

GELOSE XLD (ISO 6579-1)

DETECTION DE *SALMONELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) est principalement utilisée pour l'isolement des *Salmonella* et des *Shigella* dans les produits alimentaires. Elle est également utilisée pour la recherche des salmonelles dans le domaine de la santé animale (chez les mammifères, les oiseaux et dans l'environnement des productions animales) et dans les eaux.

La formule-type répond à la composition définie dans les normes NF EN ISO 6579-1, NF EN ISO 21527, NF EN ISO 19250, NF U47-100 à 102 et FD CEN/TR 15215-2 et 15215-3.

2 HISTORIQUE

Le milieu a été formulé par Taylor pour accroître l'efficacité dans la récupération des entérobactéries pathogènes et plus particulièrement des *Shigella* et des autres germes présentant des exigences particulières qui, dans d'autres formulations contenant des inhibiteurs à toxicité élevée, ne se développent pas.

3 PRINCIPES

Le désoxycholate de sodium assure l'inhibition de la flore contaminante à Gram positif.

Le xylose est fermenté par presque tous les germes entéropathogènes, à l'exception des *Shigella* qui sont ainsi différenciées des autres bactéries. Après avoir utilisé le xylose, les salmonelles décarboxylent la lysine (par l'intermédiaire de leur lysine-décarboxylase) en cadavérine, ce qui provoque une augmentation de pH. En milieu devenu alcalin, les colonies de salmonelles se présentent sous le même aspect que les shigelles.

Les colonies qui se développent sont de couleur rouge en présence de l'indicateur, le rouge de phénol.

L'addition de lactose et de saccharose au milieu permet aux coliformes qui décarboxylent la lysine de produire un excès d'acidité faisant virer l'indicateur au jaune, ce qui favorise leur différenciation.

En milieu alcalin et par réduction du citrate ferrique ammoniacal, les germes pathogènes producteurs de sulfure d'hydrogène se manifestent par un noircissement qui est dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies. Les germes non pathogènes qui ne décarboxylent pas la lysine produisent une acidification résultant des fermentations sucrées. L'abaissement de pH s'oppose au noircissement des colonies.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure.....	3,00 g
- Hydrochlorure de L-Lysine.....	5,00 g
- Lactose.....	7,50 g
- Saccharose.....	7,50 g
- Xylose.....	3,75 g
- Désoxycholate de sodium.....	1,00 g
- Chlorure de sodium.....	5,00 g
- Thiosulfate de sodium.....	6,80 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,80 g
- Rouge de phénol.....	80 mg
- Agar agar bactériologique.....	12,50 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,4 ± 0,2.

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,9 g de milieu déshydraté (BK168) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Refroidir rapidement jusqu'à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles rapidement et laisser solidifier sur une surface froide.
- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.

✓ **Reconstitution :**
52,9 g/L

✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver, couler rapidement les boîtes

Notes

Le chauffage excessif ou le maintien prolongé du milieu à 44-47 °C peut provoquer une précipitation, si bien que les colonies risquent de donner des réactions moins nettes.

Le milieu doit présenter un aspect clair et une couleur rouge orangé.

6 MODE D'EMPLOI

- Repiquer une öse à partir du milieu d'enrichissement sur la gélose XLD ainsi préparée ou pré-coulée (BM087).
- Incuber entre 34 et 38 °C pendant 24 ± 3 heures.

✓ **Ensemencement :**
une öse

✓ **Incubation :**
24 h à entre 34 et 38°C

Notes :

L'incubation peut être poursuivie jusqu'à 48 heures en santé animale.

Un second milieu au choix, tel COMPASS Salmonella Agar (BM066) doit être ensemencé en parallèle.

En microbiologie des eaux, incuber à 36 ± 2 °C.

7 LECTURE

Les *Salmonella* présentent des colonies rouges, avec ou sans centre noir.

L'aspect des autres colonies est le suivant :

Caractéristiques	Microorganismes
Colonies jaunes, avec ou centre noir	<i>Escherichia coli</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i>
Colonies rouges, sans centre noir	<i>Shigella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Salmonella</i> Paratyphi A
Colonies rouges à centre noir	<i>Salmonella</i> , <i>Edwardsiella</i>

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre rosâtre, fluide et homogène.

