazioni, soprattutto se vengono manipolati germi vivi.

In caso di versamento di materiale biologico inquinante, coprire la zona con abbondante liquido disinfettante, aspettare, e poi, con i guanti, assorbire su carta e gettare nel contenitore per rifiuti speciali.

⇨ ***Propipette*:** non pipettare mai a bocca.

Predisporre un sacchetto di politene a portata di mano per raccogliere le pipette ed eliminarle tra i rifiuti speciali.

⇨ ***C*appe:** nel caso di trapianti di colture che contengono batteri particolarmente pericolosi, lavorare sotto cappa di sicurezza a flusso laminare verticale.

Nota riguardante la preparazione di reagenti e soluzioni: per trattare acidi e basi forti, oppure sostanze volatili, usufruire della cappa chimica o, in mancanza, proteggersi con guanti, mascherina, occhiali protettivi in ambiente ben ventilato, possibilmente con aspirazione dell'aria (depressione).

3 - Norme da osservarsi durante il lavoro

Non si deve assolutamente assumere cibo, bere o fumare in laboratorio.

- Non abbandonare apparecchiature in funzione.
- Provvedere con dovuti accorgimenti al fine di evitare la formazione di *aerosol* (che può avvenire durante la centrifugazione, la ricostituzione di liofilizzati, ecc).
- Identificare tutte le preparazioni da porre in frigorifero o in termostato.

4 - Norme da applicare al termine del lavoro

- I rifiuti vanno raccolti in maniera differenziata:
  - carta non inquinata: **rifiuti solidi urbani**;
  - vetro non contaminato: **contenitore per il vetro**;
  - ogni altro oggetto (come guanti, cotone, garze, tappi e contenitori monouso, siringhe, aghi, pipette, plastica monouso): **rifiuti speciali;**
- Disinfettare le superfici che potrebbero essere state inquinate

⇨ **lavarsi le mani con acqua e sapone *sempre* al termine del lavoro e *frequentemente* durante il lavoro stesso, e ciò al fine di diminuire il rischio di portare inavvertitamente alla bocca agenti patogeni pericolosi come le salmonelle.**

5 - Manutenzione dei laboratori

- A fine giornata pulire e disinfettare le superfici usate (banchi, pavimenti) mediante acqua e detersivo sanitizzante.
- A fine settimana fare lo stesso trattamento, ma generalizzato (ossia esteso a cella frigo, termostati, ecc).
- Due volte al mese sterilizzare la cappa a flusso laminare con evaporazione di formalina (da 50 a 100 ml in soluzione acquosa al 50%, a seconda delle dimensioni).

CONTROLLI
- Rilevare periodicamente la carica batterica totale con tamponi superficiali o piastre a contatto (situazione normale dei banchi prima dal trattamento = 50 - 100 UFC / cm^2 , dopo 1-10 UFC / cm^2) .
- Verificare periodicamente la sterilità dell'aria nella cappa in funzione mediante esposizione per 20 minuti di cinque piastre Petri con terreno Plate Count Agar (PCA) e successiva incubazione a +30 °C per 72 ore.

ISTRUZIONI PER MIGLIORARE PRELIEVO, TRASPORTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI PER FINI DIAGNOSTICI

La corretta gestione dei campioni da analizzare è determinante per garantire la corrispondenza dei risultati alla situazione del materiale esaminato.
Purtroppo succede che campioni già prelevati si rivelino inutilizzabili per errori di procedura commessi prima dell'arrivo al laboratorio.
Quando un prelievo di campioni e' inutilizzabile
Per il laboratorio d'analisi un prelievo di campioni può risultare inutilizzabile nei seguenti casi:
1. natura concettualmente errata del campionamento
2. volume insufficiente del campione prelevato
3. numero insufficiente di campioni
4. momento in cui è stato fatto il prelievo
5. anamnesi incompleta o inesatta
6. cattiva conservazione
7. errata spedizione

1. NATURA CONCETTUALMENTE ERRATA DEL CAMPIONAMENTO

L'inconveniente si può presentare soprattutto con campioni di sangue ed organi.
SANGUE Viene prelevato per tutte le reazioni sierologiche, ma è noto che esistono limitazioni alla validità delle prove sierologiche, in quanto
- la fase di batteriemia o di viremia è di breve durata
- **non sempre si formano anticorpi circolanti** (per cui dalla sierologia si deve passare all'isolamento dell'agente eziologico)

ORGANI Spesso fallisce il tentativo di isolare un agente patogeno da organi di animali morti privi di lesioni.

2. VOLUME INSUFFICIENTE DEL CAMPIONE PRELEVATO

SANGUE La quantità di siero che si ottiene è circa 2/5 del volume del sangue prelevato. Se si prelevano 2 ml di sangue, il siero è sufficiente a malapena per eseguire una sola determinazione, anche adoperando un micrometodo.
FECI Nelle diarree sono necessari 60 - 80 g di materiale per poter eseguire più ricerche.

3. NUMERO INSUFFICIENTE DI CAMPIONI

E' consigliato il prelievo del sangue da 4 - 6 animali in due momenti diversi (distanziati tra loro 15-21 giorni) al fine di seguire la cinetica degli anticorpi sugli stessi animali.

4. MOMENTO IN CUI E' STATO FATTO IL PRELIEVO

Prelievi precoci non consentono di evidenziare la formazione di anticorpi.
Prelievi successivi a trattamenti terapeutici anti-infettivi possono risultare sterili.
Prelievi di sangue per l'esame sierologico successivi a vaccinazioni non sempre consentono la giusta differenziazione tra anticorpi da infezione e anticorpi vaccinali (è indispensabile disporre di una esauriente anamnesi).

5. ANAMNESI INCOMPLETA O INESATTA

Può compromettere l'esito degli esami o renderne inutilizzabile il risultato.
Ogni anamnesi (o verbale di accompagnamento) dovrebbe contenere :

a. indirizzo del proprietario
b. nome del veterinario
c. tipo di allevamento
d. numero di capi presenti
e. età, razza, categoria degli animali colpiti
f. data probabile d'inizio della malattia
g. numero dei soggetti ammalati e dei morti
h. sintomatologia osservata
i. terapia intrapresa
l. vaccinazioni effettuate in precedenza
m. sospetto clinico

E' errato inviare le notizie anamnestiche separatamente dai campioni o trasmetterle telefonicamente.
I verbali devono essere redatti con cura e non risultare illeggibili (come spesso accade).
Il laboratorio non dovrebbe accettare campioni sprovvisti di verbale d'accompagnamento o contenente dati incompleti.

