
GELOSE XLT4

DETECTION DE *SALMONELLA*

1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose XLT4 (Xylose-Lysine-Tergitol 4) est un milieu d'isolement utilisé pour la recherche des *Salmonella*, à l'exception de *Salmonella* Typhi et Paratyphi.

La gélose XLT4 peut être utilisée comme second milieu au choix dans les méthodes normalisées de recherche des salmonelles en microbiologie des aliments. Elle fait aussi partie du choix des géloses utilisées en santé animale pour la recherche de *Salmonella*.

La formule-type de la gélose répond à la composition définie dans les normes NF U47-102.

2 HISTORIQUE

En 1991, Miller et Tate démontrèrent que l'utilisation de la gélose Xylose Lysine Tergitol 4 (XLT4) augmentait la fréquence de détection des *Salmonella* non-Typhi à partir de prélèvements d'origine avicole contenant une microflore secondaire importante, et que le milieu permettait une bonne différenciation entre *Salmonella* et *Citrobacter*. Le milieu décrit par ces auteurs incorporait le Tergitol 4 dans une base Xylose Lysine, modifiée pour inhiber un grand nombre de microorganismes (*Proteus*, *Pseudomonas*, *Providencia*) qui interféraient auparavant sur la détection des *Salmonella*.

Des études ultérieures réalisées par Dusch et Altwegg établirent que le milieu XLT4 pouvait être employé pour la recherche des *Salmonella*, à l'exception de *Salmonella* Typhi et Paratyphi, dans les prélèvements cliniques.

3 PRINCIPES

Le xylose est fermenté par 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 deviennent rouges en présence de l'indicateur de pH, le rouge de phénol.

La réduction du citrate ferrique ammoniacal par les germes pathogènes producteurs de sulfure d'hydrogène se manifeste par un noircissement qui est dû à l'apparition de sulfure de fer au centre des colonies.

Le milieu contient deux autres glucides : le lactose et le saccharose. La fermentation de l'un ou l'autre ou des deux se traduit par une acidification du milieu, provoquant l'apparition de colonies jaunes par virage du rouge de phénol.

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.

Le Tergitol 4 est le nom commercial d'une solution à 26-28% d'un détergent anionique, le 7-éthyl 2-méthyl 4-undécyl sulfate, sous forme de sel de sodium. Il inhibe la croissance de la flore contaminante à Gram positif et de nombreux micro-organismes à Gram négatif, notamment les *Proteus*.

4 FORMULE-TYPE

La composition peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.
Pour 1 litre de milieu complet :

- Peptone	1,6 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- L-Lysine.....	5,0 g
- Lactose.....	7,5 g
- Saccharose	7,5 g
- Xylose.....	3,75 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	6,8 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,8 g
- Rouge de phénol.....	80,0 mg
- Tergitol 4	4,6 mL
- Agar agar bactériologique.....	18,0 g

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

Pour 59 g de base déshydratée BK156

- Peptone	1,6 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- L-Lysine	5,0 g
- Lactose	7,5 g
- Saccharose	7,5 g
- Xylose	3,75 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium.....	6,8 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,8 g
- Rouge de phénol.....	80,0 mg
- Agar agar bactériologique.....	18,0 g

Pour un flacon de supplément BS039

- Tergitol 4	50 mL
--------------------	-------

5 PREPARATION

- Mettre en suspension 59,0 g de milieu déshydraté (BK156) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Ajouter 4,6 mL de supplément sélectif Tergitol 4 (BS039).
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution complète.
- Ne pas surchauffer, ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir à 44-47 °C.
- Couler en boîtes de Petri stériles et laisser solidifier sur une surface froide.

✓ **Reconstitution :**
59,0 g/L
+ 4,6 mL de Tergitol 4

✓ **Stérilisation :**
Ne pas autoclaver

6 MODE D'EMPLOI

- Faire sécher les boîtes à l'étuve, couvercle entrouvert.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé (BM036), ensemercer en stries l'inoculum, à partir des milieux d'enrichissement utilisés pour la recherche de *Salmonella*.
- Incuber à 37 ± 2 °C pendant 24 ± 3 heures.

