

mikrobiologie labor technik

# X.L.D. Agar

## PRINCIPIU

**X.L.D. (Xylose Lysine Desoxycholate)**, așa cum este el descris de către Taylor, a fost fabricat în principal pentru izolarea speciilor *Shigella* și *Providencia* din scaun. S-a dovedit a fi mult mai eficient decât alte medii enterice diferențiale. Principalele calități ale acestui mediu sunt:

- **producerea de acid** – datorită fermentării lactozei, zaharozei și/sau xilozei (mediul își schimbă culoarea din roșu în galben).
- **reversie alcalină** – datorită decarboxilării lizinei în cadaverină (LDC+, coloniile devin roșii).
- **hidrogen sulfurat (H<sub>2</sub>S)**- tiosulfatul de sodiu și citratul feric de amoniu permit vizualizarea producerii de hidrogen sulfurat în condiții alcaline.

Acest mediu inhibă creșterea microorganismelor Gram + și a coliformilor. Se întrebuințează doar *in vitro*.

## FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Extract de drojdie	3.00
L-lizină	5.00
Xiloză	3.75
Zaharoză	7.50
Lactoză (monohidrat)	7.50
Dezoxicolat de sodiu	1.00
NaCl	5.00
Tiosulfat de sodiu	6.80
Citrat feric de amoniu	0.80
Roșu fenol	0.08
Agar	13.50
pH final : 7.4 ± 0.2 la 25°C	

## METODA

Se suspendă 55 g de pudră într-un litru de apă distilată. Se încălzește încet sub agitare constantă până la 90°C, până ce agarul este complet dizolvat. **NU SE AUTOCLAVEAZĂ.** Este important a nu se fierbe mediul, imediat ce mediul ajunge la 50°C, se toarnă în plăci Petri. Mediul trebuie să fie translucid și de culoare roșu-portocaliu. La supraîncălzire sau dacă stă mai mult la 50°C se poate produce o precipitare nedorită, făcând citirea dificilă. Filtrarea mediului lichefiat permite recăștigarea aspectul clasic, cu toate acestea, eficiența mediului este redusă. Mediul făcut acasă trebuie păstrat la 4°C la întuneric pentru 15 zile. Mediul fabricat poate fi păstrat la temperatura camerei pentru câteva luni.

## PROCEDURA

Se însămânțează direct plăcile cu proba și/sau cu proba selectiv-îmbogățită. Metoda armonizată a farmacopei:

Se însămânțează o placă de X.L.D. cu proba îmbogățită. Se întoarce placa invers și se incubează la 32.5±2.5°C pentru 18-48 ore.

## REZULTATE

Enterobacteriile fermentează foarte repede xiloza (excepție *Edwardsella*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri*, *Providencia* și *Salmonella paratyphi*, acestea sunt xilozo-negative). Acest lucru permite diferențierea din *Shigella* (colonii roșii). Pe măsură ce se epuizează xiloza, *Salmonella* decarboxilează apoi lizina, producând

reversia la condiții alcaline. Tiosulfatul de sodiu și citratul feric de amoniu permit vizualizarea producerii de hidrogen sulfurat în condiții alcaline. Revenirea la condițiile alcaline, fenomen provocat de către alte organisme lizin-pozitive, este prevenită prin fermentarea zaharozei și lactozei. Mai mult decât atât, aceste condiții acide, de asemenea, inhibă producția de H<sub>2</sub>S.

Colonii galben-opac	<i>Citrobacter, Enterobacter, Escherichia coli, Klebsiella, Proteus și Serratia.</i>
Colonii roșii	<i>Providencia, Salmonella H<sub>2</sub>S – și Shigella.</i>
Colonii roșii cu centrul negru	<i>Arizona, Edwardsiella și Salmonella.</i>

#### LIMITE ȘI PRECAUȚII

O incubare în exces produce, prin diluarea acizilor produși, variația culorii indicatorului de pH, făcând citirea dificilă.

*Proteus mirabilis* produce colonii asemănătoare cu *Salmonella*, deoarece amândouă speciile fermentează zaharoza foarte lent.

#### BIBLIOGRAFIE

1. Taylor W.I. 1965. Isolation of Shigellae. I. Xylose Lysine Agars; New media for the isolation of enteric pathogens. Am. J. Clin. Path. 44:471-475.
2. Taylor W.I. and Harris B. 1965. Isolation of Shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Path. 44(4):476-479.
3. Taylor W.I. and Harris B. 1967. Isolation of Shigellae. III. Comparison of new and traditional media with stool specimens. Am. J. Clin. Path. 48:350-355
4. ISO 6579 (2002) : Microbiologie des aliments : Méthode horizontale pour la recherche des Salmonella spp.

