

Descriere:

Invenția se referă la microbiologia medicală, în special, la mediile pentru cultivarea microorganismelor și poate fi utilizată în practica de laborator pentru izolarea streptococilor.

În prezent sunt cunoscute următoarele medii de izolare a streptococilor: geloză-sânge de 5%, mediul de izolare a hemoculturilor și cultivarea streptococilor, mediul de diagnostic diferențial al streptococilor, bulion zaharat, geloză-ser [1]. Dezavantajul mediilor indicate constă în faptul că la înșămânțarea materialului cercetat împreună cu streptococii cresc și stafilococii.

Este cunoscut modul de izolare a culturilor de streptococi prin utilizarea mediului nutritiv de izolare a hemoculturilor și cultivare a streptococilor, introducând adăugător în mediu salicilidentiosemicarbazidatopicolincupru, în cantitate de 0,0025...0,005 g/l [2]. Această substanță inhibă creșterea stafilococilor, totodată pentru streptococi doza de 0,005 g/l e subbacterică, ceea ce provoacă un șir de schimbări morfofuncționale în structura celulară a streptococilor, din care cauză de multe ori nu poate fi utilizată în practica de laborator.

Problema invenției constă în aceea că mediul nutritiv manifestă capacități selective pentru izolarea streptococilor.

Esența ei constă în faptul că se propune un mediu selectiv (în g/l) hidrolizat fermentativ al eritrocitelor sângelui omului - 18; extract de drojzii - 5,0; α -glutamină -0,25; glucoză - 2,5; clorură de sodiu - 3,0; acetat de sodiu - 1,0; hidrogenofosfat de sodiu - 7,25; naftalidentiosemicarbazidatopicolincupru - 0,0008...0,02 și apă distilată - restul.

Pentru investigații au fost folosite tulpinile: *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* (tulpinile Wood 46, Smith, Cowan-1 și 209), *Staphylococcus epidermidis* (tulpina 42-a), la fel și tulpinile depistate de la purtători. Doza de înșămânțare e de 500 mii și 1 mln. de microorganisme, conform standardului optic de opalescență. Creșterea microorganismelor are loc la temperatura de 37°C timp de 18...34 de ore în termostat. După incubare se reînșămânțează pe geloză-sânge. Peste 24 de ore se stabilește prezența sau lipsa creșterii microorganismelor în mediu.

Rezultatul tehnic al invenției constă în majorarea capacității selective a mediului nutritiv. El se bazează pe proprietățile selective de inhibiție a creșterii stafilococilor naftalidentiosemicarbazidatopicolincuprului și nu influențează asupra culturii de streptococi. Aceasta permite de a obține practic cultură pură de streptococi deja la prima etapă de investigare a materialului cercetat.

Pentru confirmarea proprietăților selective ale mediului nutritiv propus au fost efectuate investigații ale diferitelor doze de substanță selectivă la înșămânțarea monoculturilor și amestecului de microorganisme. Rezultatele obținute sunt expuse în tabel, din care se vede, că dozele agentului selectiv în limitele a 0,0005...0,0008 g/l sunt bactericide pentru stafilococi, iar dozele 0,01-0,04 g/l sunt bactericide pentru streptococi. Respectiv, mediul selectiv propus e de 1,5...2 ori mai activ decât analogul cel mai apropiat privind tulpinile investigate din genul *Staphylococcus* și de 2...4 ori mai puțin activ cu privire la tulpinile din genul *Staphylococcus*. Intervalul de doze propuse 0,0008...0,002 g/l al inhibitorului de creștere a stafilococilor e de 2,7 ori mai mic decât mediul celui mai apropiat analog.

Aceste doze nu schimbă pH-ul mediului nutritiv și componența microelementelor, nu acționează negativ asupra creșterii streptococilor, ceea ce permite folosirea naftalidentiosemicarbazidatopicolincuprului în calitate de inhibitor specific la pregătirea mediilor nutritive pentru izolarea streptococilor.

