



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

216 640

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavní priorita
(22) Přihlášeno 23 04 81
(21) PV 3049-81

(51) Int. Cl. C 12 M 1/00

(40) Zveřejněno 31 12 81
(45) Vydáno 01 10 84

(75)

Autor vynálezu

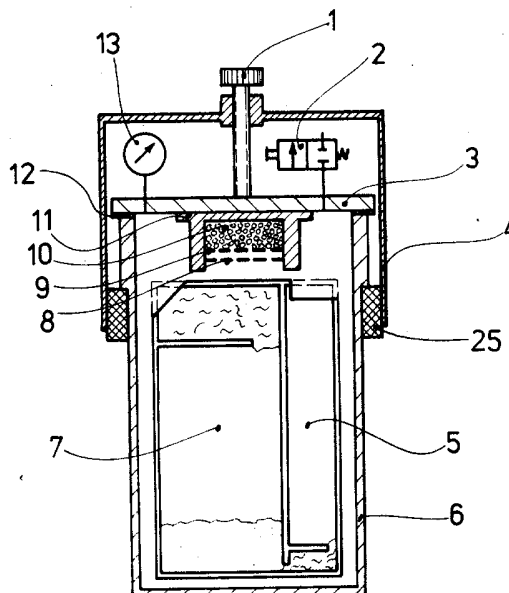
CHRÁSTOVÁ VLADIMÍRA RNDr.

HORNICH MILOŠ MVDr.CSc., BRNO

(54)

Způsob vytvoření standardního prostředí pro kultivaci anaerobních mikroorganismů a k tomu potřebné zařízení

Pro vytvoření standardního prostředí zbaveného kyslíku a obohaceného kyslíčnickem uhličitým ke kultivaci anaerobních mikroorganismů byl navržen chemický způsob, při kterém je směs hořčíku, kyseliny vinné a hydrouhličitánu sodného uváděna do styku s vodou. K tomu potřebné zařízení sestává z generátoru plynů - vodíku a kyslíčnicku uhličitého a bezpečnostního nosiče paládiového katalyzátoru.



Vynález se týká způsobu a zařízení umožňujících vytvoření standardního prostředí zbaveného kyslíku a obohaceného kyslíčnickem uhličitým pro bakteriologickou kultivaci anaerobních mikroorganismů pomocí chemických prostředků.

Kultivace anaerobních mikroorganismů se za současného stavu v našich mikrobiologických laboratořích vyznačuje nestandardními, časově náročnými postupy, které většinou vyžadují použití vakuových vývěv a tlakových nádob se stlačenými plyny a mnohdy nesplňují podmínky pro vytvoření striktně anaerobního prostředí. Zařízení jsou sestavována jen provizorně podle možností pracoviště.

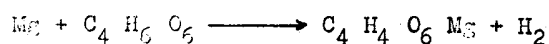
V zahraničí jsou v současné době pro rutinní kultivaci anaerobů používány komerčně dodávané systémy, ve kterých je vytvoření prostředí zbaveného kyslíku a obohaceného kyslíčnickem uhličitým dosaženo pomocí chemických prostředků. Manipulace s těmito systémy je jednoduchá a rychlá, avšak detailní analýzou bylo prokázáno, že v těchto systémech dochází k nestandardní produkci kyslíčnicku uhličitého, způsobené alkalickými zbytky vznikajícími při produkci vodíku reakcí borohydridu sodného s vodou. Standardní množství kyslíčnicku uhličitého je velmi důležité zvláště při testování citlivosti anaerobních bakterií na antibiotika.

