

mikrobiologie labor technik

A.D.C.L. (HYNES)

PRINCIPIU

A.D.C.L. (Desoxycholate-Citrate-Lactose-Agar) este un mediu selectiv pentru izolarea speciilor *Salmonella* și *Shigella*.

Nivelurile ridicate de dezoxicolat și citrat inhibă creșterea bacteriilor Gram pozitive și parțial ale unui lot de enterobacterii.

Fermentarea lactozei induce acidifierea și schimbarea culorii roșului neutru.

Reducerea tiosulfatului este indicată de către ionii ferici din sulfitul de fier de culoare neagra.

FORMULA TIPICĂ

Componente	g/l
Polipeptonă	5.00
Extract de carne	5.00
Citrat de sodiu	8.50
Dezoxicolat de sodiu	5.00
Lactoză	10.00
Citrat feric de amoniu	1.00
Roșu neutru	0.02
Tiosulfat de sodiu	5.40
Agar	12.00
pH final: 7.4 ± 0.2 la 25°C	

METODA

Se suspendă 52 g de pudră în 1 litru de apă distilată. Se încălzește până la fierbere pentru dizolvarea completă. Se fierbe timp de 1 minut. Nu se autoclavează.

TEHNICA

Când mediul este lichid, se răcește la 47± 2°C și se toarnă în plăci Petri sterile.

Culturi de scaune

Se însămânțează 2 plăci cu suspensie preparată din scaun. Se însămânțează în același timp pe bulionul selenit de sodiu și pe mediul Muller Kauffmann și se incubează pentru 24 de ore la o temperatură de 37°C.

Detectarea de *Salmonella* în produsele farmaceutice

Se însămânțează 10 g de probă în 100 ml bulion lactozat pentru 5-24 de ore la 37°C. Se iau 10 ml din această precultură și se însămânțează pe 100 ml bulion T.B.G. Se incubează 18-24 de ore la o temperatură de 42-43°C și se realizează subculturi pe 2 medii dintre următoarele: D.C.L., X.L.D. și V.B.R.P. Kristensen.

REZULTATE

Se notează aspectul coloniilor:
Escherichia coli: roz-roșu, 1-2 mm în diametru, cu halou de precipitat (majoritatea tulpinilor sunt inhibate).
Shigella sonnei: incolor-roz pal (degradare slabă a lactozei).
Shigella flexneri: incolor-roz pal, cu centrul rotund.
Salmonella paratyphi B: roz pal-incolor după 18 ore, ușor opace cu centrul negru după 48 de ore.
Salmonella typhi: incolor-roz pal după 18 ore, ușor opace cu centru gri după 48 de ore.
Alte *Salmonella* H₂S pozitive: egal cu *S. paratyphi B*.
Proteus: egal cu *Salmonella* sau *Shigella*, strălucitor cu centru negru și miros caracteristic.

LIMITE ȘI PRECAUȚII

Microorganismele lactozo-pozitive cresc sub formă de colonii roz cu halou format din precipitatul acidului dezoxicolic.

Coloniile microorganismelor lactozo-negative sunt incolore. Mediul poate precipita la rece. Din această cauză se recomandă a nu fi păstrat la o temperatură între 2-8°C.

BIBLIOGRAFIE

1. Hynes M. 1942. The isolation of intestinal pathogens by selective media. J. Pathol. Bacteriol. 54:193-207.

AMBALARE

Mediul deshidratat

(A se păstra între 1 și 30°C)

140101A: Flacon de 500 g

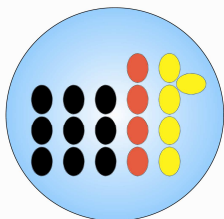
Mediul gata preparat

(A se păstra între 15 și 25°C)

110101: Cutie cu 20 de plăci de 90 mm Ø

130101: Cutie cu 3 sticle de 200 ml

120176: Cutie cu 32 tuburi de 7 ml



mikrobiologie labor technik

A.D.C.L. (HYNES)

PRINCIPLE

A.D.C.L. (Desoxycholate-Citrate-Lactose-Agar) is a selective medium for isolation of *Salmonella* and *Shigella*. High levels of desoxycholate and citrate allow to inhibit the growth of Gram positive bacteria and partially those of a lot of Enterobacteria. The fermentation of lactose induces an acidification and a colour change of the neutral red. The reduction of thiosulfate is revealed by ferric ions in black iron sulphide form.

FORMULA

Component	g/l
Polypeptone	5.00
Meat extract	5.00
Sodium citrate	8.50
Sodium desoxycholate	5.00
Lactose	10.00
Ferric ammonium citrate	1.00
Neutral red	0.02
Sodium thiosulfate	5.40
Agar	12.00
Final pH : 7.4 ± 0.2 at 25°C	

PREPARATION

Pour 52 g of powder in one litre of purified water. Bring slowly to the boil under agitation until complete dissolution. Maintain the boiling during one minute. **DO NOT AUTOCLAVE.**

PROCEDURE

When the medium is liquefied, cool to 47 ± 2°C and dispatch into sterile Petri plates.

Culture of stools :

Inoculate 2 plates from suspensions prepared with stools. Inoculate at the same time sodium selenite broth and Muller Kauffmann medium and incubate for 24 hours at 37°C.

Detection of *Salmonella* in pharmaceutical products

Inoculate 10 g of product to be tested in 100 ml of lactose broth for 5 to 24 hours at 37°C. Take 10 ml of this pre-culture and inoculate 100 ml of T.B.G. broth. Incubate 18-24 hours at 42-43°C and realize subcultures on 2 media among : D.C.L., X.L.D. and V.B.R.P. Kristensen.

RESULTS

Note the appearance of the colonies.

Escherichia coli : pink to red, 1 to 2 mm diameter, with halo of precipitation (nevertheless, most of strains are inhibited).

Shigella sonnei : colourless to pale pink (low degradation of lactose).

Shigella flexneri : colourless to pale pink, with rounded centre.

Salmonella Paratyphi B : colourless to pale pink after 18 hours, slightly opaque with black centre after 48 hours.

Salmonella Typhi : colourless to pale pink after 18

hours, slightly opaque with grey centre after 48 hours.

Others *Salmonella* H₂S + : equal to *S. Paratyphi B*.

***Proteus* :** equal to *Salmonella* or *Shigella*, brilliant with black centre and characteristic odour.

LIMITS AND PRECAUTIONS

Lactose + micro-organisms grow as pink colonies with a halo of precipitation of desoxycholic acid.

Colonies of lactose - micro-organisms are colourless. This medium may precipitate

with the cold. So it is advised not to store it between 2 and 8°C.

BIBLIOGRAPHY

1. Hynes M. 1942. The isolation of intestinal pathogens by selective media. J. Pathol. Bacteriol. 54:193-207.

PACKAGING

Dehydrated medium

(To be stored between 1 and 30°C)

140101A: Flask of 500 g

Ready to use medium

(To be stored between 15 and 25°C)

130101: Pack of 3 flasks of 200 ml

110101: Pack of 20 plates of 90 mm Ø

120175: Pack of 32 tubes of 7 ml