6. CATTIVA CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Gli inconvenienti più frequenti sono legati ai contenitori impropriamente usati, tra cui:

- uso di provette di plastica per il prelievo del sangue (nella plastica il sangue siera male)
- uso di provette di vetro senza adeguate scatole per proteggerle da rotture
- uso di sacchetti o guanti o soprascarpe di plastica per raccogliere le feci (invece di usare gli adatti vasetti di plastica a chiusura ermetica)
- mancata conservazione a basse temperature dei campioni in genere

- **I campioni possono essere conservati refrigerati o congelati**
  Non si devono assolutamente congelare :
  - il sangue (il congelamento provoca emolisi che compromette le analisi, come, ad esempio, fissazione del complemento, inibizione dell' emoagglutinazione, immunodiffusione, sieroneutralizzazione)
  - i prelievi per gli esami istologici
  - i campioni per alcuni esami batteriologici

Si può concludere che, fatta eccezione per questi pochi casi, i campioni possono essere congelati. In caso di dubbio si consiglia di :
- **chiedere** telefonicamente istruzioni al laboratorio di destinazione
- nell'impossibilità di avere informazioni, ricorrere alla **refrigerazione**.

7. ERRATA SPEDIZIONE DEI CAMPIONI

Gli errori più frequenti sono :
- imballaggio non resistente agli urti
- imballaggio non in grado di mantenere le basse temperature
- mezzo di trasporto troppo lento
- momento del conferimento sfavorevole (fine settimana, presenza di festività e "ponti", da evitare soprattutto nella stagione calda)
- inoltro al laboratorio sbagliato (molte strutture diagnostiche sono articolate in una serie di laboratori specializzati (batteriologia, sierologia, istologia, virologia, biochimica, ecc) per cui è opportuno specificare nell'invio e consegnare al posto giusto

Il miglior modo di conferire i campioni al laboratorio e' portarli personalmente.
Si fa presente che per la spedizione di campioni a mezzo posta o corriere esistono precise disposizioni di legge (D.M. 4/9/1996) riguardanti la sicurezza del trasporto e l'incolumità delle persone che possono venire danneggiate in qualche modo dalla fuoruscita di materiale pericoloso per la salute.

In pratica, per una corretta confezione dei campioni occorre utilizzare, ***partendo dall'interno verso l'esterno*** *del pacco :*
- un recipiente a tenuta con tappo a vite dove introdurre il materiale prelevato
- del materiale assorbente, tipo cotone idrofilo o cellulosa di carta
- un sacchetto di politene sigillato
- ghiaccio secco oppure ghiaccio sintetico tipo " *siberin"* (non a diretto contatto con il campione)
- materiale isolante (tipo polistirolo espanso)
- una scatola esterna resistente agli urti per la spedizione, corredata, se del caso, dal simbolo di "rischio biologico" (= tre cerchi) ben in vista

N.B. Nella confezione contenente il campione (o i campioni) è sempre opportuno introdurre la nota anamnestica o il verbale di prelevamento, racchiusi in una busta di politene che eviti di far bagnare la carta.

LA RICERCA DELLE SALMONELLE INSERITA NELLA GENERALITÀ DELLE ANALISI BATTERIOLOGICHE IN UN LABORATORIO DIAGNOSTICO

Scopo del presente prospetto è di elencare le possibilità di allestimento di analisi batteriologiche semplici nel laboratorio diagnostico di veterinaria.
Attualmente sono disponibili molti terreni selettivi per tentare l'isolamento di germi patogeni specifici, ma tuttavia in laboratorio per questioni di tempo e di economia si procede solo all'isolamento su pochi terreni di uso generale ed eventualmente all'allestimento dell'antibiogramma.

Trattamento dei campioni

- Il materiale costituito da spurghi, essudati, *pus* viene raccolto con tamponi sterili. Una porzione di una piastra di Agar sangue viene seminata con il tampone e successivamente con l'ansa si procede a stendere l'inoculo sulla restante porzione della piastra.

- Il materiale costituito da organi e tessuti viene bruciato esternamente con una spatola arroventata e quindi sezionato con un bisturi sterile. Un frammento del campione viene quindi strisciato sulla superficie di una o più piastre di Agar sangue con l'aiuto di una pinza sterile, in modo da ottenere colonie staccate.

- Il latte esaminato per le mastiti viene seminato direttamente su terreno selettivo per gli streptococchi (come il TKT) e su terreno selettivo per gli stafilococchi (come il terreno di Baird-Parker oppure il Mannitol Salt Agar; per le salmonelle la semina viene fatta in terreno d'arricchimento, tipo Brodo tetrationato o Brodo selenito).

- Le urine vengono centrifugate e un'ansata del sedimento viene seminata per striscio su una piastra di Agar sangue.
- Le feci vengono risospese, se necessario, in soluzione fisiologica sterile (circa 1 gr in 5-10 ml) e dalla sospensione si semina un'ansata su almeno due piastre di Agar sangue in modo da ottenere colonie staccate e su una piastra di un terreno selettivo per batteri gram-negativi (Mac Conkey agar oppure Gassner agar o Verde Brillante agar) e inoltre si semina circa 1 ml in una provetta contenente 10 ml di terreno di arricchimento per salmonelle (come il Brodo tetrationato o il Brodo selenito). Le provette di arricchimento vengono incubate a +37°C per 18-24 ore e quindi trapiantate in terreno selettivo solido (Gassner agar, Verde Brillante agar ecc.) da incubare a +37°C per 24 ore.

Sia nel caso del tampone che nel caso del frammento di tessuto, dopo lo striscio su Agar sangue si introduce il campione medesimo in una provetta di terreno liquido (ad es. Brodo BHI).
Le piastre di Agar sangue vengono incubate a +37°C per 24-48 ore in aerobiosi o in microaerofilia (termostato con il 5÷10% di CO_2) se si sospettano brucelle, *Campy-*

lobacter, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, portando il tempo d'incubazione a 96 ore prima di scartare le piastre.
Nel caso di ricerca di germi anaerobi (bacilli e clostridi) le piastre di Agar sangue vengono poste per 48 ore in una giara per anaerobiosi da incubare in termostato a +37 °C. Come terreno liquido si usa, al posto del Brodo BHI, il terreno liquido CMM o il Brodo tioglicolato, con incubazione per 48 ore a +37°C in termostato normale.
Le provette di Brodo BHI vengono incubate a +37°C per 48 ore prima di essere piastrate su Agar sangue, da incubare come nel caso delle piastre seminate direttamente col campione.