K odstranění zmíněného nedostatku směřuje způsob vytvoření standardního, kyslíku zbaveného a kyslíčnickem uhličitým obohaceného prostředí pro kultivaci anaerobních mikroorganismů podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že pevná směs hořčíku, kyseliny vinné a hydrouhličitenu sodného, uložená v prostoru určeném pro kultivaci, izolovatelném od vnějšího okolí, odděleně od katalyzátoru slučovací reakce $2 \text{H}_2 + \text{O}_2 \longrightarrow 2 \text{H}_2\text{O}$, například paládie, který je uložen v témže prostoru, se uvede do styku s vodou. Zařízení, umožňující vytvoření anaerobního prostředí uvedeným způsobem sestává z generátoru plynů pro vývin vodíku a kyslíčnicku uhličitého a z bezpečnostního nosiče katalyzátoru zmíněné slučovací reakce. Generátor plynů i bezpečnostní nosič katalyzátoru jsou umístěny uvnitř vzduchotěsně uzavíratelné nádoby určené pro kultivaci, kterou je například aneeroostat. Generátor plynů je tvořen sáčkem z fólie nepropouštějící vlhkost, rozděleným svislou přepážkou na dva oddíly spojené navzájem otvorem v dolní části přepážky. Prázdný oddíl sáčku, určený k naplnění vodou je ve své dolní části opatřen filtrem, který slouží k řízenému přívodu vody k pevné reakční směsi, uložené v druhém oddílu sáčku. Oddíl obsahující reakční směs je ve své horní části opatřen rovněž filtrem, který slouží k filtraci plynů vystupujících ze sáčku. Bezpečnostní nosič katalyzátoru slučovací reakce představuje kovový válec, jehož dno je tvořeno nejméně dvěma kovovými sítkami, mezi nimiž je vzduchová mezera.

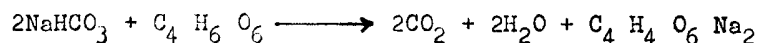
Výsledné složení atmosféry v aneeroostatu dosažené pomocí navrženého zařízení je standardní a plně odpovídá obecným požadavkům anaerobní kultivace. Obsluha je jednoduchá a rychlá. K dosažení aneerobiózy nejsou potřebná jiná pomocná zařízení, odpadá složitá manipulace s tlakovými nádobami a vakuovými vývěvami. Z toho důvodu lze navržený systém použít pro rutinní provoz v každé laboratoři.

Na připojených výkresech je znázorněn příklad provedení zařízení podle vynálezu, kde na obr. 1 je znázorněno celkové uspořádání zařízení v komerčním anaerostatu a na obr. 2 je nakreslen generátor plynů.

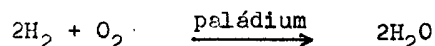
Generátor plynů je sáček z polyethylenové fólie (celkových rozměrů 200 x 155 mm), rozdělený svislou přepážkou 14 na dva oddíly 5 a 7. Spojení mezi oběma oddíly 5 a 7 je umožněno prostřednictvím malého otvoru 18 (šířky 10 mm) v dolní části přepážky 14. Oddíl sáčku 7 (výšky 200 mm, šířky 80 mm), ve kterém vznikají plyny - kysličník uhličitý a vodík - obsahuje dobře promíchanou směs chemikálií 19 - 2,2 g práškového hořčíku, 15,5 g práškové kyseliny vinné a 1,25 g hydrouhličitanu sodného ve formě tablet. V horní části oddílu 7 je vatový filtr 21 (výšky 35 mm) oddělený od prostoru s chemikáliemi vodorovnou přepážkou 20 s otvorem 23 (šířky 15 mm). Druhý oddíl 5 sáčku (výšky 200 mm, šířky 60 mm) je prázdný a je určen k naplnění vodou. V jeho dolní části je také vatový filtr 17 (výšky 20 mm) fixovaný přepážkou 15 s otvorem 16 (šířky 10 mm). Generátor plynů se vkládá do anaerostatu spolu s kulturami bakterií. Vývoj plynů je započat tím, že se odstříhnou oba horní rohy 22 a 24 sáčku a prázdný oddíl 5 se naplní 70 ml vody. Voda protéká přes vatový filtr 17 otvorem 18 ve svislé přepážce 14 do druhého oddílu 7 sáčku, kde rozpouští chemikálie 19, čímž dochází k vývinu plynů. Reakcí hořčíku s kyselinou vinnou vzniká plyný vodík:



Známostou reakcí hydrouhličitanu sodného s kyselinou vinnou se uvolňuje kysličník uhličitý:



Časová prodleva vzniklá průchodem vody přes vatový filtr 17 je určena k uzavření víka 3 anaerostatu. Vytvořené plyny pronikají přes vatový filtr 21 druhým odstřiženým rohem 22 sáčku do vnitřního prostoru anaerostatu. Současně s vývinem plynů probíhá odstranění kyslíku za přítomnosti 25 g paládiového katalyzátoru 10 ve formě tablet tak, že kyslík reaguje s vodíkem za vzniku vody:



Při této reakci dochází k zahřívání katalyzátoru 10, který je proto umístěn v bezpečnostním nosiči připevněném snadno odnímatelným způsobem na spodní stranu víka 3 komerčního anaerostatu. Bezpečnostní nosič je tvořen kovovým válcem 11 (vnitřního průměru 50 mm, výšky 25 mm), jehož dno tvoří dvě kovové síťky 8 a 9, mezi nimiž je vzduchová mezera (5 mm). Tím je utvořen bezpečný ochranný prostor oddělující katalyzátor 10 od směsi vodíku se vzduchem.

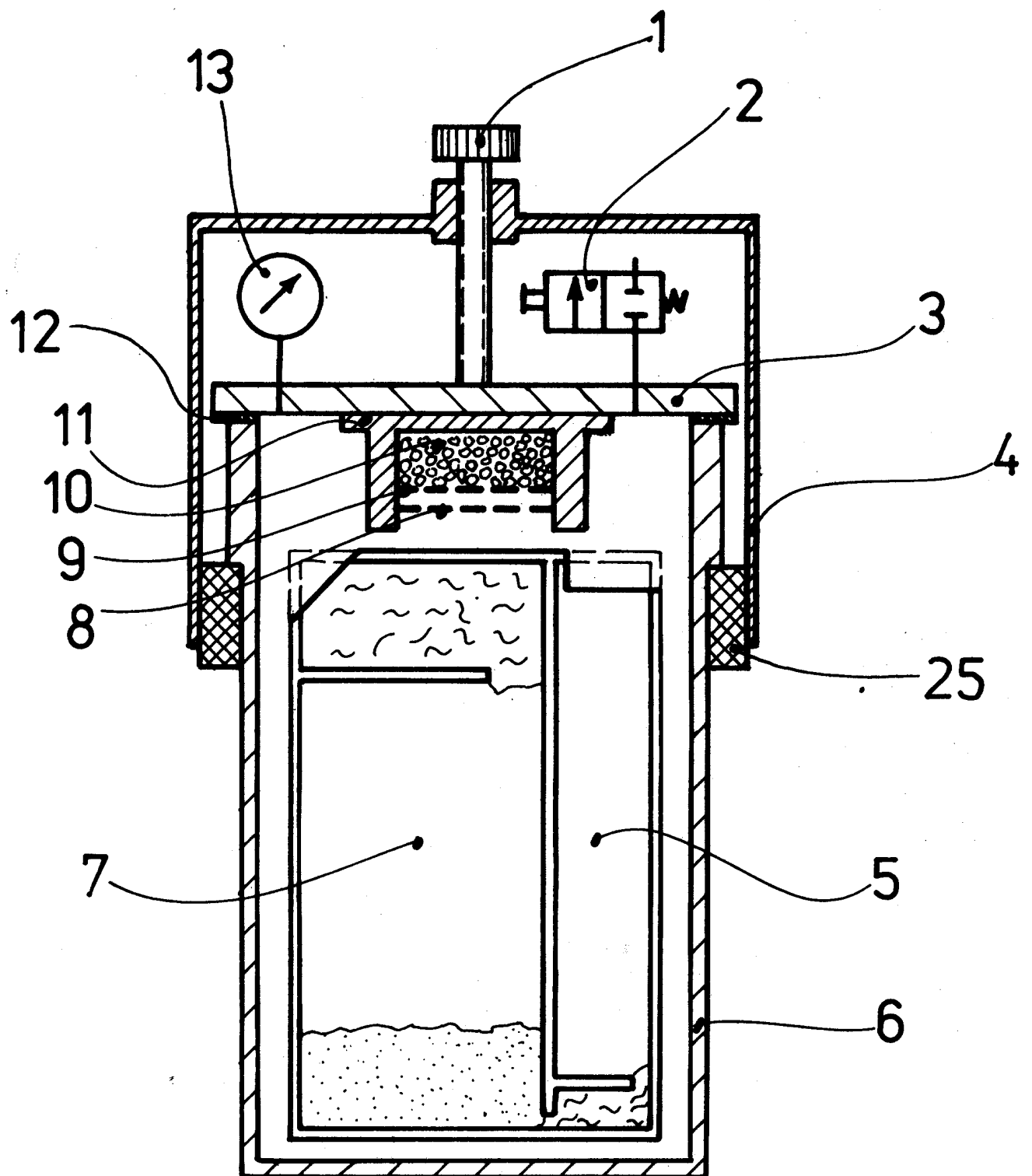
Příklad celkového uspořádání zařízení je na obr. 1 nakreslen v komerčním anaerostatu objemu 3300 ml, který je tvořen skleněnou nádobou 6 vzduchotěsně uzavíratelnou víkem 3 pomocí uzávěru 4 s přítlačným šroubem 1 a opěrnými pryžovými patkami 25. Víko 3 je opatřeno ručním odvzdušňovacím ventilem 2, manometrem 13 a na spodní straně pryžovým těsněním 12.

