

Descriere:

Invenția se referă la medicină, anume la microbiologie, și poate fi utilizată la stabilirea diagnosticului microbiologic al tuberculozei.

La etapa actuală o largă utilizare în diagnosticul de laborator al tuberculozei o au mediile nutritive Levenștein-Iensen și Fin-2.

Mediul Levenștein-Iensen include următoarele componente: fosfat monopotasic - 2,4 g, sulfat de magneziu - 0,24 g, citrat de magneziu - 0,6 g, asparagină - 3,6 g, glicerol - 12 ml, făină de cartofi - 30,0 g, masă de ou - 1000 ml, soluție de 2% de verde de malahit - 20,0 ml, apă distilată - 600,0 ml [1].

Acest mediu însă este puțin sensibil, deoarece nu permite depistarea exhaustivă a tulpinilor cu un metabolism diminuat izolate de la bolnavii cu tuberculoză cronică sau după un tratament îndelungat cu preparate chimioterapice antituberculoase.

Mediul Fin-2 conține următoarele componente: fosfat monopotasic - 10,0 g, sulfat de magneziu - 0,25 g, citrat de sodiu - 0,5 g, citrat de fier amoniacal - 0,02 g, citrat de amoniu - 2,5 g, glutaminat de sodiu - 5,0 g, glicerol - 10,0 ml, soluție de 2% de verde de malahit - 20,0 ml, masă de ou - 1000,0 ml, apă distilată - 500,0 ml [2].

Dar în acest mediu nu se dezvoltă unele tulpini de micobacterii cu capacitate vitală diminuată.

Totodată, prepararea mediilor sus-numite devine tot mai dificilă. Aceasta se explică prin faptul că mediile în cauză conțin unele componente deficitare și foarte costisitoare, cum sunt asparagina și glutaminatul de sodiu.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este majorarea sensibilității mediului și sporirea eficacității metodei microbiologice de depistare a micobacteriilor de tuberculoză.

Problema formulată se rezolvă prin aceea că în calitate de sursă de azot pentru nutriția micobacteriilor la prepararea mediului se utilizează un amestec de aminoacizi obținut prin hidroliza deșeurilor de la întreprinderile de prelucrare a cărnii cu un conținut de azot total și azot aminic de 13,2% și, corespunzător, 10,7%, și concentrat vitaminos alimentar "Ammivit", ceea ce duce la o ameliorare semnificativă a calității mediului.

Esența invenției constă în aceea că se propune un mediu pentru cultivarea micobacteriilor de tuberculoză cu următorul conținut al componentelor (g/l):

dihidrofosfat de potasiu	4,0-5,3
sulfat de magneziu	0,067-0,2
citrat de fier amoniacal	0,013-0,2
amestec de aminoacizi hidrolizati	2,7-4,0
masă de ou	666,7 ml/l
concentrat vitaminos alimentar	
"Ammivit"	0,33 ml/l
glicerol	6,6 ml/l
soluție de 2% de verde de malahit	6,6 ml/l
apă distilată	restul.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea sensibilității mediului pentru micobacteriile de tuberculoză.

În scopul studierii unor astfel de parametri importanți, cum ar fi sensibilitatea, viteza de creștere, intensitatea creșterii, care caracterizează calitatea mediului, s-au efectuat paralel 1136 de însămânțări pe mediile propus, Levenștein-Iensen și Fin-2.

Rezultatele obținute sunt prezentate în tabel.

Mediul	Nr. de tulpini	% de izolare*
Propus	170	97,1
Levenștein-Iensen	124	70,9
Fin-2	159	90,9

* Ca 100% a fost luat numărul de tulpini de micobacterii obținute în total pe toate mediile în urma însămânțării a 1136 de produse patologice și care constituie 175 de culturi.

Așadar, pe mediul propus au fost obținute cu 46 de culturi mai mult decât pe mediul Levenștein-Iensen și cu 11 culturi mai mult decât pe mediul Fin-2. Deci, folosind mediul propus, s-au depistat cu 37,1% mai mulți eliminatori de germeni de tuberculoză decât pe mediul Levenștein-Iensen și cu 7,0% mai mulți decât pe mediul Fin-2.

