

Descriere:

Invenția se referă la domeniul microbiologiei și anume la crearea mediilor nutritive pentru izolarea și cultivarea microorganismelor din genul *Campylobacter*.

Este cunoscut mediul pentru cultivarea microorganismelor *Campylobacter jejuni/coli* constituit din (% de masă) geloză peptonată 68,2-91,9; extract din drojzii 1,2-22,8; amestec din antibiotice 1,2-1,4 (care include nizoral 1-10 mg/l, rifampicină 4-16 mg/l, cefazolină 9-21 mg/l, polimixină M 2500-7500 U.A./l și sânge defibrinat de berbec restul [1]. Cultivarea campilobacteriilor pe mediul în cauză se face de la 18-24 până la 48 de ore în atmosferă de microaerofilie; evaluarea rezultatelor se face prin capacul de sticlă al cutiei Petri sau direct. Rata de creștere echivalează cu indicele 10^5 Gould pentru 90% de tulpini de *Campylobacter*.

Dezavantajele mediului sunt: intransparența, care condiționează dificultăți atât la însămânțarea concomitentă a câtorva prelevate sau culturi pe o cutie Petri, cât și la evaluarea rezultatelor creșterii, mai ales a celor cantitative; riscul infectării personalului medical din laboratoare cu agenți infecțioși patogeni, transmiși prin intermediul sângelui de origine animală (ai brucelozei etc.) sau de om (ai hepatitelor virale B,C,D, ai SIDA etc.); rata de creștere relativ joasă, echivalentă în mediu cu 10^5 microorganisme/ml după Gould pentru 90% de culturi de campilobacterii.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție constă în obținerea mediului transparent, lichidarea riscului contaminării personalului medical cu agenți microbieni transmiși prin intermediul sângelui și sporirea ratei de creștere a culturilor de campilobacterii.

Esența invenției constă în aceea că mediul pentru cultivarea campilobacteriilor include geloză peptonată, factor de creștere și antibioticele nizoral, rifampicină și cefazolină, în care în calitate de factor de creștere se utilizează extractul din alga *Spirulina platensis* și mediul conține suplimentar antibioticul colimicină, în următorul raport al ingredientelor (% de masă): geloză peptonată - 92,55-97,30; extract din alga *Spirulina platensis* - 2,64-7,25; nizoral - 0,012-0,045; rifampicină - 0,010-0,046; cefazolină - 0,022-0,067; colimicină - 0,012-0,044.

Nou în componența mediului propus este includerea extractului de *Spirulina platensis* de 2,64-7,25% de masă și a antibioticului colimicină de 0,012-0,044% de masă. Includerea în componența mediului a extractului din alga *Spirulina platensis* permite lichidarea sângelui și, prin urmare, a riscului contaminării personalului medical cu agenții patogeni transmiși prin intermediul lui, obținerea mediului transparent, facilitarea însămânțării și a evaluării rezultatelor, sporirea ratei de creștere a mediului. Includerea colimicinei permite sporirea numărului de campilobacterii izolate din prelevatele examinate și reducerea numărului de rezultate nespecifice.

Extractul din alga *Spirulina platensis* este obținut prin cultivarea tulpinii de *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl CALU-835 pe mediul nutritiv mineral nr.16 Gromov prin iluminare constantă la 12-15 mii ergi/cm² x s în primele zile și 18-21 mii ergi/cm² x s în următoarele zile, regim termic de 34-36°C și agitare periodică. În a 5-ea zi de cultivare biomasa de spirulină se separă prin filtrare de lichidul cultural și se spală cu soluție de 1,5% de acetat de amoniu prin eliminarea surplusului de săruri. După spălare biomasa este resuspendată în apă în calcul de 10,0 g/l de substanță uscată și tratată cu ultrasunet de 22 kHz câte 30 s de 5 ori la intervale de 60 s până la dezintegrarea completă a celulelor din alga *Spirulina platensis*. Supernatantul transparent (extractul din alga *Spirulina platensis*) este decantat în condiții aseptice, turnat în flacoane și utilizat la necesitate în calitate de ingredient al mediului pentru cultivarea campilobacteriilor.

Compoziția biochimică a extractului din alga *Spirulina platensis* include proteine și aminoacizi liberi ($\approx 1,25\%$), cât și vitamine din grupurile B,C,E, zaharide reducătoare, acizi nucleici și alți factori de creștere. Microscopic extractul este neomogen, reprezentat prin microparticule de mucoproteide cu diametrul de 1-5 μm . Are o culoare abia albăstruie-verzuie. Compoziția biochimică permite extractului din alga *Spirulina platensis* să asigure necesitățile nutritive ale campilobacteriilor, iar microparticulele de mucoproteide să adere la produsele toxice ale metabolismului lor.

Colimicina față de care majoritatea tulpinilor de *Campylobacter* sunt rezistente și care posedă o acțiune orientată asupra *E.coli* din flora de asociație permite sporirea numărului de campilobacterii izolate din prelevatele examinate și concomitent reducerea numărului de rezultate nespecifice.