Gli schemi seguenti 1 e 2 (secondo CARTER) possono risultare utili per riassumere le procedure *routinarie* di semina dei campioni per la coltura dei microrganismi:

Schema operativo 1 - Semina dei campioni clinici secondo il protocollo di CARTER

Schema operativo 2 - Terreni batteriologici per gli esami diagnostici e metodi di incubazione (secondo CARTER)

NOTA (relativa agli schemi 1 e 2)
*** Tamponi semplici da seminare dopo il prelievo nel piu' breve tempo possibile (o da trasportare refrigerati a +2/+4 °C per non più' di 18 ore) oppure tamponi con terreno di trasporto (con o senza carbone) conservabili per lo stesso periodo anche a temperatura ambiente.

Esame microscopico diretto

È applicabile al materiale in esame previa colorazione di strisci allestiti estemporaneamente.
Le colorazioni più impiegate sono:
- GRAM per i batteri gram-positivi (tra cui stafilococchi, streptococchi, clostridi, ecc) e per i batteri gram-negativi
- ZIEHL-NEELSEN per i batteri alcool-acido resistenti *(*micobatteri*, Nocardia)*
- LATTOFENOLO-COTTON BLUE per i funghi

Lettura delle colture seminate

Le piastre delle colture primarie vanno incubate generalmente a +37°C per 24÷48 ore o più (per i germi esigenti) ed eliminate in quest'ultimo caso dopo un'incubazione di 4 giorni.

Poche specie patogene possono essere riconoscibili dalle piastre seminate col campione. Tra queste si citano gli **stafilococchi** (che presentano colonie beta-emolitiche) e gli **streptococchi**, la cui caratteristica disposizione a catena è però non sempre ricono-

scibile dalle colonie su terreno solido (pertanto è necessaria una *sub*-coltura in brodo BHI seguita da un nuovo esame microscopico).
Tra i **corynebatteri**, il *C. pyogenes* è beta-emolitico, forma piccole colonie simili a quelle degli streptococchi in 48 ore, al Gram si presenta come un bastoncino Gram-positivo pleomorfo disposto a palizzata.
Il germe del malrosso (***Erysipelothrix insidiosa***) forma colonie piccolissime circondate da un alone di emolisi verdastra, che diviene chiara e completa dopo ulteriore incubazione. Può aiutare il trapianto in Kligler, da incubare 3÷4 giorni a +37°C per osservare becco e fondo giallo, idrogeno solforato +
Tra i Gram-negativi sono individuabili ***Pasteurella*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Proteus*, *Pseudomonas*.**
La ***P. multocida*** è un piccolo cocco-bacillo, immobile, con odore caratteritico, non cresce su Mac Conkey, indolo+.
La ***P. haemolytica*** da' colonie beta-emolitiche, è immobile ,cresce su Mac Conkey, è indolo-
I germi enterici sono identificabili in via presuntiva per il colore delle colonie sui terreni selettivi usati (ad es. colonie gialle su Gassner) e poi mediante il terreno di Kligler, sul quale presentano alcune reazioni biochimiche (gas, idrogeno solforato, fermentazione del glucosio e/o lattosio.
Per la ***Salmonella*** si ricorre all'agglutinazione su Kligler con un siero polivalente.

È opportuno ricordare che per avere un'identificazione affidabile dei vari microrganismi (tra cui quelli finora citati) è necessaria la fase di trapianto delle colonie sospette dalle piastre delle colture primarie e la successiva identificazione biochimica completa, adoperando appositi terreni e metodi miniaturizzati specifici.

I passaggi usualmente seguiti nell'isolamento e identificazione dei batteri partendo da materiale clinico sono riassunti come segue:

AUTOCONTROLLO, HACCP E SALMONELLE
Impiego del laboratorio per la realizzazione dei programmi

L'autocontrollo

La prassi dell'autocontrollo è stata regolamentata in Europa da due direttive (93/43/CEE e 96/3/CE) recepite in Italia dal D.L. 26 maggio 1997 n. 155.
Tra le analisi microbiologiche che più frequentemente ricorrono nell'ambito dell'autocontrollo figura la ricerca dei germi patogeni e, in primo luogo, delle salmonelle.
A questo proposito sono stati elaborati piani completi per migliorare il livello di sicurezza contro gli inquinamenti da *Salmonella*. Si riporta qui di seguito, come esempio, un programma d'autocontrollo per un'azienda che tratta carni suine:

Esempio di autocontrollo aziendale - Carni suine lavorate

FASI DEL CONTROLLO	MATERIA PRIMA (carne)	AMBIENTE (attrezzature)	PRODOTTO FINITO
N° campioni da esaminare	5 alla settimana, fino a esaminare 5 volte tutti i fornitori	5 alla settimana	5 alla settimana
Metodo consigliato	ELISA o altro metodo rapido	Piastre a contatto*	ELISA o altro metodo rapido
Ricerca	salmonelle	carica batterica (CBT)	salmonelle
Scopo delle analisi	allontanamento dei fornitori peggiori (quelli con più di un positivo su 5 controlli)	verifica efficacia delle pulizie e disinfezioni	controllo situazione delle partite di cotti e crudi appena finite
Durata fermo carni in attesa esito esami	48 ore	24 ore	48 ore
Risultato sfavorevole in caso di	presenza salmonelle in 25 grammi	CBT > 10 colonie su una piastra	presenza salmonelle in 25 grammi
Provvedimenti suggeriti in caso di risultato sfavorevole	lotto carne destinato ai cotti	revisione delle condizioni e dei sistemi di trattamento igienico-sanitario dei locali e delle macchine	1. *cotti* = ritiro, distruzione; 2. *crudi non soggetti a stagionatura* = ritiro; trasformazione nei cotti; 3. *crudi da stagionare* = secondo controllo dopo 30 giorni su 5 campioni. Se positivo anche un solo campione = distruzione.

* Due piastre al termine del lavaggio-sanitizzazione su ciascuna delle 5 seguenti posizioni: tavoli disosso, nastri trasportatori, marne, *trimmer*, insaccatrice.

L' Haccp
Considerazioni generali

Haccp significa "*analisi dei rischi e controllo dei punti critici*". E' un *programma* di autocontrollo che garantisce la sicurezza nell'industria. Un programma è un *piano* messo in azione.
L'Haccp è nato in Gran Bretagna intorno al 1950 ed è stato sviluppato in occasione della costruzione delle centrali nucleari per garantirne il funzionamento per 200 anni senza guasti e dalla NASA per ridurre i rischi di malattie alimentari negli equipaggi durante le missioni nello spazio. Ha fatto seguito alle "*good manufacturing practices*" (GMP), che erano linee-guida per migliorare le produzioni. Con l'Haccp, le procedure di controllo sono dirette a specifiche operazioni, che sono cruciali per assicurare la sicurezza del prodotto.
Gli effetti della contaminazione vengono quantificati.

