



MD 1305 C2

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1305⁽¹³⁾ C2
(51) Int. Cl.⁶: C 12 N 1/20;
C 12 Q 1/04

(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. depozit: 97-0208
(22) Data depozit: 1997.07.21
(41) Data publicării cererii:
1999.03.31, BOPI nr. 3/99

(42) Data publicării hotărârii
de acordare a brevetului:
1999.08.30, BOPI nr. 8/99

(71) Solicitant: Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica
Moldova, MD

(72) Inventatori: Prisacari Viorel, MD; Buraciov Svetlana, MD; Țapcov Victor, MD; Iurii Iulia, MD

(73) Titular: Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu" din Republica
Moldova, MD

(54) Mediu nutritiv pentru depistarea selectivă a reprezentanților din familia
Enterobacteriaceae

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la microbiologia medicală și
poate fi utilizată în diagnosticul de laborator pentru
depistarea selectivă a bacteriilor din familia
Enterobacteriaceae.

Mediul nutritiv propus conține agar Endo, di(μ-
O)-di[N²(2-oxi-1-naftal)-α-oxibenzilidenhidrazona-
natocupru] dihidrat, dimetilformamidă și apă
distilată, în următorul raport al constituenților, în
g/L:

2
agar Endo 40
di(μ-O)-di[N²(2-oxi-1-naftal)-α-oxi-benzilidenhidra-
zonatocupru] dihidrat 0,4...0,6
dimetilformamidă 0,02...0,03
apă distilată restul.
5 Rezultatul invenției constă în inhibarea roirii
bacteriilor din genul *Proteus*.
Revendicări: 1

MD 1305 C2

3

Descriere:

Invenția se referă la microbiologia medicală și poate fi utilizată în diagnosticul de laborator pentru depistarea selectivă a bacteriilor din familia *Enterobacteriaceae*.

Este pe larg cunoscut mediul nutritiv pentru creșterea bacteriilor din familia *Enterobacteriaceae*, constituit din agarul Endo dizolvat în apă distilată [1].

Dezavantajul acestui mediu constă în aceea că concomitent cu creșterea coloniilor de microorganisme din familia *Enterobacteriaceae* are loc și creșterea microorganismelor din genul *Proteus* cu o roire abundentă, fapt care împiedică creșterea coloniilor de enterobacterii și izolarea culturilor pure la însămânțarea primară a materialului examinat.

Problema pe care o rezolvă invenția este elaborarea unui mediu nutritiv selectiv pentru depistarea bacteriilor din familia *Enterobacteriaceae*, cu proprietăți de inhibare a roirii proteelor fără schimbarea particularităților culturale ale enterobacteriilor.

Mediul nutritiv, conform invenției, înlătură dezavantajele sus-menționate prin aceea că conține agar Endo, di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat, dimetilformamidă și apă distilată în următorul raport al constituentelor, în g/L:

agar Endo	40
di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat	0.4...0.6
dimetilformamidă	0.02...0.03
apă distilată	restul.

În invenția dată a fost folosită proprietatea di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidratului de a inhiba complet creșterea stafilococilor, neschimbând proprietățile florei gramnegative. Totodată, neinfluențând asupra proprietăților culturale ale proteelor, compusul chimic indicat inhibă roirea lor.

Mediul nutritiv Endo cu un astfel de supliment de di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat inhibă roirea proteului, care crește în formă de colonii izolate, cu diametrul de 2-3 mm, bombate, de culoare roz-pal sau violet-pal, umede, ușor opace. Ceilalți reprezentanți ai familiei *Enterobacteriaceae* cresc pe mediul propus cum și pe mediul Endo tradițional.

Aplicarea acestor proprietăți ale di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidratului a făcut posibilă crearea unui mediu nutritiv, în care are loc inhibarea creșterii microflorei grampozitive, în special a stafilococilor, și a roirii proteului, ceea ce conduce la depistarea selectivă a reprezentanților din familia *Enterobacteriaceae* deja la însămânțarea primară a materialului examinat.

Astfel, rezultatul invenției constă în inhibarea roirii bacteriilor din genul *Proteus*.

Mediul se prepară în modul următor. Din agarul Endo uscat se fierbe mediul nutritiv conform indicațiilor de pe ambalajul standard (40 g de praf de mediu Endo se dizolvă într-un litru de apă distilată, se fierbe 2-3 min până la topirea completă a agarului, se filtrează și se fierbe repetat).

Di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidratul în cantitate de 0.4...0.6 g/L se dizolvă în prealabil în 20-30 mg/mL de dimetilformamidă, apoi se adaugă la mediul Endo fierbinte, se amestecă minuțios, după care se toarnă în cutiile Petri.

Materialul pentru examinarea microbiologică se însămânțează pe mediul pregătit conform invenției și paralel pe mediul Endo fără compusul coordinativ chimic (martor).

În investigații au fost utilizate tulpinile de laborator: *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* (M-17), *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, precum și tulpinile izolate de la bolnavi și purtători: *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*. Dozele de însămânțare au constituit 500.000 și 1.000.000 corpi microbieni (conform standardului optic de turbiditate).