Milieu préparé : gélose rouge-orangé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C (NF EN ISO 11133) :

Microorganismes	Croissance	Caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Bonne, score 2	Colonies rouges à centre noir
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Bonne, score 2	Colonies rouges à centre noir
<i>Escherichia coli</i>	Faible, score 0-1	Colonies jaunes
<i>Enterococcus faecalis</i>	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30 °C.

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri : 2-8 °C.

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu préparé en boîtes (*) : 8 jours à 2-8 °C.

(*) Valeur indicative déterminée dans les conditions standards de préparation, suivant les instructions du fabricant.

10 PRESENTATION

Milieu déshydraté :

Flacon de 500 g BK168HA

Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 90 mm) :

Coffret de 20 boîtes BM08708

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Taylor, W.I. 1965. Isolation of *Shigellae*. I. Xylose lysine agars; new media for isolation of enteric pathogens. American Journal of Clin. Path., **44(4)** : 471-475.

NF EN ISO 21567. Mars 2005. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour la recherche de *Shigella* spp.

FD/CEN/TR 15215-2. Avril 2006. Caractérisation des boues. Détection et dénombrement de *Salmonella* spp. dans les boues, les sols, les amendements du sol, les supports de culture et biodéchets. Partie 2 : Méthode par enrichissement en milieu liquide sélénite-cystine puis en milieu de Rapport-Vassiliadis pour la détermination semi-quantitative par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP).

FD/CEN/TR 15215-3. Avril 2006. Caractérisation des boues. Détection et dénombrement de *Salmonella* spp. dans les boues, les sols, les amendements du sol, les supports de culture et les biodéchets. Partie 3 : Présence/absence par enrichissement en milieu liquide peptone-novobiocine puis sur milieu Rapport-Vassiliadis.

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

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

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

NF EN ISO 19250. Juin 2013. Qualité de l'eau. Recherche de *Salmonella* spp.

NF EN ISO 11133. Juillet 2014. Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau. Préparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture.

NF EN ISO 6579-1. Avril 2017. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* -Partie 1: Recherche des *Salmonella* spp.

NF EN ISO 6579-1/A1. Mars 2020. Microbiologie de la chaîne alimentaire - Méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des *Salmonella* - Partie 1 : Recherche des *Salmonella* P spp. - Amendement 1 : Extension de la plage de températures pour l'incubation, amendement du statut de l'Annexe D et correction de la composition des milieux MSRV et SC.

12 AUTRES INFORMATIONS

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : XLD SELON 6579_FR_V14

Date création : 11-2003

Date de révision : 06-2020

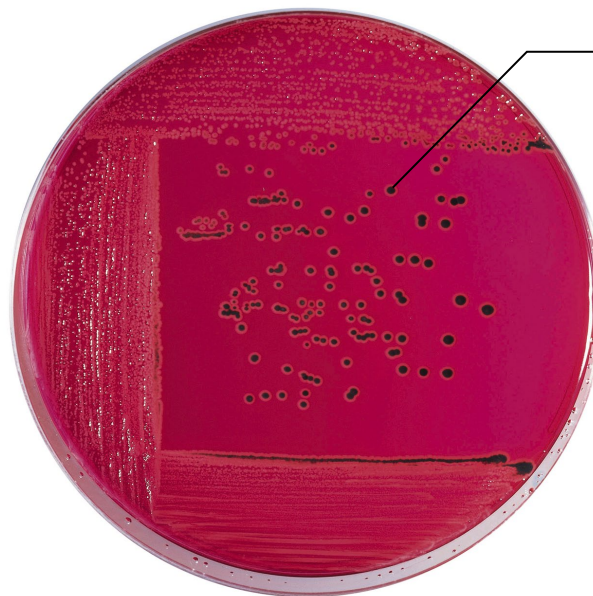
Motif de révision : Mise en conformité avec la NF EN ISO 6579-1/A1

Gélose XLD

Détection des *Salmonella*

Lecture :

Croissance obtenue après 24 heures d'incubation à 37 °C.



***Salmonella* spp.**

Colonie caractéristique :
couleur rouge avec un précipité
noir au centre