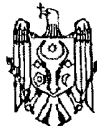




MD 1279 G2

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Protecția Proprietății Industriale

(11) 1279⁽¹³⁾ G2
(51) Int. Cl.⁶: C 12 Q 1/04

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

(21) Nr. depozit: 97-0159 (22) Data depozit: 1997.06.17	(42) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 1999.07.31, BOP nr. 7/99
(71) Solicitant: Centrul de Patologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD (72) Inventatori: Gheorghiță Teodor, MD; Bortă Vasile, MD; Chirilă Liliana, RO (73) Titular: Centrul de Patologie al Academiei de Științe a Republicii Moldova, MD	

(54) Reactiv pentru indicarea lecitinazei microbiene
(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la microbiologie și poate fi utilizată pentru indicarea rapidă a lecitinazei microbiene.

Esența invenției constă în aceea că reactivul conține bulion peptonat uscat, gălbenuș de ou, ami-

2
don, glucoză, zaharoză, gelatină, clorură de calciu și clorură de sodiu.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea sensibilității reactivului.

Revendicări: 1

5

MD 1279 G2

3

Descriere:

Invenția se referă la microbiologie și poate fi utilizată pentru indicarea rapidă a lecitinazei microbiene.

5 Este cunoscută indicarea lecitinazei microbiene pe mediul Cistovici, care conține geloză peptonată pH 7,2, 10% clorură de sodiu și 10,00...20,00% de suspensie de gălbenuș de ou, pentru aceasta un gălbenuș se extrage (scoate) din ou și se agită în 200 ml de soluție izotonică de clorură de sodiu. Pentru indicarea lecitinazei microbiene mediul lichefiat se toarnă în cutia Petri, se răcește, apoi pe suprafața mediului se însămânțează cultura stafilococică, se incubează la 37°C 24...48 ore. În jurul coloniilor microbiene lecitinazopozitive se formează o zonă transparentă [1].

10 Dezavantajul acestei metode constă în aceea că mediul utilizat trebuie preparat *ex tempore*, se păstrează în condiții de frigider numai 5...6 zile, indicarea microbiană se efectuează peste 24...48 ore de incubare la 37°C și se utilizează cantități mari de mediu (10...15 ml) la o analiză, ceea ce face examenul costisitor și complicat.

15 Problema pe care o rezolvă invenția propusă constă în sporirea sensibilității și accelerarea indicării lecitinazei microbiene.

Problema se soluționează folosind reactivul care include gălbenuș de ou, bulion peptonat uscat, soluție izotonică de clorură de sodiu, amidon, glucoză, zaharoză, gelatină și clorură de calciu în următorul raport al ingredientelor, în % de masă:

20	gălbenuș de ou	71,15...74,23
	20% bulion peptonat	7,11...7,42
	amidon	8,48...9,49
	glucoză	3,18...3,95
	zaharoză	0,32...0,39
25	10% gelatină	3,18...3,95
	10% clorură de calciu	3,18...3,95
	soluție izotonică de clorură de sodiu	restul.

30 Prezența în componența reactivului a bulionului peptonat și glucozei servește drept bază de nutriție, care împreună cu amidonul, zaharoza și 10% gelatină permit formarea reactivului solid ușor solubil în suspensia microbiană. 10% clorură de calciu favorizează acțiunea lecitinazei microbiene asupra substratului specific, ceea ce permite sporirea sensibilității reactivului și accelerarea indicării lecitinazei microbiene. Reactivul propus permite de asemenea o economie considerabilă a componentelor și simplificarea analizelor.

35 Pentru prepararea reactivului în soluție izotonică de clorură de sodiu se dizolvă amidon prin încălzire, apoi se adaugă 20% bulion peptonat, glucoză, zaharoză, 10% gelatină, gălbenuș de ou, 10% clorură de calciu, agitând intens pentru dizolvarea completă a ingredientelor. După aceasta amestecul obținut se aplică câte 0,04 ml pe suprafața hârtiei hidrofobe și se usucă la 37...45°C. Reactivul obținut are formă de microdisc concav solid de culoare galbenă, cu diametrul de 0,5...0,7

40 cm, care ușor se amestecă cu suspensia microbiană examinată.

Reactivele se obțin în modul următor. Într-o retortă chimic curată se toarnă 7,24 ml de soluție izotonică de clorură de sodiu, apoi se dizolvă în ea prin încălzire pe baie de apă 250 mg de amidon, se răcește, se adaugă 1,00 ml de 20% bulion peptonat uscat, 100 mg de glucoză, 1 mg de zaharoză, 1,00 ml de 10% gelatină, 2 ml de gălbenuș de ou și 1,00 ml de 10% clorură de calciu. Se agită intens până la dizolvarea completă a ingredientelor. Apoi amestecul obținut se aplică cu pipeta-
45 dozator câte 0,04 ml pe suprafața hârtiei hidrofobe formând 300 de picături care apoi se usucă în termostat la temperatura de 35...45°C în decurs de 24...48 ore. Astfel se prepară 300 de reactive. Pentru indicarea lecitinazei microbiene pe o lamă se aplică acest reactiv, apoi pe el o picătură de
50 suspensie microbiană, se incubează la 37°C timp de 30...60 min, apoi în acest amestec se introduce perpendicular un microcapilar de sticlă cu diametrul de 1,00 mm. În cazul prezenței lecitinazei microbiene amestecul se ridică în microcapilar la un nivel de 7-12 mm, iar în cazul absenței ei - numai la 5-6 mm (v. tabelul).