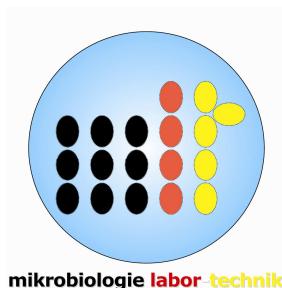
#### AMBALARE

##### Mediul deshidratat

(A se păstra între 1-30°C)  
140170A: Flacon de 500 g  
140170L: Flacon de 500 g

##### Mediul gata preparat

(A se păstra între 2-25°C)  
110170: Cutie cu 20 plăci de 90 mm Ø  
130170: Cutie cu 3 sticle de 200 ml



# X.L.D. Agar

## PRINCIPLE

**X.L.D. (Xylose Lysine Desoxycholate)**, as described by Taylor, was developed principally for isolating *Shigella* and *Providencia* from stools. It has been shown to be more effective than other enteric differential media. The principal assets of this medium are :

- ❖ **Acid production** : due to Lactose and/or saccharose and/or xylose fermentation (Medium colour change from red to yellow)
- ❖ **Alkaline reversion** : due to Lysine decarboxylation into cadaverin, (LDC+colonies turn out red).
- ❖ **Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S)**: Sodium Thiosulfate and Ferric Ammonium Citrate allow visualization of hydrogen sulfide production under alkaline conditions.

This medium inhibits the growth of gram+ micro-organisms and most unwanted coliforms.

## FORMULA

Components	g/l
Yeast Extract	3.00
L-Lysine	5.00
Xylose	3.50
Saccharose	7.50
Lactose (monohydrated)	7.50
Sodium desoxycholate	2.50
Sodium Chloride	5.00
Sodium thiosulfate	6.80
Ferric Ammonium Citrate	0.80
Phenol Red	0.08
Agar	13.50
Final pH : 7.4 ± 0.2 at 25°C	

## METHOD

Suspend 55 g of powder in 1 litre of purified water. Heat slowly under constant agitation up to 90°C, until the agar is completely dissolved). **DO NOT AUTOCLAVE.** It is important not to boil the medium, as soon as the medium is dissolved to 50°C then pour into sterile Petri plates. The medium must be translucent and of orangey-red colour. An excess heating or prolonged periode at 50°C can cause an unwanted precipitation making the reading difficult. A filtration, of the liquefied medium allows to regain the classic appearance, nevertheless the efficiency of the medium is lowered. Home made medium have to be stored at 4°C in the dark and up to 15 days. Manufactured medium can be stored at room temperature for several months.

## PROCEDURE

Inoculate directly the plates with the sample and/or the selective enriched sample **Harmonized method of pharmacopoeias:**

Inoculate a plate of XLD with the enriched sample. Turn the plate upside-down then incubate it at 32.5 ± 2.5°C for 18 to 48 hours.

## RESULTS

Enterobacteria ferment very quickly the xylose (except *Edwardsella*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri*, *Providencia*, and *Salmonella paratyphi A* that are xylose -) This allows to defferentiate from *Shigella* (Red colonies). As xylose is exhausted

Salmonella then decarboxylate lysine causing reversion to alkaline conditions. Sodium Thiosulfate and Ferric Ammonium Citrate allow visualization of hydrogen sulfide production under alkaline conditions. Alkaline conditions reversion by other lysine-positive organisms is prevented by excess acid production from fermentation of lactose and saccharose. Moreover, these acid conditions also inhibits the H<sub>2</sub>S production.

<b>Yellow opaque colonies</b>	<i>Citrobacter, Enterobacter, Escherichia coli, Klebsiella, Proteus and Serratia.</i>
<b>Red colonies</b>	<i>Providencia, Salmonella H<sub>2</sub>S - and Shigella.</i>
<b>Red colonies with a black center</b>	<i>Arizona, Edwardsiella and Salmonella</i>

#### LIMITS AND PRECAUTIONS

An excess incubation ends by diluting the produced acids and therefore a colour variation of the pH indicator occurs making the reading difficult. *Proteus mirabilis* have similar colonies to *Salmonella* since they ferment saccharose very slowly. Ready to use XLD Agar can contain white particles that cause no

prejudice to its performances and therefore not affect the reading.

#### BIBLIOGRAPHY

1. Taylor W.I. 1965. Isolation of Shigellae. I. Xylose Lysine Agars; New media for the isolation of enteric pathogens. Am. J. Clin. Path. 44:471-475.
2. Taylor W.I. and Harris B. 1965. Isolation of Shigellae. II. Comparison of plating media and enrichment broths. Am. J. Clin. Path. 44(4):476-479.
3. Taylor W.I. and Harris B. 1967. Isolation of Shigellae. III. Comparison of new and traditional media with stool specimens. Am. J. Clin. Path. 48:350-355
4. Pharmacopée Européenne (Milieu K).

#### PACKAGING

##### Dehydrated medium

**To be stored between 1 and 30°C**

140170A: Flask of 500 g

140170L: Flask of 500 g

##### Ready to use medium

**To be stored between 2 and 25°C**

130170: Pack of 3 flasks of 200 ml

110170: Pack of 20 dishes 90 mm Ø