



NUME INVENTIE

Nume Inventie: GIS1 – Sistem unicameral de simulare *in vitro* a tractului gastrointestinal uman

Nume și prenume autori si vârsta: Vamanu Emanuel, 35 de ani

Profesor coordonator: -

Institutia: Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară București și Centrul de Biochimie Aplicată și Biotehnologie – Biotehnol București

Gategoria: (scoala generala, liceu, facultate) Facultatea de Biotehnologii

Date contact ale institutiei:

Adresa: Bd. Mărăști nr. 59, sector 1, București

Tel : +40 (21) 318 22 66

Fax : +40 (21) 318 28 88

Email: post@info.usamv.ro

Persoana de contact: Lector dr. Vamanu Emanuel

Telefon mobil: 0742218240

Premii și medalii obținute cu această invenție în alte competiții: -

Scurta descriere a invenției:

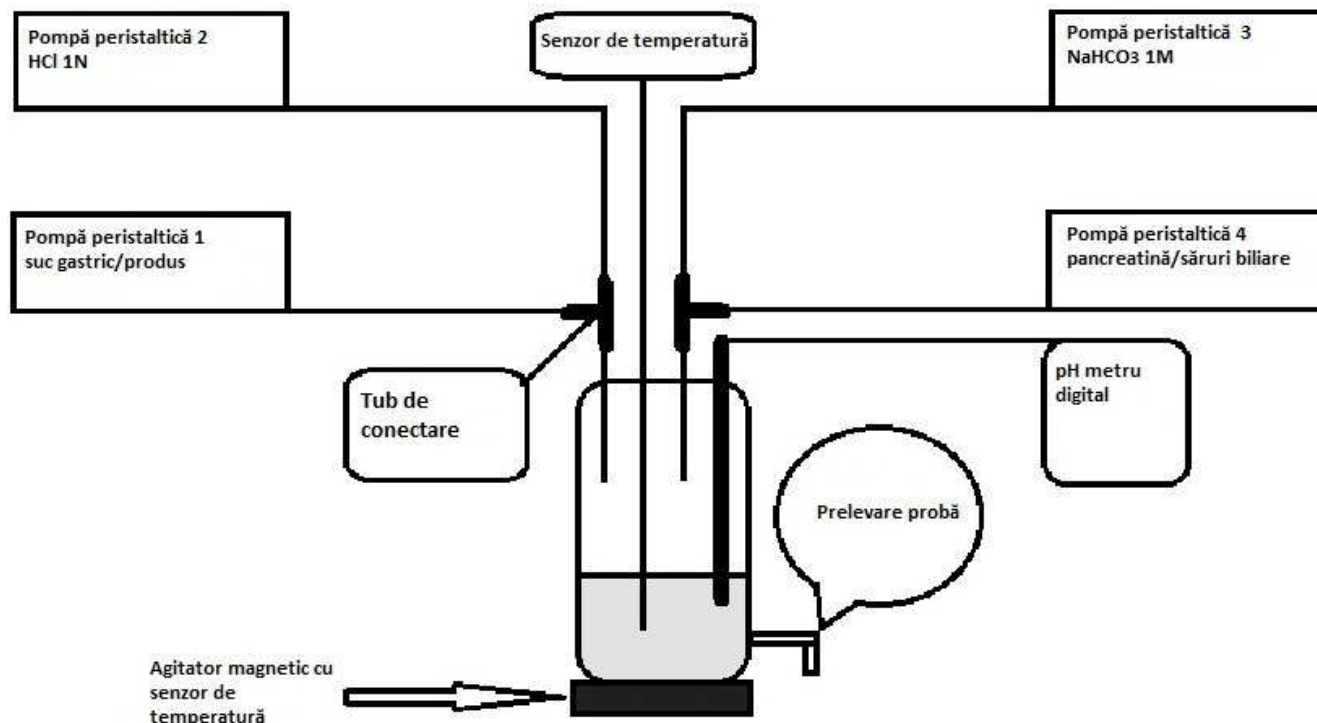
GIS1 este un sistem unicameral de simulare *in vitro* a tractului gastrointestinal uman. Scopul invenției este de a testa la nivel de laborator, prin experimente *in vitro*, fără a fi nevoie de implicarea subiecților umani sau animalelor de laborator, următoarele categorii de produse: produse probiotice, sinbiotice și prebiotice; produse funcționale destinate prevenirii îmbolnăvirilor sau ameliorării stării de sănătate a omului; testarea viabilității tulpinilor microbiene cu efect probiotic la tranzitul gastrointestinal uman; efectul acestor tulpini asupra microbiotei simulate a colonului.

