



Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 29 Absatz 1 des Patentgesetzes

ISSN 0433-6461

(11)

1578 64

Int.Cl.³

3(51) C 12 N 1/20

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

(21) WP C 12 K / 221 847

(22) 16.06.80

(45) 15.12.82

(71) HUMBOLDT-UNIVERSITAET ZU BERLIN, BERLIN;DD;

(72) MUELLER, GUNTHER,DR. MED.;DD;

(73) siehe (72)

(74) HUMBOLDT-UNIVERSITAET ZU BERLIN, DIREKT. F. FORSCHG., BFN/P, 1080 BERLIN, UNTER DEN LINDEN 6

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG EINES KULTURMEDIUMS FUER GONOKOKKEN

(57)Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines hochwertigen Gonokokken-Kulturmediums, welches das Ziel hat, unter Verwendung einfacher Ingredienzien eine optimale Gonokokkenkultur zu erreichen. Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, Naehragar geringer Qualitaet durch naehrwertige aber einfache Zusatze wesentlich zu verbessern. Erfindungsgemaess wird dies erreicht, indem ueberlagertes Konservenblut als 10 %iger Zusatz und 2 bis 10 % Hefeextrakt aus gewoehnlicher Baeckerhefe mit 3,7 % Naehragar gemischt werden. Dem Gemisch werden ferner Zusatze von Natriumsulfat, Glucose, Zitronensaure, Adeninsulfat, Guanodin beigefuegt. Zum Schluß erfolgt eine pH-Wert-Einstellung auf 7,4 bis 7,6 mit steriler 0,1 n NaOH.

Titel der Erfindung

Verfahren zur Herstellung eines Kulturmediums für Gonokokken

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung eines festen Kulturmediums für die Isolierung und Kultivierung von *Neisseria gonorrhoeae* (Gonokokken), das als Anzüchtungs-, Kultivierungs- und Transportkultur geeignet ist. Dieses Verfahren kann in allen diagnostischen Labors von medizinischen Einrichtungen zum kulturellen Nachweis von Gonokokken Anwendung finden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Besonderes Charakteristikum der bekannten, international eingesetzten festen Gonokokken-Kulturmedien ist die Verwendung kommerziell geschützter Rezepturen, die sich durch besonders hochwertige Inhaltsstoffe (hochgereinigter Agar-Agar, Peptone von konstant hoher Qualität unbekannter Zusammensetzung, lyophilisiertes Haemoglobin, lyophilisiertes Serum, Supplemente von konstant hoher Qualität unbekannter Zusammensetzung) auszeichnen. Nachteilig sind die hohen technologischen Anforderungen (Reinigung, Extraktion, lyophile Trocknung und Pulverisierung) zur Herstellung dieser wertvollen Inhaltsstoffe, die eine unkomplizierte Nachahmung dieser ausgezeichneten Kulturmedien ⁴³möglich machen. Gleichzeitig sind diese Züchtungsmedien entsprechend kostenintensiv.

Im wesentlichen lassen sich alle eingeführten hochwertigen Gonokokken-Kulturmedien auf die von THAYLER und MARTIN angegebenen Erfahrungen mit BACTO-GC-Agarmedien zurückführen. Dies trifft in gleicher Weise auch für die bekannten modernen Transportmedien ("transgrow") zu, die jedoch auf ein CO₂reiches Milieu angewiesen sind.

Ziel der Erfindung

Ziel der Erfindung ist es, ein Verfahren für die Herstellung eines hochwertigen, in seinem Gebrauchswert den bekannten Lösungen mindestens gleichwertigen sowie eines in seiner Zubereitung technologisch anspruchslosen Gonokokken-Kulturmediums zu entwickeln, das mit einfachen Mitteln in jedem Labor verwirklicht werden kann. Der gleichzeitige Einsatz als Transportmedium wird angestrebt.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Die Aufgabe der Erfindung besteht darin, daß Nähragar geringer Qualität durch nährwertige, aber einfache Zusätze wesentlich verbessert wird.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, indem ein minderwertiger peptonhaltiger Nähragar mit Aqua dest. bis zur Auflösung gekocht und anschließend 30 min bei 121°C autoklaviert wird. Nach Abkühlung des Gemisches auf ca. 45°C wird mindestens 10 % steriles auf ca. 40°C vorgewärmtes, menschliches Blut zugesetzt, welches außer Blutplasma und Erythrozyten ferner

1.32 g Natriumsulfat
2.50 g Glucose
0.048 g Zitronensäure
0.505 g Adeninsulfat und
0.505 g Guanosin

pro 100 ml enthält. Vorzugsweise kann überlagertes menschliches Konservenblut Verwendung finden.