Il concetto dell'Haccp ed i suoi sette punti fondamentali

Materie prime
Schema dell'impianto
Composizione del prodotto
Confezione
Magazzinaggio e distribuzione
Preparazione del consumatore
▼
- patogeni
HACCP - contaminanti chimici
- corpi estranei
▲
Analisi dei rischi
Determinazione dei CCPs*
Specificazione dei criteri
Implementazione dei controlli
Azioni correttive
Verifiche
Documentazione

* CCPs = Critical Control Points (punti critici da controllare)

La formulazione di un programma

Qualsiasi programma Haccp si articola in sei punti:
1) il programma deve essere scritto;
2) di esso va reso partecipe tutto il personale dell'azienda;
3) va steso un piano dei rischi e degli interventi di controllo;
4) la precedenza tocca all'addestramento del personale;

5) vanno investigati gli incidenti avvenuti e riviste le correzioni fatte;
6) il programma va continuamente aggiornato.

Il responsabile dell'intero procedimento è una figura nuova, l'assicuratore della qualità (*Quality Assurance*, QA), che opera a stretto contatto con la direzione aziendale.
Nel campo delle produzioni alimentari - dove più interessante si fa il discorso di "*sicurezza sinonimo di qualità*" - l'avvento dell'Haccp ha messo in crisi l'utilità del solo controllo analitico fatto a fine ciclo produttivo per verificare la sicurezza delle partite.
Difatti l'Haccp previene la necessità dei controlli finali di produzione. Per questo motivo ha incontrato resistenza in molti ambienti, a cominciare dalle istituzioni governative di vigilanza, che accusavano l'Haccp di sostituirsi alle ispezioni. Comunque l'Haccp è entrato a far parte del progresso industriale, che si propone di raggiungere la cosiddetta "*qualità totale*" di produzione (*Total Quality Management*, TQM), cioè uno stato di difetti a *livello zero*, in modo da essere certi di soddisfare sempre i clienti.

In America è stata stilata dal Ministero dell'Agricoltura (USDA) una lista di azioni obbligatorie per mettere in pratica l'Haccp nella preparazione degli alimenti. I "comandamenti" sono i seguenti:
1) stabilisci quali sono i pericoli che possono arrivare dalle materie prime naturali, dalla loro trasformazione industriale, dal commercio e dal consumo;
2) scegli i punti critici sul percorso che possono far "vedere" il pericolo (*Critical Control Points*, CCP);
3) fissa con dei numeri il livello massimo di pericolo che si può tollerare in questi punti della produzione;
4) stabilisci un metodo per valutare il pericolo;
5) prepara le misure correttive contro ogni evento sfavorevole;
6) adotta un protocollo di registrazione di tutto quanto viene fatto;
7) trova un metodo per controllare i controllori.

L'Haccp non è una novità. Alcuni popoli proibivano la carne suina per assicurarsi il livello zero di rischio contro l'infestazione da trichine. Ecco alcuni esempi per chiarire meglio il concetto.

Alimento: il latte pasteurizzato; pericolo: i germi patogeni; punti critici da controllare: la pasteurizzazione (da fare a 62,5 °C per 30 minuti) e la conservazione in frigorifero (da mantenere sotto gli 8 °C).
Alimento: la maionese; pericolo: la *Salmonella*; punti critici da controllare: l'acidificazione (che deve raggiungere pH <4,1).
Alimento: cibi in scatola; pericolo: il botulino; punti critici da controllare: la sterilizzazione (che deve arrivare a 140 °C per 3 minuti).

Per definire i punti critici di una produzione (come è stato fatto a proposito degli alimenti citati nell'esempio) è necessario mettere per iscritto tutto il percorso della

fabbricazione di quel prodotto (si dice costruire il *diagramma di flusso*) e tutto ciò che ruota attorno a quell'alimento (ad esempio, costruzione dei locali, attrezzature necessarie, manutenzione delle macchine, pulizia e disinfezione degli impianti, ecc).
Ogni diagramma di flusso sarà affiancato, passo a passo, da una specifica dei pericoli che minacciano le varie fasi di produzione dell'alimento, che comunque sono sempre quattro: formulazione, realizzazione, commercializzazione, *post*-vendita.
A proposito di quest'ultima fase, va detto che il fabbricante dovrà preoccuparsi di "anticipare" dei rimedi per annullare eventuali errori commessi dopo la produzione (ad esempio, gli abusi di temperatura subiti dal prodotto nei banchi frigoriferi del supermercato o a casa dell'acquirente).

Un obiettivo dell'Haccp è trovare i parametri minimali (temperatura, pH, umidità, contaminazione batterica o chimica, ecc) che possano garantire, in ogni caso, la sicurezza del prodotto.
Un esempio è fornito dalla valutazione del rischio batteriologico. Si sa che le salmonelle contaminano il 40% dei polli e che la dose infettante per l'uomo è mediamente di 100.000 salmonelle. Pertanto, con questi dati, si decide che la carne di pollo, per entrare nella composizione di un alimento sicuro, non dovrà avere più di 10 salmonelle per grammo.
Analogamente, per proteggere dalla moltiplicazione batterica una maionese, occorrerà perlomeno un pH inferiore a 4,1 sapendo che la temperatura di 7,5 °C, necessaria per inibire le salmonelle, non potrà essere assicurata.

Considerazioni di questo tipo devono essere fatte per un gran numero di parametri da tenere sotto controllo: sanitizzazione delle superfici, malattie del personale, pasteurizzazione o sterilizzazione, grado termico delle celle frigo, ecc).
Tutto quanto concerne la produzione va documentato e ciò che non dipende direttamente dal produttore (ad esempio, forniture esterne, procedimenti affidati in conto terzi) deve essere certificato da chi ha preso comunque parte alla nascita del prodotto.
Per questo si dice che l'Haccp è un contenitore molto complesso di azioni mirate al corretto funzionamento della filiera produttiva. Si tratta cioè di un programma che controlla la catena di montaggio e che esime, almeno in parte, dal verificare i "pezzi" che ne escono, perché questi, date le premesse, "devono" nascere necessariamente privi di difetti (livello zero) cioè con il pregio della qualità.