După viteza și intensitatea de creștere a micobacteriilor mediul propus se află la un nivel cu mediul Fin-2 și are un avantaj față de mediul Levenștein-Iensen. După 14 zile de incubație pe mediile propus și Fin-2 au fost depistate câte 10 tulpini, iar pe mediul Levenștein-Iensen numai o tulpină. După 3 și 4 săptămâni de incubație pe mediile propus și Fin-2 s-a evidențiat creșterea micobacteriilor în 35 și 69 de cazuri; pe mediul Levenștein-Iensen numai în 11 și, respectiv, 40 de cazuri. Așadar, analizând termenele de creștere a micobacteriilor pe diverse medii nutritive, s-a constatat că mediul propus se află la un nivel cu mediul Fin-2 și are un avantaj de 1-2 săptămâni față de mediul Levenștein-Iensen.

După intensitatea de creștere mediul propus este, de asemenea, superior mediilor Levenștein-Iensen și Fin-2. Spre exemplu, pe mediul propus o creștere confluentă (peste 100 de colonii) s-a evidențiat în 43 de cazuri (25,3%); pe mediile Levenștein-Iensen și Fin-2 în 34 (21,4%) și, corespunzător, 22 (17,7%) de cazuri.

Analizând cele expuse mai sus, se poate concluziona că mediul nutritiv propus pentru cultivarea micobacteriilor de tuberculoză după toți parametri studiați este superior mediului Levenștein-Iensen și se află la același nivel sau după unii parametri este superior mediului Fin-2.

În plus mediul elaborat avantajează evidențierea unor tulpini de micobacterii care nu cresc pe alte medii, deci el are o sensibilitate sporită față de mediile Levenștein-Iensen și Fin-2.

Exemplu de realizare a invenției

Prepararea soluției de săruri. Ingredientele se dizolvă în apă distilată pe o baie de apă în următoarea ordine: fosfat monopotasic - 7,0 g, sulfat de magneziu - 0,2 g, citrat de fier amoniacal - 0,025 g, "Ammivit" - 0,5 ml, amestec de aminoacizi hidrolizat - 5,0 g, glicerol - 10,0 ml, apă distilată - până la 500,0 ml. Soluția de săruri se sterilizează în autoclavă la 1 atm. timp de 30 min.

Prepararea masei de ou. Ouăle se spală cu săpun cu o perie. Se usucă pe un tifon curat, apoi se tratează cu soluție de 0,05% de clorhexidină timp de 10 min. Se usucă pe un tifon steril, după care se sparg și se toarnă într-o colbă sterilă cu bile de sticlă. După fiecare ou colba se agită bine. La 1000 ml de amestec de ou se adaugă 10 ml de soluție de 2% de verde de malahit. Se filtrează prin câteva straturi de tifon steril.

După autoclavare soluția de săruri (500,0 ml) se răcește și se adaugă la masa de ou cu verde de malahit (1010 ml). Se agită energetic cu ajutorul unui mixer cu palete sterile. Se lasă în repaus timp de o oră, apoi se toarnă în eprubete sterile a câte 5,0 ml. Se coagulează la aparat de coagulare timp de 30 min la temperatura de 85°C sub un unghi de 45° pentru formarea unei suprafețe în pantă.

Mediul astfel preparat se folosește pentru cultivarea micobacteriilor de tuberculoză.

Au fost efectuate paralel 1136 de însămânțări pe mediile propus, Levenștein-Iensen și Fin-2.

Fiecare probă a fost însămânțată în 6 tuburi (câte 2 tuburi de fiecare mediu luat în studiu) cu incubare la 37°C timp de 90 de zile, fiind examinate regulat la un interval de 7 zile.

La finele studiului s-au constatat următoarele rezultate. Din 1136 de însămânțări au fost obținute 175 de tulpini de micobacterii de tuberculoză, dintre care pe mediul propus 170 (97%), pe mediul Levenștein-Iensen 124 (70%) și pe mediul Fin-2 159 (90,9%) culturi.