În scopul confirmării caracterului selectiv al mediului propus au fost testate diferite doze ale agentului selectiv la însămânțarea monoculturilor și culturilor mixte. Conform investigațiilor efectuate, cantitatea optimă a substanței inhibitoare (di(μ -O)-di[N'-(2-oxi-1-naftal)- α -oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat) se află în limitele de 0.4...0.6 g/L. Totodată, pentru compararea proprietăților selective ale mediilor, cu ajutorul tampoanelor a fost efectuată însămânțarea materialului din plăgile purulente ale bolnavilor pe mediul Endo și paralel pe mediul Endo cu inhibitor de roire.

MD C2

4

Exemplul 1. La 970 mL de mediu Endo proaspăt preparat se adaugă 0,6 g de inhibitor, prealabil dizolvat în 30 mL de dimetilformamidă, se amestecă minuțios și se toarnă în cutii Petri. În cutii separate se însămânțează tulpini de *Proteus vulgaris* și *Proteus mirabilis* în doze câte 500.000 și 1.000.000 corpi microbieni. Termostatarea are loc timp de 24 ore la temperatura de 37°C. La expirarea termenului de incubare *Proteus vulgaris* și *Proteus mirabilis* cresc în formă de colonii izolate, ușor opace, semiumede, de culoare violet-pal. Roirea proteului lipsește.

Exemplul 2. La 970 mL de mediu Endo proaspăt preparat se adaugă 0,6 g de inhibitor prealabil dizolvat în 30 mL de dimetilformamidă, se amestecă minuțios și se toarnă în cutii Petri. În cutii separate se însămânțează tulpini de *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* (M-17), *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Shigella dysenteriae*, *Enterobacter*, *Citrobacter* în doze câte 500.000 și 1.000.000 corpi microbieni. Cultivarea are loc în termosta timp de 24 ore la temperatura de 37°C. Tipul de creștere a reprezentanților din familia *Enterobacteriaceae* este identic celui de pe mediul Endo tradițional.

Exemplul 3. La 980 mL de mediu Endo proaspăt preparat se adaugă 0,4 g de inhibitor al roirii proteului prealabil dizolvat în 20 mL de dimetilformamidă, se amestecă minuțios și se toarnă în cutii Petri. În cutii se însămânțează tulpini mixte de *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* în raport de 1:1:1 din dozele inițiale de 500.000 și 1.000.000 corpi microbieni. Pe mediul dat modul de creștere a reprezentanților din familia *Enterobacteriaceae* este identic cu cel de pe mediul Endo obișnuit, însă lipsește roirea proteului, care formează colonii izolate de culoare roz-pal sau violet-pal.

Exemplul 4 (varianta optimă). La 970 mL de mediu Endo proaspăt preparat se adaugă 0,6 de inhibitor al roirii proteului prealabil dizolvat în 30 mL de dimetilformamidă, se amestecă minuțios și se toarnă în cutii Petri. Cutiile sunt însămânțate cu tulpini mixte de *Proteus vulgaris*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* în raport de 1:1:1 din dozele inițiale de 500.000 și 1.000.000 corpi microbieni. Se incubează în termosta timp de 24 ore la temperatura de 37°C. Coloniile de *Proteus* cresc mai puțin intens decât pe mediul N1, sunt mai uscate, ușor opace, de culoare roz-pal sau violet-pal. Creșterea *Salmonella typhimurium* și *Escherichia coli* este similară cu cea de pe mediul Endo tradițional.

Exemplul 5. Mediul a fost preparat conform exemplului 4. Pe el a fost însămânțat cu ajutorul tamponelor substratul prelevat de la bolnavi. Paralel același lucru s-a efectuat și pe mediul Endo tradițional. Dacă substratul patologic conține *Proteus*, pe mediul Endo se observă creșterea lui difuză, care nu permite identificarea coloniilor altor microorganisme. Pe mediul propus roirea proteului inceta, coloniile izolate au o culoare roz-pală sau violet-pală, fiind rotunde, puțin opace. Alți reprezentanți ai familiei *Enterobacteriaceae* creșteau ca și pe mediul Endo tradițional.

Utilizarea invenției reduce termenele de examinare a bolnavilor, cheltuielile de timp la efectuarea unei investigații și face posibilă utilizarea economică a agarului Endo, deoarece nu sunt necesare investigațiile repetate în cazul prezenței microorganismelor din genul *Proteus* în materialul examinat.

(57) Revendicare:

Mediu nutritiv pentru depistarea selectivă a reprezentanților din familia *Enterobacteriaceae*, ce conține agar Endo și apă distilată, **caracterizat prin aceea că** suplimentar conține dimetilformamidă și di(μ-O)-di[N²-(2-oxi-1-naftal)-α-oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat, ultimul fiind în calitate de inhibitor al roirii proteului, în următorul raport al constituentelor, în g/L:

agar Endo	40
di(μ-O)-di[N ² -(2-oxi-1-naftal)-α-oxibenzilidenhidrazonatocupru] dihidrat	0,4...0,6
dimetilformamidă	0,02...0,03
apă distilată	restul.

(56) Referințe bibliografice:

1. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. Москва, Медицина, 1978, с. 363.

SECRET

SECRETOV Veaceslav

Examinator:

CEBAN Aurelia

Redactor:

ANDRIUȚĂ Victoria