Il parametro Salmonella

In contraddizione con quanto sopra esposto, bisogna tenere in conto che il livello zero non esiste in microbiologia ed in chimica, essendoci sempre la possibilità di una contaminazione minima residua, peraltro non pericolosa.
Dalla seguente classifica si vede che alcune specie microbiche sono patogene anche a livelli modesti, mentre altre richiedono presenze più massicce. Di conseguenza, sono stati proposti degli *standard* di qualità riguardanti la contaminazione batterica tollerabile, ad esempio, nelle materie prime da acquistare per produrre alimenti.

BATTERI	NUMERO CELLULE PER DOSE PATOGENA	NUMERO TOLLERABILE DI MICRORGANISMI PER GRAMMO
Salmonella anatum	10^5 - 10^8	<10
Salmonella bareilly	10^5 - 10^6	<10
Salmonella derby	10^7	<10
Salmonella meleagridis	10^7	<10
Salmonella newport	10^5	<10
Salmonella pullorum	10^9 - 10^{10}	<10
Salmonella typhi	10^4 - 10^8	<10
Staphylococcus aureus	10^5 - 10^6	$<10^2$
Clostridium perfringens	10^6 - 10^7	$<10^2$
Bacillus cereus	$3{,}4 \times 10^4$ - $9{,}5 \times 10^8$	$<10^2$
Campylobacter jejuni	5×10^2	<1

ALCUNE NORME LEGISLATIVE RIGUARDANTI LE SALMONELLE E LE SALMONELLOSI

NORME SULL'UOMO

Circolare del Ministero della Sanità n. 65 del 18 agosto 1983
Revisione della Circolare n. 56 del 1975 "Disposizioni in materia di periodi contumaciali per esigenze profilattiche"
Salmonellosi
Malato = nei casi che richiedano ricovero ospedaliero, isolamento fino alla negatività di almeno tre coprocolture eseguite ad intervalli di almeno 24 ore dopo la guarigione clinica.
La prima coprocoltura sarà eseguita almeno tre giorni dopo la fine dell'eventuale trattamento antimicrobico.
In caso di persistente positività delle tre coprocolture, il soggetto dimesso sarà sottoposto a sorveglianza sanitaria fino a negativizzazione . Per gli addetti a particolari attività lavorative (personale di assistenza sanitaria e alimentaristi), sospensione dalle attività lavorative a giudizio dell'Autorità Sanitaria e sorveglianza sanitaria fino a negativizzazione.
Conviventi = a rischio, sorveglianza sanitaria per almeno 7 giorni a partire dall'ultimo contatto con il malato. Coprocoltura. Se positivi, vengono considerati malati.

D.M. 15 dicembre 1990
Sistema informativo delle malattie infettive e diffusive

Modalità di notifica di alcune malattie infettive e diffusive
Il medico che nell'esercizio della sua professione venga a conoscenza di un caso di qualunque malattia infettiva e diffusiva o sospetta di esserlo, pericolosa per la salute pubblica, deve comunque notificarla all'autorità sanitaria competente. Per le seguenti malattie infettive e diffusive la predetta autorità è tenuta a comunicare le informazioni secondo le seguenti modalità.
Classe seconda. Malattie rilevanti perché ad elevata frequenza e/o passibili di interventi di controllo:
21. *febbre tifoide*
34. *salmonellosi non tifoidee*
Modalità di notifica
Deve essere osservato il seguente flusso informativo:
1. segnalazione all'unità sanitaria locale, dal parte del medico, per le vie ordinarie entro due giorni dell'osservazione del caso;
2. per i casi rispondenti ai criteri definiti e riportati nelle istruzioni del modello 15, compilazione ed invio dello stesso modello individuale di notifica dall'unità sanitaria locale alla regione e da questa all'ISTAT ed al Ministero per le vie ordinarie. Alla regione devono essere inviate da parte dell'unità sanitaria locale, ol-

tre ai modelli individuali, anche i dati aggregati mensilmente, suddivisi per fasce di età e sesso (modello 16);
3. compilazione ed invio dei riepiloghi mensili, suddivisi per provincia, fasce d'età, sesso, da regione a Ministero, ISS, ISTAT per le vie ordinarie (mod. 16-bis).

D.L. 19 settembre 1994 n. 626
Attuazione delle direttive 89/391/CEE, 89/654/CEE, 89/655/CEE, 89/656/CEE, 90/269/CEE, 90/270/CEE, 90/394/CEE e 90/679/CEE riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro.
Art. 75
Classificazione degli agenti biologici
1. Gli agenti biologici sono ripartiti nei seguenti quattro gruppi a seconda del rischio di infezione:
b) agente biologico del gruppo 2: un agente che può causare malattie in soggetti umani e costituire un rischio per i lavoratori; è poco probabile che si propaghi nella comunità; sono di norma disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.
Salmonella arizonae
Salmonella enteritidis
Salmonella typhimurium
*Salmonella paratyphi A, B, C**
Salmonella (altre varietà sierologiche)
c) agente biologico del gruppo 3: un agente che può causare malattie gravi in soggetti umani e costituisce un serio rischio per i lavoratori; l'agente eziologico può propagarsi nella comunità, ma di norma sono disponibili efficaci misure profilattiche o terapeutiche.
Salmonella typhi *
*Vaccino efficace disponibile

Circolare del Ministero della Sanità n. 4 del 13 marzo 1998
Incubazione di alcune malattie infettive
Febbre tifoide = giorni di incubazione, 3-90; periodi più frequenti, 7-21
Salmonellosi non tifoidee = giorni di incubazione, 0-3; periodi più frequenti, 0-2

Decreto 12 novembre 1999
Modificazioni all'allegato XI del Dlgs 19 marzo 1996 n. 242, concernente: "Modifiche ed integrazioni al Dlgs 19 settembre 1994, n. 626, recante attuazione di direttive comunitarie riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro".

Allegato XI
Nuovo elenco degli agenti biologici classificati.
Batteri ed organismi simili.

Agente biologico	Classificazione	Rilievi
Salmonella arizonae	2	
Salmonella enteritidis	2	
Salmonella typhimurium	2	
Salmonella paratyphi A, B, C	2	V
Salmonella typhi	3 (**)	V
Salmonella (altre varietà sierologiche)	2	

(**) = agenti che possono comportare un rischio limitato perché normalmente non sono veicolati
V = vaccino efficace disponibile.

NORME SUGLI ANIMALI

NORME GENERALI

D.P.R. 8 febbraio 1954 n. 320
Regolamento di Polizia Veterinaria
Art. 1 - Le malattie degli animali per le quali si applicano le disposizioni del presente regolamento sono quelle a carattere infettivo o diffusivo. Si considerano tali le seguenti:
17. salmonellosi delle varie specie animali.