✓ **Ensemencement :**
En surface

✓ **Incubation :**
24 h à 37 °C

NOTE :

En santé animale, pour la recherche de *Salmonella* Abortusovis, une incubation de 48 h est nécessaire.

7 LECTURE

Les colonies de *Salmonella* typiques (H₂S-positif) sont rouges à centre noir. Elles peuvent présenter un halo jaune après 24 heures d'incubation. En cas d'incubation prolongée, les colonies deviennent rouges à roses à centre noir ou entièrement noires.

Les colonies de *Salmonella* H₂S-négatif apparaissent rouges à roses, sans centre noir.

Citrobacter, *Klebsiella* et *Enterobacter cloacae* produisent des colonies jaunes.

La croissance d'*Enterobacter aerogenes* et *Escherichia coli* est partiellement inhibée; les colonies présentes sont de couleur jaune.

Proteus, *Pseudomonas*, *Providencia* sont partiellement à complètement inhibées.

Shigella présente une faible croissance et produit des colonies roses.

Voir ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO.

8 CONTROLE QUALITE

Milieu de base déshydraté : poudre rosâtre, fluide et homogène.

Supplément Tergitol 4 : solution légèrement jaunâtre, limpide.

Milieu préparé (complet) : gélose rouge-orangé.

Réponse culturale après 24 heures d'incubation à 37 °C.

Microorganismes		Croissance	Caractéristiques
<i>Salmonella</i> Typhimurium	WDCM 00031	Bonne, score 2	Colonies rouges à centre noir
<i>Salmonella</i> Enteritidis	WDCM 00030	Bonne, score 2	Colonies rouges à centre noir
<i>Escherichia coli</i>	WDCM 00013	Faible, score 0-1	Colonies jaunes
<i>Enterococcus faecalis</i>	WDCM 00087	Inhibée, score 0	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	WDCM 00034	Inhibée, score 0	-

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté (sans Tergitol 4) : 2-30 °C.

Supplément sélectif Tergitol 4 : 2-25 °C.

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

Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

Milieu complet préparé en boîtes, avec supplément (*): 15 jours à 2-8 °C.

Milieu préparé en flacon (*) : Non recommandé.

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

10 PRESENTATION

Milieu de base déshydraté (sans Tergitol 4) :

Flacon de 500 g BK156HA

Supplément sélectif Tergitol 4 :

Flacon de 50 mL BS03908

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

Coffret de 20 boîtes BM03608

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Miller, R.G., Tate, C.R., Mallinson, E.T., and Scherrer, J.A.. 1991. Xylose-Lysine-Tergitol 4: An improved selective agar medium for the isolation of *Salmonella*. Poultry Science, **70** : 2429-2432.

Miller, R.G., Tate, C.R., Mallinson, E.T., and Scherrer, J.A.. *Erratum*. Xylose-Lysine-Tergitol 4: An improved selective agar medium for the isolation of *Salmonella*. Poultry Science, **71** : 398.

Tate, C.R., Miller, R.G., and Mallinson E.T.. 1992. Evaluation of two isolation and two no-isolation methods for detecting naturally occurring *Salmonellae* from broiler flock environmental drag-swab samples. Journal of Food Protection, **55** : 964-967.

Dusch, H., and Altwegg, M.. 1995. Evaluation of five new plating media for isolation of *Salmonella* species. Journal of Clinical Microbiology, **33** : 802-804.

Wallace, H.A.. 1996. Evolution of Methods for the Detection of *Salmonella* in Foods. Journal of A.O.A.C. International, **79** : 4-12.

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 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.

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 : XLT4_FR_V11.
Date création : 03-2003
Date de révision : 02-2018
Motif de révision : Références bibliographiques.

Gélose XLT4

Détection des *Salmonella* spp..

Lecture :

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

