

**Descriere:**

Invenția se referă la microbiologia medicală și poate fi utilizată pentru indicarea expresă a *Bacillus cereus*.

După esența tehnică mai aproape este procedeul de izolare și diagnostic prezumtiv al *Bacillus cereus*, utilizând mediul cu telurită [1], ce presupune mai întâi prepararea mediului nutritiv cu agar pentru cultivarea *Bacillus cereus*, care include suplimentar sarea acidului teluric, glicină și polimixină în cantități suficiente pentru inhibarea creșterii majorității bacteriilor asemănătoare cu *Bacillus cereus*. Apoi pe suprafața mediului nutritiv cu agar se însămânțează și se cultivă proba la temperatura de 37°C timp de 24 ore și mai mult, după aceea se izolează *Bacillus cereus* și se determină prezența acestor bacterii.

Dezavantajul procedeului cunoscut este durata mai îndelungată de indicare a *Bacillus cereus* (peste 24 ore), sensibilitatea insuficientă și durata mică de păstrare a mediului cu telurită.

Procedeul nu permite indicarea *Bacillus cereus* în concentrații inițiale mici ( $10^1 - 10^5$  c.m./ml) într-o perioadă mică (până la 7-9 ore).

Introducerea în compoziția mediului a sării acidului teluric, a glicinei și a polimixinei reduce sensibilitatea și face procedeul mai costisitor.

Mediul nutritiv cu agar se prepară extemporaneu, deoarece se păstrează până la 2 săptămâni la temperaturi joase.

Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în urgentarea procedeului de indicare a *Bacillus cereus* și sporirea sensibilității.

Esența invenției constă în aceea că procedeul de indicare a *Bacillus cereus* include însămânțarea materialului studiat în mediul nutritiv, incubarea ulterioară a însămânțărilor și indicarea bacteriilor necunoscute, în care însămânțarea se efectuează în mediul nutritiv ce conține bulion nutritiv uscat, gelatină, clorură de sodiu, glucoză, zaharoză, hidrogenofosfat de potasiu, dihidrogenofosfat de sodiu și apă, în următorul raport al ingredientelor, în mg/ml:

bulion nutritiv uscat	15,00-22,50
gelatină	8,75-10,00
clorură de sodiu	112,50-127,50
glucoză	20,00-25,00
zaharoză	2,25-12,25
hidrogenofosfat de potasiu	8,875-9,50
dihidrogenofosfat de sodiu	6,75-7,25
apă	restul,

uscat la temperatura de 45°C și sterilizat în raze ultraviolete timp de două ore, iar incubarea se efectuează timp de nouă ore.

Rezultatul tehnic al invenției constă în urgentarea procedeului, datorită folosirii mediului nutritiv uscat, în care bulionul nutritiv uscat și glucoza fac posibilă ameliorarea creșterii și a înmulțirii *Bacillus cereus* și totodată în sporirea sensibilității procedeului, datorită introducerii în componența mediului a clorurii de sodiu.

Noutatea invenției constă în aceea că însămânțarea materialului studiat se efectuează în mediul nutritiv care conține bulion nutritiv uscat, gelatină, clorură de sodiu, glucoză, zaharoză, hidrogenofosfat de potasiu, dihidrogenofosfat de sodiu și apă, în următorul raport al ingredientelor, în mg/ml: bulion peptonat uscat 15,00-22,50, gelatină 8,75-10,00, clorură de sodiu 112,50-127,50, glucoză 20,00-25,00, zaharoză 2,25-12,25, hidrogenofosfat de potasiu 8,875-9,50, dihidrogenofosfat de sodiu 6,75-7,25, apă distilată - restul, uscat la temperatura de 45°C și sterilizat în raze ultraviolete timp de două ore, iar incubarea se efectuează timp de nouă ore.

Bulionul peptonat și glucoza se introduc în calitate de substanțe nutritive, care favorizează creșterea și multiplicarea; împreună cu gelatina, zaharoza și glucoza formează o peliculă hidrofilă solubilă ce stabilizează și mărește durata de păstrare a mediului.

Tamponul fosfatic creează condiții optime de multiplicare a *Bacillus cereus*.

Clorura de sodiu inhibă creșterea și multiplicarea altor microorganisme, asigurând proprietățile selective ale mediului nutritiv.

Procedeul permite efectuarea indicării *Bacillus cereus* timp de 7-9 ore numai în cazul utilizării mediului nutritiv selectiv uscat care conține toate ingredientele (tab. 1) în limitele indicate (tab. 2). Procedeul permite indicarea celulelor microbiene unice de *Bacillus cereus* într-un ml (g) material de analizat în 7-9 ore (tab. 3), deoarece alte culturi microbiene nu cresc pe mediul propus, ceea ce confirmă selectivitatea și sensibilitatea lui.

Flacoanele în volum de 10 ml permit formarea mediului nutritiv selectiv uscat, asigură sterilitatea și păstrarea îndelungată și totodată este un volum folosit pentru indicarea *Bacillus cereus*.

Utilizarea compoziției propuse a mediului și procedeul de preparare a ei asigură urgentarea procedeului de indicare, datorită introducerii în componența mediului a bulionului nutritiv uscat și a glucozei, care ameliorează creșterea și înmulțirea *Bacillus cereus* și totodată sporirea sensibilității datorită introducerii clorurii de sodiu în componența mediului.