Art. 2 - Qualunque caso, anche sospetto, di malattia infettiva e diffusiva degli animali di cui all'art.1, ad eccezione di quelle contemplate ai numeri 25 e 26, deve essere immediatamente denunciato al Sindaco che ne dà subito conoscenza al Veterinario Comunale.
Sono tenuti alla denuncia:
- i veterinari comunali e consorziali che comunque siano venuti a conoscenza di casi di malattia infettiva e diffusiva;
- i veterinari liberi esercenti;
- i proprietari e i detentori di animali anche in temporanea consegna ed a qualsiasi titolo;
- gli albergatori, i conduttori di stalle di sosta e di pubbliche stazioni di monta e gli esercenti delle mascalcie.

La denuncia è obbligatoria anche per qualunque nuovo caso di malattia o di morte improvvisa che si verifica entro otto giorni da un caso precedente non riferibile a malattia comune già accertata.
Sono tenuti altresì alla denuncia:
- i presidi delle Facoltà di medicina veterinaria, i direttori degli Istituti zooprofilattici sperimentali nonché di ogni altro Istituto sperimentale a carattere veterinario, limitatamente alle malattie accertate nei rispettivi istituti e laboratori;
- i direttori degli Istituti zootecnici, i direttori degli Istituti di incremento ippico (D.P.R. 7.12.1959 n. 1378), l'autorità militare cui sono affidati animali per i servizi dell'Esercito e le Commissioni militari di rimonta e di rivista per la requisizio-

ne quadrupedi, per i casi di cui vengono a conoscenza nell'esercizio del loro ufficio;
- le autorità portuali marittime, i direttori degli aeroporti civili, i capi stazione delle ferrovie e delle tramvie e le imprese esercenti trasporti per via lacuale, fluviale e con autoveicoli, per i casi di malattia, dei quali sono venuti a conoscenza, verificatisi durante il carico e lo scarico o lungo il viaggio e per i casi di morte non conseguenti a cause accidentali;
- i funzionari e le guardie di pubblica sicurezza, i carabinieri, le guardie di finanza, le guardie forestali, gli agenti al servizio delle provincie e dei comuni e le guardie dell'Ente per la protezione degli animali.

Art. 122 - Nei casi di salmonellosi degli animali il Sindaco adotta, in tutto o in parte, i provvedimenti seguenti in conformità del disposto dell'art. 10 del presente regolamento:
a. isolamento e sequestro degli animali infetti;
b. accurate disinfezioni delle stalle e particolarmente delle poste occupate dagli animali infetti, distruzione dei feti e degli invogli fetali ed idoneo trattamento delle deiezioni;
c. rigorose norme igieniche per l'alimentazione, il governo e la mungitura degli animali;
d. il divieto di monta degli animali infetti;
e. il divieto di consumo di latte prodotto dagli animali infetti se non previamente risanato secondo le istruzioni da impartirsi di volta in volta.

Il sequestro è tolto, di norma, dopo la guarigione dell'animale ammalato, ma può essere mantenuto sino alla macellazione nel caso che l'animale risulti eliminatore di salmonelle patogene per l'uomo. Il Sindaco deve segnalare tempestivamente al Direttore del macello di destinazione l'inoltro degli animali infetti.

Art. 123 - Le carni dei conigli, le carni e le uova dei volatili affetti da salmonellosi devono essere distrutte ai sensi dell'art. 10, lettera f), del presente regolamento.
Per le matasalmonellosi (tifosi aviare e pullorosi) valgono le disposizioni indicate per le malattie del pollame nel successivo Capo XXVIII.

D.M. 172/94
Regolamento di esecuzione della Legge n. 30/91 "Disciplina della riproduzione animale"
Requisiti sanitari per la raccolta dello sperma.
1. Lo sperma deve provenire da animali che:
f) abbiano soggiornato presso centri di produzione dello sperma che siano rimasti indenni nel periodo, compreso fra 30 giorni prima della raccolta e 30 giorni dopo la raccolta, dalle seguenti malattie:

equini: salmonellosi (*S. abortus-equi*)

D.P.R. 30 novembre 1998 n. 497
Norme di attuazione delle direttive 92/117/CEE e 97/22/CE relative alle misure di protezione dalle zoonosi specifiche e alla lotta contro agenti zoonotici specifici negli animali e nei prodotti di origine animale.

In sintesi, il contenuto del decreto, che fa seguito ad una Circolare della Regione Emilia-Romagna del 1994 e si collega al successivo decreto ministeriale n. 339, riguarda in dettaglio il settore avicolo ed è schematicamente riportato come segue:

Piano di controllo per allevamenti di riproduttori, contenuto nel testo di linee guida regionali, nella Circolare Regionale RER (Regione Emilia-Romagna) n. 42/1994, nel D.P.R. 30 novembre 1998 n. 497 e nel D.M. 26 settembre 2000 n. 339

Fase di produzione	Prelievi	Tipo di prelievo (se ufficiale o autocontrollo)
B.1 Pulcini di un giorno B.1 Pulcini di 7-10 giorni	10 maschi e 20 femmine scelti fra soggetti morti o di scarto 10 soggetti in buono stato per la ricerca dei residui Soggetti morti in caso di positività alla ricerca dei residui o di mortalità anomala	Ufficiale N.B. Il prelievo va effettuato in due aliquote se trattasi di animali provenienti da Stati membri o da paesi terzi
B.2 Pollastre di 4 settimane B.3 Due settimane prima della deposizione	20-60* campioni di feci di almeno 1 grammo prelevati in punti diversi del reparto di allevamento e i morti del giorno come per B.2	Autocontrollo
B.4 In deposizione d'uova conferite ad incubatoi con capacità superiore a 1000 uova	50 embrioni a termine morti in guscio per ciascun allevamento ogni 15 giorni 20-60 campioni di feci e soggetti morti, almeno 2 volte per ciclo di deposizione	Autocontrollo Ufficiale
B.4 In deposizione d'uova conferite ad incubatoi con capacità inferiore a 1000 uova	Come per B.2, ogni 15 giorni Come per B.2, ogni 8 settimane	Autocontrollo Ufficiale
B.5 A fine ciclo, prima della macellazione	30 animali, scelti casualmente	Autocontrollo

B.6 Conferma in caso di positività all'autocontrollo B.6 In caso di trattamento con antibiotici e/o esclusione competitiva	20-60 galline, divise in partite di 5 20-60 campioni di feci, dopo il trattamento, da prelevare nuovamente dopo 15 giorni	Ufficiale

D.M. 26 settembre 2000 n. 339
Regolamento recante norme di attuazione delle misure minime di cui all'allegato III, sezione I, del Decreto del Presidente della Repubblica 30 novembre 1998, n. 497

Art. 1

1. Le regioni e le provincie autonome di Trento e di Bolzano provvedono all'attuazione delle misure di cui all'allegato III, sezione I, del Decreto del Presidente della Repubblica 30 novembre 1998, n. 497, concernente la sorveglianza ed il controllo della *salmonella* nei gruppi di riproduzione di pollame del genere *Gallus*, specie *gallus*, con le modalità previste dal presente regolamento.