Exemplul 1. Pentru prepararea unui reactiv, care conține ingrediente în limite minime în 0,025 ml de soluție izotonică de clorură de sodiu se dizolvă prin încălzire pe baie de apă 0,667 mg de amidon, se răcește, apoi se adaugă 0,003 ml de 20% bulion peptonat uscat, 0,25 mg glucoză, 0,025
55 mg zaharoză, 0,0025 ml de 10% gelatină, 0,0058 ml gălbenuș de ou și 0,0025 ml soluție de 10% clorură de calciu. Se agită intens până la dizolvarea completă a ingredientelor. Apoi amestecul

MD 1279 G2

4

obținut se aplică pe suprafața hârtiei hidrofobe cu diametrul de 0,5...0,7 mm și se usucă în termostaț la temperatura de 35...45°C în decurs de 24...48 ore.

5

Exemplul 2. Pentru prepararea unui reactiv, care conține ingrediente în limite minime în 0,023 ml de soluție izotonică de clorură de sodiu se dizolvă prin încălzire pe baie de apă 1,00 mg de amidon, se răcește, apoi se adaugă 0,0036 ml de 20% bulion peptonat, 0,417 mg glucoză, 0,0417 mg zaharoză, 0,0042 ml de 10% gelatină, 0,0075 ml gălbenuș de ou și 0,0042 ml de soluție de 10% clorură de calciu. Se agită intens până la dizolvarea completă a ingredientelor. Apoi amestecul obținut se aplică pe suprafața hârtiei hidrofobe cu diametrul de 0,5...0,7 mm și se usucă în termostaț la temperatura de 35...45°C în decurs de 24...48 ore.

15

Indicarea lecitinazei la diverse tulpini microbiene

Nr. d/o	Genul și specia microbilor	Determinarea lecitinazei		
		Metoda obișnuită (cea mai apropiată soluție analoagă)		Metoda propusă
		24 ore	48 ore	30...60 min
1.	<i>B. cereus</i> ATCC 14579	+	+	+
2.	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	+	+	+
3.	<i>B. cereus</i> 010015	+	+	+
4.	<i>B. cereus</i> var. <i>anthracoides</i>	-	-	-
5.	<i>B. subtilis</i> 010005	-	-	-
6.	<i>S. aureus</i> P - 209	+	+	+
7.	<i>S. aureus</i> Cowan	+	+	+
8.	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	+	+	+
9.	<i>S. aureus</i> Idmișev	-	-	-
10.	<i>S. aureus</i> Dodon	+	+	+
11.	<i>S. epidermidis</i> Limișev	-	-	-
12.	<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-
13.	<i>P. aeruginosa</i> 273	-	-	-
14.	<i>E. coli</i> 055	-	-	-
15.	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-

20

Notă: “+” - microorganisme lecitinazopozitive;

“-” - microorganisme lecitinazonegative.

25

30

MD 1279 G2

5

5

(57) Revendicare:

10 Reactiv pentru indicarea lecitinazei microbiene, care conține gălbenuș de ou, mediu peptonat și clorură de sodiu, **caracterizat prin aceea că** suplimentar reactivul conține amidon, glucoză, zaharoză, gelatină și clorură de calciu, iar în calitate de mediu peptonat - bulion peptonat uscat în următorul raport al ingredientelor, în % de masă:

	gălbenuș de ou	71,15...74,23
	bulion peptonat uscat	7,11...7,42
15	amidon	8,48...9,49
	glucoză	3,18...3,95
	zaharoză	0,32...0,39
	gelatină	3,18...3,95
	clorură de calciu	3,18...3,95
20	clorură de sodiu	restul.

25

(56) Referințe bibliografice:

1. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований, Москва, 1978, с. 358

Șef secție:	CRECETOV Veaceslav
Examinator:	BAZARENCO Tatiana
Redactor:	CANȚER Svetlana

RAPORT DE DOCUMENTARE

(21) Nr. depozit: 97-0159	
(22) Data depozit: 1997.06.17	
(54) Titlul : Reactiv pentru indicarea lecitinazei microbiene Termeni caracteristici: indicarea și depistarea microbilor, mediile reactive pentru aceasta	
II. D O C U M E N T A R E ÎN LITERATURA DE BREVETE DE INVENȚII	
Indicii clasificărilor de brevete : (51) Int. Cl. : C 12 Q 1/04	
MD Perioada: 1993-1997	Brevete: n-au selectat Cereri publicate: n-au selectat Cereri nepublicate: n-au selectat
BEA Perioada: 1996-1999	Brevete: n-au selectat Cereri: n-au selectat Rapoarte de documentare n-au selectat
Data 19.03.1999	Examinator , Bazarenco Tatiana