Diesem Gemisch werden 2 bis 10 %, vorzugsweise 5 % vorgewärmter Hefeextrakt zugesetzt und anschließend das Ganze auf einen pH-Wert von 7,4 bis 7,6 mit steriler 0,1 n NaOH eingestellt. Übliche Zusätze von Antibiotika und Antimykotika sind empfehlenswert.

Das erhaltene Medium wird nun entweder in dickwandige kleine Glasröhrchen als Schrägagar gebracht und verschlossen oder in sterile Petrischalen gegossen. Ersteres dient bevorzugt für den Transport und letzteres für die Anzucht und Kultivierung.

Ausführungsbeispiel

37,0 g Nähragar I des Staatlichen Institutes für Immunpräparate und Nährmedien, Berlin, wird in üblicher Weise in 900,0 ml Aqua dest. gekocht und bei 121°C 30 min. autoklaviert, nach Abkühlung auf ca. 45°C mit 100 ml überlagertem sterilem menschlichen Konservenblut, dem enthalten sind

1.32 g Natriumsulfat
2.50 g Glucose
0.048 g Zitronensäure
0.505 g Adeninsulfat
0.505 g Guanosin

im Wasserbad auf ca. 40°C gebracht und gut gemischt sowie mit gleichfalls vorgewärmten 100 ml sterilem Hefeextrakt versetzt und mit steriler 0,1 n Natronlauge auf einen pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt.

Der Hefeextrakt wird hergestellt aus 250 g gewöhnlicher, frischer Bäckerhefe, die fein verrieben und aufgelöst wird in 1 l Aqua dest.; danach 1 Stunde bei 121 bis 134°C autoklaviert. Zur Nachextraktion und zur Sedimentation fester Teilchen eine Woche stehenlassen bei Zimmertemperatur, Überstand danach abgießen, diesen zentrifugieren, sterilfiltrieren, abfüllen in gebrauchsfertige Portionen, einlagern im Kühlschrank oder besser in Tiefkühltruhe bei mindestens -10°C bis zum Gebrauch.

Erfindungsanspruch

Verfahren zur Herstellung eines Kulturmediums für Gonokokken, gekennzeichnet dadurch, daß ein peptonhaltiger Nähragar mit Aqua dest. gekocht, anschließend 30 min. bei 121°C autoklaviert und nach Abkühlung auf 45°C mit mindestens 10 ml sterilem menschlichen Blut mit

1.32 g Natriumsulfat

2.50 g Glucose

0.048 g Zitronensäure

0.505 g Adeninsulfat

0.505 g Guanosin

pro 100 ml und ferner mit 2 bis 10 ml vorgewärmtem Hefeextrakt versetzt sowie mit 0,1 n steriler NaOH auf einen pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt wird.

Erfindungsanspruch

Verfahren zur Herstellung eines Kulturmediums für Gonokokken unter Verwendung der bekannten Nährbodensubstrate Blut, Agar-Agar und Hefeextrakt, die hier in speziellen, auf die Bedürfnisse der Gonokokken eigens abgestimmten Konzentrationen zusammengefügt sind, gekennzeichnet dadurch, daß ein gering peptonhaltiger Nähragar als Grundsubstanz mit Aqua dest. gekocht, anschließend 30 min bei 121 °C autoklaviert und nach Abkühlung auf ca 45 °C mit mindestens 10 ml sterilem menschlichen Blut mit Zusatz von 1,32 g Natriumsulfat, 2,50 g Glukose, 0,048 g Zitronensäure, 0,505 g Adeninsulfat und 0,505 g Guanin je 100 ml sowie ferner mit 2 bis 10 ml Hefeextrakt, der durch Hitzebehandlung bei 121 bis 134 °C und nachfolgende Extraktion bei Raumtemperatur gewonnen wurde, angereichert und mit 0,1 M steriler NaOH auf einen pH-Wert von 7,4 bis 7,6 eingestellt wird.