Art. 4

1. Il proprietario o il responsabile dello stabilimento o dell'incubatoio ai fini dell'espletamento dell'autocontrollo previsto dall'allegato III, sezione I, del Decreto del Presidente della Repubblica 30 novembre 1998, n. 497 predispone il relativo piano, da tenere a disposizione del servizio veterinario dell'azienda unità sanitaria locale competente, nel quale deve essere indicato anche il nominativo del veterinario responsabile dell'autocontrollo.
2. Il piano deve contenere almeno le misure e le modalità minime di espletamento previste dall'allegato III del Decreto del Presidente della Repubblica 30 novembre 1998, n. 497, e indicare il laboratorio in cui sono effettuati gli esami relativi all'autocontrollo per l'isolamento e l'identificazione delle salmonelle.

Art. 7

1. In caso di isolamento e identificazione di *salmonella enteritidis* o di *salmonella typhimurium* in uno stabilimento, l'autorità competente provvede ad esperire un'indagine epidemiologica tesa ad individuare gli stabilimenti, gli incubatoi o gli edifici eventualmente collegati epidemiologicamente con l'impianto o edificio infetto, dandone comunicazione, qualora questi non siano situati nel territorio di propria competenza, alle aziende unità sanitarie locali competenti.

Art. 8

1. Se in seguito all'effettuazione del piano di autocontrollo di cui all'articolo 4 sono isolate e identificate *salmonelle diverse dalla salmonella enteritidis e dalla salmonella typhimurium* il proprietario o il responsabile dello stabilimento segnala tale presenza al servizio veterinario dell'azienda unità sanitaria locale.

NORME SUGLI ALIMENTI

NORME GENERALI

Legge 30 aprile 1962 n. 283
Disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande (modificata dalla legge 26.2.1963 n. 441).

Art. 5 - E' vietato impiegare nella preparazione di alimenti e bevande, vendere, detenere per vendere o somministrare come mercede ai propri dipendenti, o comunque distribuire per il consumo, sostanze alimentari:
d) insudiciate, invase da parassiti, in stato di alterazione o comunque nocive ovvero sottoposte a lavorazioni o trattamenti diretti a mascherare un preesistente stato di alterazione.

D.L. 3 marzo 1993 n. 123
Attuazione della direttiva 89/397/CEE relativa al controllo ufficiale dei prodotti alimentari.

Art. 11 - In caso di riscontro di frode tossica o di prodotti alimentari nocivi o pericolosi per la salute pubblica, il responsabile del laboratorio che ha eseguito l'accertamento analitico ovvero l'organo di controllo che ha eseguito l'ispezione, ferma restando la immediata comunicazione all'autorità giudiziaria, provvede a comunicare entro le 24 ore, alle regioni ed alle provincie autonome, al sindaco ed al prefetto territorialmente competenti, anche ai Ministeri della Sanità e dell'Agricoltura e delle foreste le seguenti notizie:
a) le informazioni che permettono di identificare il prodotto, il numero di lotto, il fabbricante o il distributore ovvero entrambi;
b) i risultati di qualsiasi accertamento di laboratorio o di altra informazione che permettono di valutare l'entità del rischio per la salute.

CARNI

D.P.R. 18 aprile 1994 n. 286
Attuazione delle direttive 91/497/CEE e 91/498/CEE concernenti problemi sanitari in materia di produzioni ed immissione sul mercato di carni fresche.
Art. 9 = Esclusione dal consumo umano
Sono dichiarate non idonee al consumo umano le carni provenienti da animali non sottoposti a visita *ante mortem* e ispezione *post mortem* nonché le carni provenienti da animali affetti da una delle seguenti malattie:
h) salmonellosi acuta.

D.P.R. 3 agosto 1998 n. 309
Regolamento recante norme di attuazione della direttiva 948/65/CEE relativa

ai requisiti applicabili all'immissione sul mercato di carni macinate e di preparazioni di carni.
Carni macinate = *Salmonella*: assenza in 10 grammi, n=5, c=0.
Preparazioni di carni = *Salmonella*: assenza in 1 grammo, n=5, c=0.

D.P.R. 10 dicembre 1997 n. 495
Regolamento recante norme di attuazione della direttiva 92/116/CEE che modifica la direttiva 71/118/CEE relativa a problemi sanitari in materia di produzione e immissione sul mercato di carni fresche di volatili da cortile.
30. Fatte salve le prescrizioni del D.P.R. 3 dicembre 1992 n. 558, la macellazione ai fini del consumo umano deve essere vietata qualora siano state accertate le manifestazioni cliniche delle seguenti malattie:
b) salmonellosi.
Il veterinario ufficiale può autorizzare, su richiesta del proprietario dei volatili o del suo mandatario, la macellazione alla fine delle normali operazioni di macellazione se sono state prese precauzioni per ridurre al massimo i rischi di propagazione dei germi nonché per pulire e disinfettare gli impianti dopo la macellazione; le carni provenienti da tale macellazione devono essere manipolate come carni non idonee al consumo umano.

Circolare n. 3 del 9 marzo 1998
Linee di indirizzo e coordinamento per la produzione e commercializzazione delle carni di uccelli corridori (ratiti) ai sensi del D.P.R. 30 dicembre 1992 n. 559

9. Ispezioni sanitarie *ante-mortem*
9.3 Gli animali che risultano affetti da una delle malattie di cui al punto 9.3 lettere a) e b) non possono essere macellati a scopo alimentare umano. Gli animali stessi sono sottoposti ad ispezione sanitaria *post-mortem* accurata e integrata, se il veterinario lo ritenga necessario per conferma, da un esame batteriologico appropriato e dalla ricerca di residui di sostanze aventi azione farmacologica.
11. Decisioni del veterinario ufficiale all'atto della visita sanitaria *post-mortem*
11.1 Sono dichiarate totalmente non idonee al consumo umano le carni dei ratiti la cui ispezione sanitaria *post-mortem* abbia rivelato uno dei seguenti reperti:
- malattie infettive a carattere generalizzato e localizzazioni croniche in organi o parti della carcassa sostenute da microrganismi patogeni trasmissibili all'uomo.

