

Descriere:

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

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 lecitinizopozitive se formează o zonă transparentă [1].

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.

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:

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
10% gelatină	3,18...3,95
10% clorură de calciu	3,18...3,95
soluție izotonică de clorură de sodiu	restul.

Prezența în componența reactivului a bulionului peptonat și glucozei servește drept bază de nutriție, care împreună cu amidonul, zaharoză 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.

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

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 termostat la temperatura de 35...45°C în decurs de 24...48 ore.

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	
1.	<i>B. cereus</i> ATCC 14579	+	+	+
2.	<i>B. cereus</i> ATCC 10702	+	+	+
3.	<i>B. cereus</i> 010015	+	+	+
4.	<i>B. cereus var. anthracoides</i> 010025	-	-	-
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> Idmişev	-	-	-
10.	<i>S. aureus</i> Dodon	+	+	+
11.	<i>S. epidermides</i> Limişev	-	-	-
12.	<i>S. saprophyticus</i>	-	-	-
13.	<i>P. aeruginose</i> 273	-	-	-
14.	<i>E. coli</i> 055	-	-	-
15.	<i>S. typhimurium</i>	-	-	-

Notă: “+” - microorganismele lecitinazopozitive;

“-” - microorganismele lecitinazonegative.