Structura de bază a sistemului este compusă din:

- un vas Duran din sticlă borosilicată, capacitate 1000 mL, prevăzut cu un dop filetat cu patru intrări;
- un pH metru digital Hanna Benchtop HI 2211, cu un electrod de 4 mm grosime sterilizabil;
- 4 pompe peristaltice Behrotest, Type PLP 33, debit 0.4 - 2.0 L/h;
- un agitator magnetic cu plită ceramică încălzită IKA C-MAG HS 7 și senzor de temperatură.

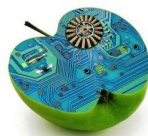
GIS1 este conceput a funcționa în două etape distincte:

Etapa 1: Simularea tranzitului prin stomac și intestinul subțire – evaluarea viabilității unei tulpini microbiene.



Condițiile de operare sunt următoarele:

1. 100 ml HCl 0,01N și 40 ml suc gastric simulat – pompa 1 (pepsină 3g/L, mucină 3 g/L au fost dizolvate în NaCl 0,5%) se adaugă în vasul Duran pentru a simula condițiile din stomac, se ajustează pH la 2 cu HCl 1N.
2. 200 ml produs liofilizat (dizolvat în NaCl 0,5%) ce conține o cantitate de $10^9 - 10^{10}$ UFC/ml de bacterii lactice se introduc cu pompa 1 în vasul Duran.
3. pH se aduce la valoarea 3 cu 1N HCl – pompa 2 într-o perioadă de maximum 1.5 ore.
4. conținutul se neutralizează la pH 6.0 prin adăugarea a 1 M NaHCO₃ – pompa 3 la o rată de 4.5 ml/min pentru a simula trecerea din stomac în duoden, într-o perioadă de maxim 10 min.
5. se adaugă 60 ml săruri biliare 7.5 g/L și 100 mL pancreatină 30 g/L – pompa 4 în sistem cu o rată de 4 ml/min, timp de 10 min.