În limitele indicate ale ingredientelor au fost obținute medii cu caracterele descrise cu proprietăți identice (tab. 2).

Toate variantele indicate în tabelul 2 se efectuează analogic celui descris.

**Exemplu:** Pentru efectuarea procedeului, mai întâi se prepară mediul nutritiv selectiv uscat, fapt pentru care în 35,0 ml de apă distilată la temperatura de 60-80°C se dizolvă 6,75 g clorură de sodiu, 1,0 g glucoză, 0,1 g zaharoză, 5,0 ml bulion peptonat de 20%, 5,0 ml gelatină de 10%, 0,4172 g hidrogenofosfat de potasiu și 0,3136 g dihidrogenofosfat de sodiu. Astfel se obține substratul nutritiv, care se introduce câte 0,8 ml în flacoane, se usucă la temperatura de 37-45°C și se sterilizează în raze ultraviolete 1,5-2 ore, se închid cu dopuri de gumă sterile, apoi cu căpăcele metalice și se păstrează la temperatura camerei.

Mediul nutritiv selectiv uscat obținut în formă de peliculă cristalizată în flacoane se folosește pentru indicarea *Bacillus cereus*. Pentru aceasta în flaconul cu mediul nutritiv se introduc 2,0 ml de apă distilată sterilă, apoi materialul analizat se incubează la temperatura de 37°C timp de 7-9 ore. În cazul prezenței *Bacillus cereus* în materialul analizat mediul se tulbură și apare sediment.

Timpul indicării *Bacillus cereus* depinde de concentrația inițială într-un ml (g) material de analizat.

Indicația 10-100 c.m./ml (g) este posibilă peste 9 ore, iar 1 mlrd. și mai mult de c.m./ml (g) peste 3-5 ore de incubare (tab. 4).

Procedeul propus permite indicarea *Bacillus cereus* într-un termen redus, iar mediul cu ajutorul căruia se efectuează indicarea este mai sensibil și se păstrează 12 luni (tab. 5).

Tabelul 1  
Influența ingredientelor mediului la indicarea *Bacillus cereus*

Componentele mediului	Variantele componenței mediului și rezultatele indicării							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Bulion peptonat uscat	-	+	+	+	+	+	+	+
Gelatină	+	-	+	+	+	+	+	+
Clorură de sodiu	+	+	-	+	+	+	+	+
Glucoză	+	+	+	-	+	+	+	+
Zaharoză	+	+	+	+	-	+	+	+
Hidrogenofosfat de potasiu	+	+	+	+	+	-	+	+
Dihidrogenofosfat de sodiu	+	+	+	+	+	+	-	+
Indicarea peste 9 ore a <i>Bacillus cereus</i>	Nu	Nu	Da	Nu	Da	Nu	Nu	Da
Indicarea peste 9 ore a altor bacterii	Nu	Nu	Da	Da	Da	Da	Da	Nu

Tabelul 2  
Sensibilitatea mediului la indicarea *Bacillus cereus* în funcție de componența cantitativă a ingredientelor

Exemplu	Bulion peptonat uscat, mg/ml	Gelatină, mg/ml	Clorură de sodiu, mg/ml	Glucoză, mg/ml	Zaharoză, mg/ml	Hidrogeno-fosfat de potasiu, mg/ml	Dihidrogenofosfat de sodiu, mg/ml
1	15,00	8,75	112,50	20,00	2,25	8,875	6,75
2	18,00	9,00	115,00	21,00	5,00	9,00	6,85
3	20,00	9,50	120,00	22,50	7,25	9,15	7,00
4	21,00	9,75	125,00	24,00	10,00	9,25	7,15
5	22,50	10,00	127,50	25,00	12,25	9,50	7,25

Tabelul 3  
Viteza și sensibilitatea indicării *Bacillus cereus* prin procedeul propus și cel cunoscut

Genul și specia microbilor	Concentrația microorganismelor într-un ml material analizat și indicarea peste 9 ore de incubație la 37°C															
	Procedeul propus								Procedeul cunoscut							
	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>	10 <sup>8</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>1</sup>
<i>Bacillus cereus</i> 277	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> 279	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> 51	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> 280	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> 22	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Bacillus cereus</i> K	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>E.coli</i> M-17	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>E.coli</i> 055	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>P.mirabilis</i> 247	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>P.vulgaris</i> 59	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S.typhi murium</i> 1026	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>Providencia</i> 80	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>P.aeruginosa</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S.aureus</i> 289-P	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>S.sonnei</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Tabelul 4  
Timpul indicării *Bacillus cereus* în funcție de concentrația microorganismelor în materialul analizat

Concentrația materialului analizat în 1 ml (g)	Timpul indicării, ore										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	24	
10 <sup>1</sup>	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	
10 <sup>2</sup>	-	-	-	-	-	-	-	+	++	+++	
10 <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++	
10 <sup>4</sup>	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++	
10 <sup>5</sup>	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	
10 <sup>6</sup>	-	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	
10 <sup>7</sup>	-	-	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	
10 <sup>8</sup>	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
10 <sup>9</sup>	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

Tabelul 5

Durata păstrării calităților nutritive și sterilității mediului nutritiv pentru indicarea *Bacillus cereus*

Intervalul observărilor	Timpul indicării <i>Bacillus cereus</i> în concentrațiile inițiale 1-10 c.m. ml (g), ore									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	24
30 de zile	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++
3 luni	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++
6 luni	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++
9 luni	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++
12 luni	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++