Výsledná atmosféra v anaerostatu sestává ze vzduchu zbaveného kyslíku a obohaceného kyslíčnickem uhličitým v množství 10 % (objemových) a přebytkem vodíku. Zreagovaná směs chemikálií má přibližně pH 3 a proto nedochází k absorpci kyslíčnicku uhličitého.

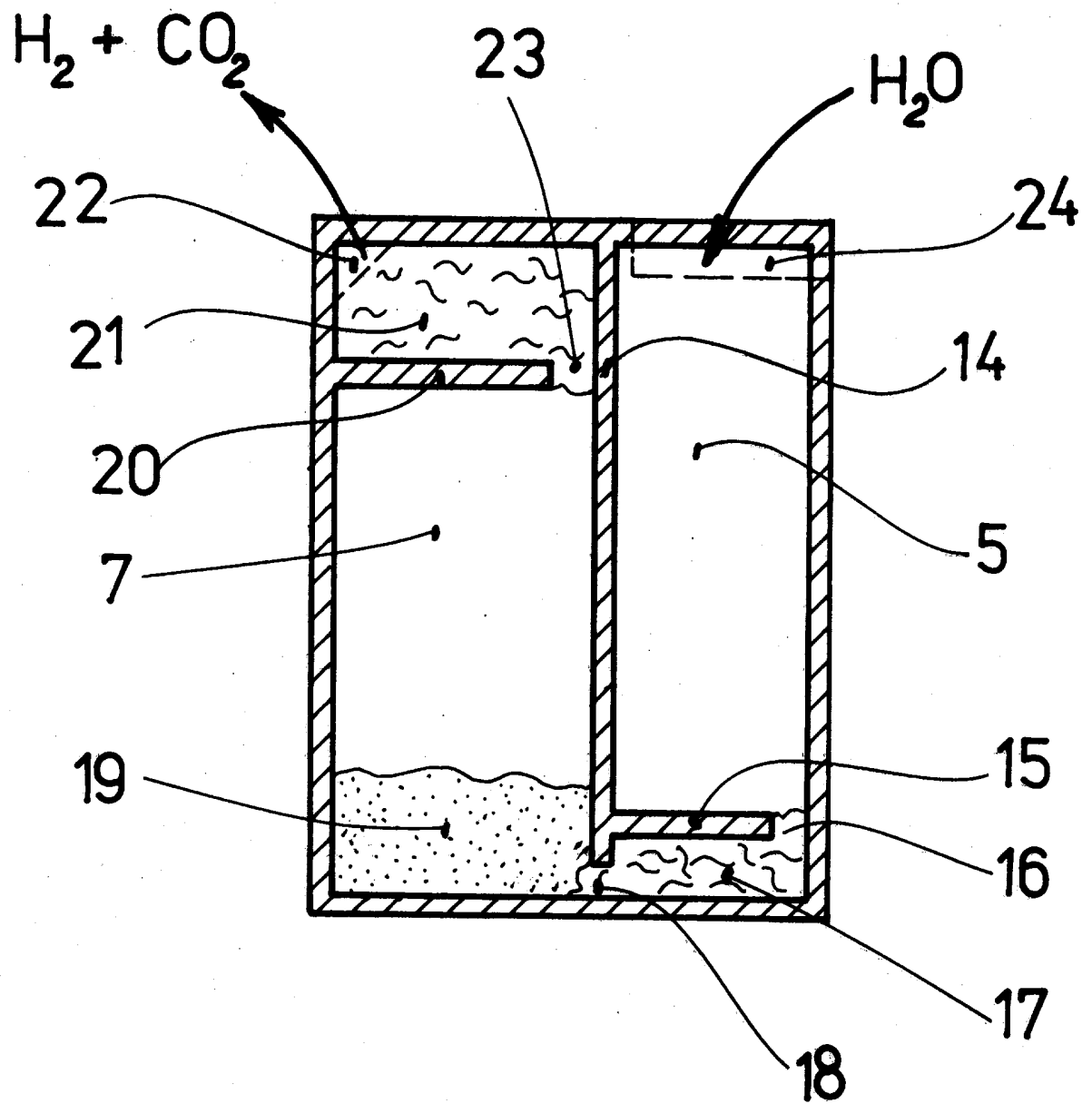
Kromě své základní funkce při kultivaci anaerobních mikroorganismů může zařízení dle vynálezu sloužit také pro transport vzorků infekčního materiálu určeného na anaerobní kultivaci.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Způsob vytvoření standardního, kyslíku zbaveného a kyslíčnickem uhličitým obohaceného prostředí pro kultivaci anaerobních mikroorganismů vyznačený tím, že pevná směs hořčíku, kyseliny vinné a hydrouhličitaneu sodného, uložená v prostoru určeném pro kultivaci, izolovatelném od vnějšího okolí, odděleně od katalyzátoru slučovací reakce $2\text{H}_2 + \text{O}_2 = 2\text{H}_2\text{O}$, například paládía, který je uložen v témže prostoru, se uvede do styku s vodou.
2. Zařízení k provádění způsobu podle bodu 1, vyznačené tím, že sestává z generátoru plynů - vodíku a kyslíčnicku uhličitého - a z bezpečnostního nosiče katalyzátoru zmíněné slučovací reakce, umístěných uvnitř vzduchotěsně uzavíratelné nádoby pro kultivaci, například anaerostatu.
3. Zařízení podle bodu 2, vyznačené tím, že generátor plynů představuje sáček z fólie nepropouštějící vlhkost, rozdělený svislou přepážkou (14) na dva oddíly (5 a 7) spojené navzájem otvorem (18) v dolní části přepážky (14), přičemž prázdný oddíl (5), určený k naplnění vodou, je ve své dolní části opatřen filtrem (17) k řízenému přívodu vody k pevné reakční směsi (19), uložené v druhém oddílu (7) sáčku, který je ve své horní části opatřen rovněž filtrem (21) k filtraci ze sáčku vystupujících plynů.
4. Zařízení podle bodu 2, vyznačené tím, že bezpečnostní nosič katalyzátoru slučovací reakce představuje kovový válec, jehož dno je tvořeno alespoň dvěma kovovými sítkami, oddělenými navzájem vzduchovou mezerou.



OBR.1



OBR.2