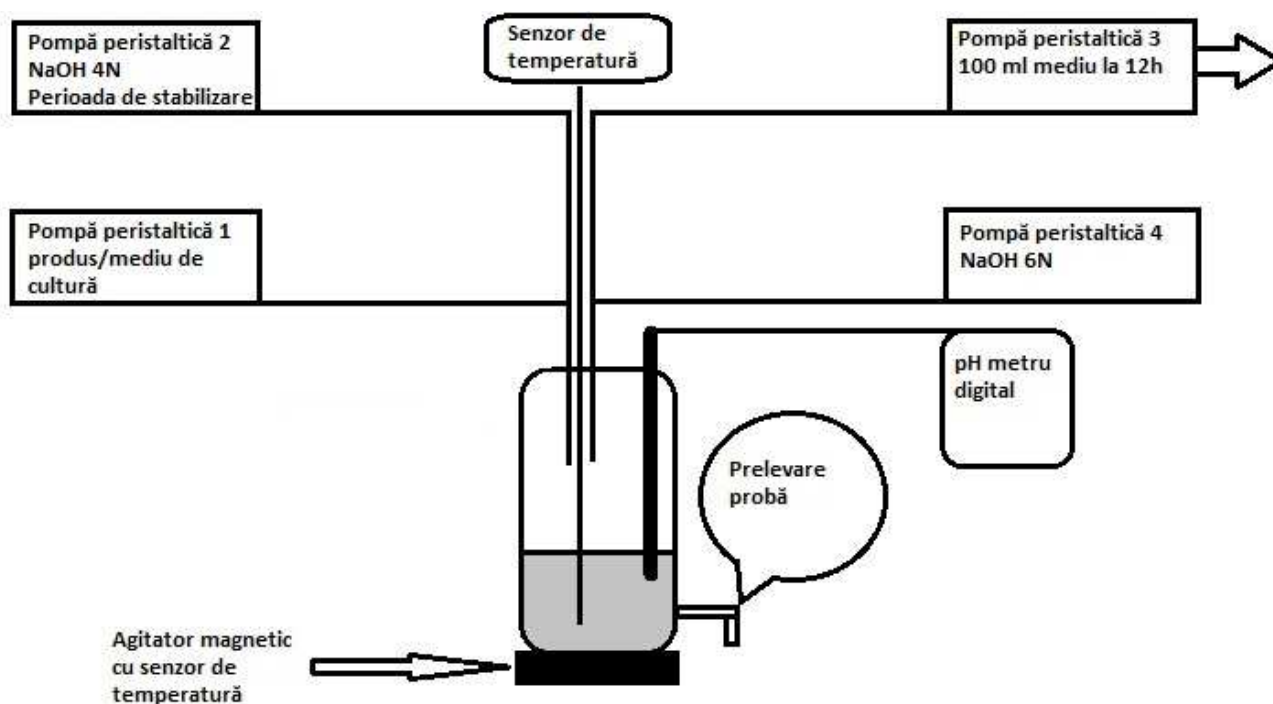


6. pH culturii în vasul Duran a fost menținut la o valoare de 6 – 6.5 prin adăugarea a NaHCO_3 1M, pe o perioadă de până la 7 ore. Rolul său este și acela de a simula absorbția de la nivelul intestinului subțire.

Toate soluțiile sunt preparate înainte de fiecare experiment. Se iau probe la fiecare oră pentru a determina viabilitatea microbiană prin însămânțare pe mediu agarizat specific tulpinii testate. Pentru analiza viabilității se realizează diluții în ser fiziologic steril, iar determinarea numărului de colonii se face în mod automat cu ajutorul ColonyQuant, printr-un soft specializat. Capacitatea de supraviețuire (C_S) se calculează conform următoarei formule:

$$C_S = \text{Viabilitatea la } T_t / \text{Viabilitatea la } T_0.$$

Etapa 2: Simularea tranzitului prin colon – evaluarea efectului asupra raportului dintre speciile microbiene ce colonizează colonul uman.



Condițiile de operare sunt următoarele:

1. 500 mL mediu de cultură pentru simularea conținutului din colon inoculat cu 100 mL soluție fecale pregătite anterior sunt adăugate în vasul Duran pentru perioada de stabilizare, pH 5.7 – 7.5 corectat cu 4N NaOH;



2. se scot cu pompa 3 100 mL mediu fermentat. În același timp se reintroduc cu pompa 1 100 mL de mediu proaspăt, la fiecare 12 ore;
3. 15 mL produs liofilizat (dizolvat în 0.5% NaCl) conținând o cantitate de $10^9 - 10^{10}$ UFC/mL de produs probiotic sunt introduși cu pompa 1 în vasul Duran;
4. pH este ajustat la valoarea 5.6 – 5.9 cu 6 N NaOH – pompa 4, pentru o perioadă de 4 ore – colonul ascendent;
5. pH este ajustat la valoarea 6.2 – 6.5 cu 6 N NaOH – pompa 4, pentru o perioadă de 8 ore – colonul transvers;
6. pH este ajustat la valoarea 6.6 – 6.9 cu 6 N NaOH – pompa 4, pentru o perioadă de 12 ore – colonul descendent.

Toate soluțiile sunt preparate înainte de fiecare experiment. Se iau probe la fiecare oră pentru a determina viabilitatea microbiană. Pentru analiza viabilității se realizează diluții în ser fiziologic steril, iar determinarea numărului de colonii se face în mod automat cu ajutorul ColonyQuant, printr-un soft specializat. Numărul total de anaerobi este determinat prin utilizarea brain heart infusion agar; McConkey agar pentru coliformi; Azide blood agar base pentru enterococci; Mannitol salt agar pentru staphylococci; Tryptose sulfite cycloserine agar pentru clostridia; Beerens agar pentru bifidobacteria; Rogosa agar pentru lactobacilli.

Sistemul de simulare *in vitro* este promovat pe internet prin următorul site: <http://www.gissystems.ro>. Adresă youtube: http://www.youtube.com/watch?v=nHJlcb_KWfA.