PRODOTTI ITTICI

D.L.vo 30 dicembre 1992 n. 530
Attuazione della direttiva 91/492/CEE che stabilisce le norme sanitarie applicabili alla produzione e commercializzazione dei molluschi bivalvi vivi.
Allegato A - I molluschi bivalvi vivi destinati al consumo umano diretto devono soddisfare ai seguenti requisiti:
c) essere privi di salmonelle in 25 grammi di polpa

Decreto 31 luglio 1995
Metodi di analisi per la determinazione dei coliformi fecali, di *Escherichia coli*, delle salmonelle, delle biotossine algali PSP (*Paralytic Shellfish Poison*), delle tossine DSP (*Diarrethic Shellfish Poison*), del mercurio e del piombo nei molluschi bivalvi.

LATTE E DERIVATI

D.P.R. 14 gennaio 1997 n. 54
Regolamento recante attuazione delle direttive 92/46 e 92/47/CEE in materia di produzione e immissione sul mercato di latte e di prodotti a base di latte.
Criteri microbiologici relativi ai prodotti a base di latte ed al latte alimentare
A. Criteri microbiologici per alcuni prodotti a base di latte alla loro uscita dallo stabilimento di trasformazione:
. Criteri obbligatori e germi patogeni

Tipo di germe	Prodotti	Valori (ml/g)
Salmonelle	Tutti, salvo il latte in polvere	Assenza in 25 g, n= 5, c=0
	Latte in polvere	Assenza in 25 g, n=10, c=0

UOVA E DERIVATI

D.L. 4 febbraio 1993 n. 65
Attuazione della direttiva 89/437/CEE che definisce i criteri igienico-sanitari da osservare nelle fasi di produzione e di commercializzazione dei prodotti d'uovo destinati al consumo umano diretto o alla fabbricazione di altri prodotti alimentari.
Salmonella: assenza in 25 grammi o ml

PASTE ALIMENTARI

Circolare Ministero della Sanità 3 agosto 1985 n. 32
Limiti di cariche microbiche suggeriti per paste alimentari e paste alimentari farcite.
Salmonella: assenza in 25 grammi, n=5, c=0.

ACQUE

D.P.R. 3 luglio 1982 n. 515
Attuazione della direttiva CEE n. 75/440 concernente la qualità delle acque superficiali destinate alla produzione di acqua potabile

D.P.R. 24 maggio 1988 n. 236
Attuazione della direttiva CEE n. 80/778 concernente le qualità delle acque destinate al consumo umano.
Controlli occasionali. Parametri accessori C_4.
Enterobatteri patogeni: assenti.

MANGIMI

D.L.vo 14 dicembre 1992 n. 508
Attuazione della direttiva 90/667/CEE del Consiglio del 27/11/90, che stabilisce le norme sanitarie per l'eliminazione, la trasformazione e l'immissione sul mercato di rifiuti di origine animale e la protezione dagli agenti patogeni degli alimenti per gli animali di origine animale o a base di pesce e che modifica la direttiva 90/425/CEE.
Salmonella: assenza in 25 grammi, n=5, c=0.

NORME SULL'AMBIENTE

ACQUE DI BALNEAZIONE

D.L. 13 aprile 1993 n. 109 convertito in legge 13 giugno 1993 n. 185
Modifiche al D.P.R. 8 giugno 1982 n. 470, concernenti attuazione della direttiva CEE 76/160 relativa alla qualità delle acque di balneazione.
Salmonelle: 110/100 ml
La ricerca di salmonelle sarà effettuata quando, a giudizio dell'autorità di controllo, particolari situazioni fanno sospettare una loro presenza. In tal caso la ricerca delle salmonelle sarà effettuata mediante filtrazione su membrana, arricchimento su terreni liquidi, isolamento su terreni solidi ed identificazione.

NOTA
Si trova indicato con n il numero delle unità campionarie da esaminare e con c la tolleranza.

Riferimenti bibliografici

BALOWS A. e Coll., Manual of Clinical Microbiology, 5th ed., ASM, Washington, USA, 1991
BENAZZI C. e Coll., Il regolamento di polizia veterinaria, Esculapio, Bologna, 1984
BUSSE M., Media for Salmonella, Int, J. Food Micr., 1995, 26, 117
BUXTON A. e Coll., Animal Microbiology, vol.1, Blackwell Sci. Publ., Oxford, England, 1977
CARTER G.R., Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology, 2nd ed., Thomas C. Publ., Springfield, Illinois, USA, 1973
COMI G. e Coll., Criteri generali per l'impostazione del controllo e ruolo del laboratorio di analisi nel controllo dell'autocontrollo, Ing. Alim., 1995, 4, 1
CRUICKSHANK R., Medical Microbiology, Livingstone ed., London, 1965

DAVIS D.B. e Coll., Trattato di Microbiologia, Piccin ed., Padova, 1981
D.L. 27-01-1992 n° 116 Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana del 18-02-1992, serie generale n° 40, supplemento ordinario, pagg. 5 - 25
EDWARD P.R. e Coll., Identification of Enterobacteriaceae, 3rd ed., Burgess ed., New York,USA, 1972
FEDIDA M. e Coll., Les prelevements inutilisables en pathologie bovine infectieuse, Rec. Med. Vet., 1983, 159, 873
GEIGY MANUAL, Documenta Geigy, Tables Scientifiques, Geigy S.A., Lausanne, Suisse, 1963
KRAMER J. e Coll., Alimenti, OEMF, Milano, 1990
LA PLACA M., Principi di Microbiologia Medica, Esculapio ed., Bologna, 1985
LENNETTE E.H. e Coll., Manual of Clinical Microbiology, 2nd ed., ASM, Washington, USA, 1978
MAC FADDIN M. e Coll., Biochemical tests for the identification of medical bacteria, 2nd ed., Willian-Wilkins ed., Baltimore, USA, 1984
MOSSEL D.A.A. e Coll., Identification, assessment and management of food-related microbiological hazard: historical, fundamental and physico-social essentials, Int. J. Food Micr., 1999, 39, 19
NOTERMANS S. e Coll., The HACCP concept: specification of criteria using quantitative risk assessment, Food Microbiol., 1995, 12, 81
SPERBER W., Use of the HACCP system to assure food safety, J. AOAC, 1991, 74, 433
STECCHINI M.L. e Coll., Applicazione dell'analisi dei pericoli e dei punti critici di controllo (HACCP), Ind. Alim., 1994, 33, 825