

Milieu gélosé K

(milieu gélosé Xylose-Lysine-Désoxycholate)

XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) milieu gélosé (XIV)

356-9124**354-1751****DOMAINE D'APPLICATION**

Milieu utilisé pour la recherche et le dénombrement des entérobactéries et notamment des *Salmonella* lors de l'analyse des produits alimentaires et du contrôle de la contamination dans des produits non obligatoirement stériles de la Pharmacopée.

Equivalent USP 30/NF 25 : Milieu XIV

REFERENCE(S)**MICROBIOLOGIE PHARMACEUTIQUE**

• **Pharmacopée Européenne 6.0** - Méthodes Biologiques - **2.6.13** : Contrôle microbiologique des produits non stériles (Recherche de micro-organismes spécifiés)

• **USP 30/NF 25 U.S. Pharmacopeia and National Formulary (2007)** : Microbial Limit Tests (**61**) - Microbiological Tests

PRINCIPE

Dans ce milieu, plusieurs réactions de différenciation sont mises en évidence :

- attaque du lactose, du xylose et/ou du saccharose : l'acidité produite se traduit par le virage au jaune du rouge de phénol.
- production d'H₂S : le thiosulfate sert de composé réactionnel et les sels ferriques d'indicateurs par la formation de sulfure de fer décolorant les colonies en noir.
- décarboxylation de la lysine en cadavérine : l'alcalinisation due à l'amine formée est révélée par un virage au rouge autour des colonies LDC +.

PRESENTATION

- **Précoulé**
90 mm x 20 boîtes **code 354-1751**
- **Déshydraté**
500 g **code 356-9124**

CONSERVATION/VALIDITE/LOT

- Précoulé : +2-8°C.
- Déshydraté : +15-25°C, flacon soigneusement fermé dans un endroit frais et sec
- La date de péremption et le numéro du lot sont indiqués sur le conditionnement.

FORMULE THEORIQUE

Extrait de levure	3 g
Chlorhydrate de L-lysine	5 g
Saccharose	7,5 g
Lactose	7,5 g
Xylose	3,75 g
Désoxycholate de sodium	1 g
Chlorure de sodium	5 g
Thiosulfate de sodium	6,8 g
Citrate de fer ammoniacal	800 mg
Rouge de phénol	80 mg
Agar	13,5 g
Eau distillée	1000 ml

pH (25°C) final = 7,4 ± 0,2

NB : Des adaptations de la formule ont pu être réalisées afin d'atteindre les critères de performance requis.

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

- Diluant(s)
- Eau distillée

**MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI
(liste non exhaustive)**

- Balance
- Sacs de pesée stériles
- Broyeur
- Plaque chauffante
- Agitateur-homogénéisateur
- Boîtes de Petri stériles (Ø = 90 mm)
- Pipettes stériles (code 355-0751) ou öse bouclée
- Bain-marie avec une précision de ±1°C
- Etuve ou enceinte thermostatée avec une précision de ±1°C
- Tout matériel courant d'un laboratoire

PREPARATION DU MILIEU DESHYDRATE

Toujours agiter avant chaque utilisation.

Dissoudre 55 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée, mélanger jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène.

Chauffer lentement, en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.

Ne pas prolonger le chauffage.

Répartir en boîtes de Petri et laisser sécher.

Taux de reconstitution : 55 g/l

500 grammes de poudre permettent de réaliser 9 litres de milieu.

Milieu gélosé K

(milieu gélosé Xylose-Lysine-Désoxycholate)

XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) milieu gélosé (XIV)

V2 – 25/05/11

PROTOCOLE

• Préparation des échantillons

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Enrichissement

A effectuer conformément à la norme du produit concerné.

• Ensemencement et incubation

Ensemencer en stries ou par étalement le milieu XLD. Incuber à 37°C ± 1°C pendant 24 à 48 heures.

LECTURE ET INTERPRETATION

Les *Salmonella* forment des colonies bien développées, rouges et présentant ou non un centre noir. L'interprétation de la lecture peut être réalisée à l'aide du tableau suivant :

CARACTERES OBSERVES	MICRO-ORGANISMES
Colonies jaunes opaques: (Fermentation d'au moins 2 sucres ou LDC -; parfois H ₂ S +)	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i> <i>Citrobacter</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia</i>
Colonies rouges (fermentation ou non du xylose ou LDC +)	<i>Shigella</i> <i>Providencia</i> <i>Salmonella</i> H ₂ S
Colonies rouges à centre noir (H ₂ S +)	<i>Salmonella</i> (H ₂ S+) <i>Edwardsiella</i> <i>Arizona</i>

PRECAUTION D'EMPLOI

Respecter les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

CONTROLE QUALITE

Au regard des travaux préalables à l'harmonisation des pharmacopées actuellement en cours, nous vous recommandons de vous reporter aux certificats de contrôle pour connaître les modalités mises en oeuvre pour le contrôle de la qualité (performance et sélectivité) des milieux de culture fabriqués par Bio-Rad.

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis.

Chaque lot du produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et il n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation.

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

MOTS CLES

XLD/*Salmonella*/Produits alimentaires/
Recherche/Dénombrement/Lactose/Xylose/
Saccharose/H₂S/Décarboxylation/
Rouge de phénol/Milieu

BIBLIOGRAPHIE

TAYLOR, W.J. (1965) : Isolation of *Shigella*. I. Xylose lysine agars, new media for isolation of enteric pathogens. American Journal of Clinical Pathology **44** : 471-475