Invenția se realizează prin următoarele 3 exemple, realizate respectiv la valori minime, medii și maxime ale ingredientelor în general, ale extractului din alga *Spirulina platensis* și ale colimicinei în special.

Exemplul 1

Într-un flacon steril se introduc succesiv, în % de masă: 97,3 geloză peptonată topită și 2,64 de extract din alga *Spirulina platensis*. Conținutul se amestecă și se sterilizează în autoclavă la 0,5 atm și temperatura de 112°C timp de 15-20 min. După răcirea conținutului până la 50°C în flacon se adaugă în condiții aseptice antibioticele în cantități, reieșind din calculele obținerii următoarelor concentrații finale ale lor în mediul gata, în % de masă: nizoral 0,012; rifampicină 0,010; cefazolină 0,022 și colimicină 0,012. După agitarea flaconului timp de 1-2 min mediul de cultură este gata. Se toarnă imediat în cutii Petri sterile. Cutiile se mențin la frigider de la 14 zile până la o lună.

Exemplul 2

Într-un flacon steril se introduc succesiv, în % de masă: 95,73 de geloză peptonată topită și 4,16 de extract din alga *Spirulina platensis*. Conținutul se amestecă și se sterilizează în autoclavă la 0,5 atm și temperatura de 112°C timp de 15-20 min. După răcirea conținutului până la 50°C în flacon se adaugă în condiții aseptice antibioticele în cantități, reieșind din calculele obținerii următoarelor concentrații finale ale lor în mediul gata, în % de masă: nizoral 0,025; rifampicină 0,024; cefazolină 0,037 și colimicină 0,024. După agitarea flaconului timp de 1-2 min mediul de cultură este gata. Se toarnă imediat în cutii Petri. Cutiile se mențin la frigider de la 14 zile până la o lună.

Exemplul 3

Într-un flacon steril se introduc succesiv, în % de masă: 92,55 de geloză peptonată topită și 7,25 de extract din alga *Spirulina platensis*. Conținutul se amestecă și se sterilizează în autoclavă la 0,5 atm și temperatura de 112°C timp de 15-20 min. După răcirea conținutului până la 50°C în flacon se adaugă în condiții aseptice antibioticele în cantități, reieșind din calculele obținerii următoarelor concentrații finale ale lor în mediul gata, în % de masă: nizoral 0,045; rifampicină 0,046; cefazolină 0,067 și colimicină 0,044. După agitarea flaconului timp de 1-2 min mediul de cultură este gata. Se toarnă imediat în cutii Petri sterile. Cutiile se mențin la frigider de la 14 zile până la o lună.

Dependența gradului de transparență a mediului și a ratei de creștere a campilobacteriilor de cota extractului din alga *Spirulina platensis* în mediu, cât și rata de creștere a campilobacteriilor pe mediul celui mai apropiat analog sunt prezentate în tabel.

Rezultatul tehnic al invenției constă în aceea că includerea în mediul pentru cultivarea campilobacteriilor a extractului în alga *Spirulina platensis* și a colimicinei permite obținerea transparenței mediului de cultură și a facilității procedeelelor de însămânțare a prelevatelor și evaluarea rezultatelor, mai ales a celor cantitative; lichidarea riscului infectării personalului medical cu agenți patogeni, transmiși prin intermediul sângelui; sporirea ratei de creștere a campilobacteriilor de la 10^5 până la 10^7 microorganisme după indicele Gould; sporirea numărului de campilobacterii izolate de la 7% în mediu până la 11-13%; reducerea numărului de rezultate nespecifice de la 23% până la 18% și mai puțin.

La cele expuse se mai poate menționa, că și prețul de cost al mediului solicitat este mai redus, tehnologia preparării mai simplă, mai comodă, mai economă și mai rapidă, fără a impune manipulări multiple cu mănuși de o singură întrebuințare, cu veselă suplimentară, fără baie de apă și necesitatea menținerii unei temperaturi stabile etc.

Tabel

Valorile (% de masă) extractului din <i>Spirulina platensis</i> în componența mediului gata		Calitățile mediului:		
		solicitat		celui mai apropiat analog
		Gradul de transparență*	Rata de creștere a Campilobacteriilor** (Indicii Gould)	Intransparent*** (Indicele Gould)
	0,96	++	10^2-10^3	10 ⁵
	1,68	++	10^4-10^5	
minimă	2,64	+++	10^6	
medie	4,16	+++	10^{6-7}	
maximă	7,25	+++	10^7	
	12,61	+++	10^7	
	19,79	++++	10^7	

Notă: * ++ - transparență maximă

+++ - transparență medie (optimă)

++++ - transparență redusă (lectura dificilă);

**Rata de creștere a fost determinată pentru 2 tulpini de referință și 11 tulpini clinice de *Campylobacter*; Indicii Gould respectivi au fost apreciați pentru 90% din tulpinile examinate;

***Intransparența mediului celui mai apropiat analog este condiționată inevitabil de sângele supus încălzirii.