

Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes

(Leifson-Nährboden, modifiziert nach Hynes)

Art.-Nr. CM 227

Zur Isolierung von Salmonellen und Shigellen.
Der Nährboden entspricht den Empfehlungen der DGHM¹.

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Fleischextrakt 'Lab-Lemco'	5,0
Pepton	5,0
Lactose	10,0
Natriumcitrat	8,5
Natriumthiosulfat	5,4
Eisen(III)-ammoniumcitrat	1,0
Natriumdesoxycholat	5,0
Neutralrot	0,02
Agar	12,0
pH 7,3 ± 0,2	

Zubereitung

52 g Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes in 1 l Aqua dest. suspendieren und vorsichtig bis zum vollständigen Lösen erhitzen, dabei regelmäßig schwenken oder rühren. NICHT AUTOKLAVIEREN UND ÜBERHITZEN VERMEIDEN! Gut mischen und sofort Platten gießen. Platten vor Verwendung trocknen.

Beschreibung

Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes ist ein verbesserter Nährboden zur Isolierung von Salmonellen und Shigellen, der von Hynes² aus dem Leifson-Nährboden entwickelt wurde. *Shigella* spp. bildet auf dem verbesserten Nährboden zahlreiche und größere Kolonien. Die Kolonien können leicht von der Platte genommen und in physiologischer Kochsalz-Lösung suspendiert für Objektträger-Agglutinationen eingesetzt werden.

Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes ist selektiver als der nach Leifson. Insbesondere wirkt Desoxycholat-Citrat-Agar nach Hynes hemmender auf das Wachstum coliformer Keime und *Proteus* spp.

Kulturverfahren

1. Den Nährboden kräftig mit Faeces oder rektalem Abstrichmaterial beimpfen. In einigen Teilbereichen sollten Einzelkolonien entstehen können.
2. 18-24 Stunden bei 36°C bebrüten.
3. Falls die Kolonien langsam wachsen oder keine Lactose-negativen Kolonien gefunden werden, sollte weitere 24 Stunden bebrütet werden. *Escherichia coli* wächst auf diesem Nährboden nicht, kann aber überleben. Die Reinheit der Kolonien sollte daher durch Subkultur auf einem weniger hemmenden Differentialnährboden wie z.B. auf MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 7) überprüft werden. Serologische oder biochemische Tests können dann mit nahezu reinen Kulturen durchgeführt werden.

Koloniemorphologie

Der Nährboden ist klar und blaßrosa.

Lactose-positive Keime bilden rosafarbene Kolonien und können von einer Zone mit Desoxycholatsäure-Präzipitaten umgeben sein, die auf Säurebildung zurückzuführen ist.

Die Kolonien Lactose-negativer Keime sind farblos und aufgrund ihrer alkalischen Reaktion von einer klaren, orangefarbenen Zone umgeben.

Escherichia coli

Die meisten Stämme werden gehemmt; einige bilden rosafarbene, konkave Kolonien (Ø 1-2 mm) und können von einer Präzipitations-Zone umgeben sein.

Aerogenes-Kolonien sind gewölbt und schleimig.

Shigella sonnei

Nach 18 Stunden Bebrütung bilden sich Kolonien (Ø 1 mm), die nach 36 Stunden 2 mm groß sind. Sie sind glatt und anfangs durchsichtig, nach weiterer Bebrütung blaßrosa infolge später Lactose-Verwertung.

Shigella flexneri

Farblose Kolonien mit ähnlicher Erscheinung wie *Shigella sonnei*, oft jedoch mit flachem Saum und gewölbtem Zentrum.

Salmonella typhi

Nach 18 Stunden Bebrütung bilden sich blaßrosa Kolonien, Ø 0,25-1 mm. Nach 2 Tagen sind sie flach, konisch, farblos, mehr oder weniger durchsichtig und zeigen oft ein graues Zentrum.

Salmonella paratyphi B

Nach 18 Stunden Bebrütung bilden sich Kolonien (Ø 1 mm), die am zweiten Tag 2-4 mm groß sind. Sie sind gewölbt, mehr oder weniger durchsichtig und haben ein schwarzes Zentrum.

Andere Salmonellen

Ähnliche Kolonien wie *S. paratyphi* B.

Lactose-positive Organismen wie *Proteus* und *Pseudomonas* spp.

Wachsen auf diesem Nährboden und bilden ähnliche Kolonien wie Salmonella und Shigella. Kolonien von *Proteus* haben einen großen, zentralen, schwarzen Punkt und 'Fischgeruch'.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Der Nährboden sollte frisch zubereitet verwendet werden.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Salmonella typhimurium ATCC 14028

Shigella sonnei ATCC 25931

Negativkontrolle

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Zusätzliche Hinweise

Stammkulturen von *Shigella* spp. können vorherrschend in der R-Phase auftreten, wenn sie von Desoxycholat-Nährböden subkultiviert werden. Es ist schwierig, solche Kulturen für Kontrollen zu verwenden. Sie sollten vorher großzügig z.B. auf Desoxycholat-Citrat-Agar ausgestrichen werden und die wenigen S-Kolonien, d.h. die Makrokolonien, sollten für die weitere Subkultivierung verwendet werden.

Falls biochemische Nachweise mit Kolonien vom Desoxycholat-Agar durchgeführt werden, sollte die Reinheit der Kolonien durch Subkultur auf einem weniger hemmenden Nährboden wie z.B. MacConkey-Nährboden (OXOID, Art.-Nr. CM 7) überprüft werden. Diese Subkultivierung ist notwendig, da die gesuchten Kolonien noch Mikrokolonien von *Escherichia coli* enthalten könnten.

Literatur

1. DGHM (Lieferung 2, 1983) "Verfahrensrichtlinien für die Mikrobiologische Diagnostik". Kap. 2.1, S. 19.
2. Hynes, M. (1942) J. Pathol. Bacteriol. 54, 193-207.