Tulpinile cercetate	Doza de înșămânțare, microorganisme/ 1 ml de mediu	Concentrația minimă a inhibitorului ce reține creșterea microorganismelor, g/l	
		Mediul nutritiv propus	Mediul nutritiv al celui mai apropiat analog
1. <i>S. aureus</i> (Wood-46)	5·10 ⁵	0,0008	0,00125
2. <i>S. aureus</i> (Smith)	- " -	0,0005	0,00125
3. <i>S. aureus</i> (Cowan)	- " -	0,0008	0,00125
4. <i>S. aureus</i> (209 P)	- " -	0,0005	0,001
5. <i>S. epidermis</i> (42-a)	- " -	0,0005	0,001
6. <i>S. saprophyticus</i>	- " -	0,0008	0,001
7. <i>S. faecalis</i>	- " -	0,025	0,01
8. <i>S. pyogenes</i>	- " -	0,025	0,01
9. <i>S. agalactiae</i>	- " -	0,0125	0,01
10. <i>Streptococcus</i> gr. B nr. 3	- " -	0,01	-
11. <i>Streptococcus</i> gr. B nr. 47	- " -	0,01	-
12. <i>S. faecalis</i> nr. 45	- " -	0,04	-
13. <i>S. faecium</i> nr. 44	- " -	0,02	-
14. <i>S. faecalis</i> nr. 42	- " -	0,04	-
15. <i>Streptococcus</i> gr. B nr. 47	- " -	0,01	-
16. <i>S. aureus</i> (209 P)+ <i>S. faecalis</i> nr. 42	- " -	0,04	-
17. <i>S. aureus</i> (Smith) + <i>Streptococcus</i> gr. B nr. 47	1·10 ⁵ 5·10 ⁵	0,01	-

Metoda de izolare a microorganismelor din genul *Streptococcus* cu folosirea în calitate de bază a diferitelor variante de medii nutritive propuse se realizează astfel: 35 g de praf uscat de mediu nutritiv pentru izolarea streptococilor se dizolvă în 1 l de apă distilată și la foc slab se aduce până la fierbere, apoi se fierbe 1...2 min. Se ia de pe foc, se filtrează prin filtru dublu de hârtie, se toarnă în sticlute și se sterilizează în autoclavă 30 min la temperatura de 112,5°C (0,5 atm). Suspensia de naftalidentiosemicarbazidatopicolincupru (agent selectiv) se dizolvă în dimetilsulfoxid în raport de 10 mg la 1 ml. În mediul nutritiv steril pentru izolarea streptococilor se adaugă agentul selectiv în cantitate de 0,0008...0,002 g/l. Se amestecă bine și se toarnă în tuburi. Materialul microbiologic se înșămânțează în mediul nutritiv pregătit.

Se dau exemple de realizare a invenției.

Exemplul 1. În mediu nutritiv steril pentru izolarea streptococilor se adaugă inhibitor în doză de 0,0008 g/l. Se însămânțează cultura de stafilococi (*S. aureus*, tulpina 209) și streptococi (*S. faecalis*), câte $5 \cdot 10^5$ microorganisme la 1 ml de mediu. Se incubează 24 de ore la temperatura de 37°C în termostat. După incubație se reînsămânțează pe geloză-sânge și crește numai cultură de streptococi.

Exemplul 2. În mediu nutritiv lichid pentru izolarea streptococilor se adaugă geloză-geloză de 2%, se autoclavează și se adaugă inhibitor în proporție de 0,001 g/l. Mediul se toarnă în cutia Petri, apoi se adaugă amestecul de tulpini de stafilococi și streptococi, se ține timp de 24 de ore la temperatura de 37°C în termostat. Crește cultură pură de streptococi.

Exemplul 3. În bulionul zaharat steril se adaugă 0,002 g/l de inhibitor. În mediu se adaugă amestecul de tulpini de stafilococi și streptococi - $5 \cdot 10^5$ microorganisme la 1 ml de mediu. Se incubează timp de 24 de ore la temperatura de 37°C în termostat. Crește cultură pură de streptococi.

Revendicări:

Mediu selectiv pentru identificarea bacteriilor din genul *Streptococcus* care include hidrolizat fermentativ a eritrocitelor sângelui omului, extract de drojdii, α -glutamină, glucoză, clorură de sodiu, acetat de sodiu, hidrogenofosfat de sodiu, inhibitor de creștere și apă distilată, **caracterizat prin aceea că** în calitate de inhibitor de creștere el conține naftalidentiosemicarbazidatopiridincupru în raportul următor al componentelor, în g/l:

hidrolizat fermentativ al eritrocitelor sângelui omului	18
extract de drojdii	5,0
α -glutamină	0,25
glucoză	2,5
clorură de sodiu	3,0
acetat de sodiu	1,0
hidrogenofosfat de sodiu	7,25
naftalidentiosemicarbazidatopiridincupru	0,0008...0,02
apă distilată	restul.