

Invenția se referă la domeniul microbiologiei, și anume la un reagent destinat pentru determinarea rapidă a fibrinogen-afinității stafilococilor.

Sunt cunoscuți reagenți pentru determinarea fibrinogen-afinității stafilococilor, care constau din diferiți adsorbanti (eritrocite, particule de latex) sensibilizați cu fibrinogen J 1 l. Cel mai apropiat după esența tehnică este reagentul celulozic, care conține o suspensie de 1% particule de celuloză colorate cu verde de briliant și sensibilizate cu soluție de fibrinogen.

Pentru determinarea fibrinogen-afinității stafilococilor pe lama de sticlă degresată se aplică o picătură de cultură stafilococică de 24 ore cu o concentrație de 1-2 mlrd. celule/ml în care se introduce apoi o picătură de reagent celulozic. Conținutul picăturii se amestecă minuțios cu o baghetă de sticlă și se înregistrează rezultatul după apariția unor flocoane de culoare verde pe parcursul a 5-10 minute 02.

Însă reagentul menționat posedă un șir de dezavantaje, printre care pot fi menționate următoarele:

- viteza relativ mică a reacției, 5-10 min, uneori până la 30 min;
- demonstrativitatea relativ joasă, deoarece ca rezultat al reacției se formează niște flocoane mărunte;
- prețul de cost relativ înalt al reagentului, deoarece pentru obținerea lui sunt necesare reactive și materiale suplimentare deficitare, de exemplu celuloză, verde de briliant etc.

Problema pe care o rezolvă prezenta invenție este majorarea vitezei și demonstrativității reacției de aglutinare pe lama, utilizată pentru determinarea fibrinogen-afinității stafilococilor.

Problema pusă poate fi rezolvată prin aceea că în reagentul propus ca ingrediente se folosesc:

- a) în calitate de adsorbant - clamidosporii tăciunelui porumbului *Ustilago maydis*, supuși unei prelucrări speciale. Aceste particule au formă sferică cu un diametru mediu de  $10 \pm 2,5 \mu\text{m}$  și culoare brună;
- b) în calitate de sensibilizator - fibrinogen liofilizat, care prezintă o pulbere albă.

Sensibilizarea mecanică a clamidosporilor tăciunelui porumbului cu fibrinogen liofilizat este mai efektivă, deoarece are loc o atașare mai pronunțată a fibrinogenului de particule. La aceasta contribuie și excrescențele în formă de spini de pe suprafața clamidosporilor. Aceste 2 momente în ansamblu cu dimensiunile mai mari decât a celorlalți purtători condiționează sporirea vitezei și demonstrativității reacției.

Reagentul pentru determinarea fibrinogen-afinității stafilococilor, conform invenției, include suspensie de clamidospori ai tăciunelui porumbului *Ustilago maydis* în concentrație de 0,5-1,0% de volum sensibilizați mecanic cu fibrinogen liofilizat.

Astfel, utilizarea ingredientelor caracterizate mai sus pentru obținerea reagentului și metoda mecanică de sensibilizare au permis obținerea următoarelor avantaje:

- a sporit viteza reacției - rezultatul se obține timp de 5-10 s (față de 5-10 min cu reagentul analog). Aceasta se explică prin faptul că agregatele din 7-10 clamidospori sunt deja vizibile, datorită dimensiunilor lor relativ mari ( $10 \pm 2,5 \mu\text{m}$ );
- a crescut demonstrativitatea reacției, deoarece ca rezultat al reacției se formează macroflocoane de culoare brună, ușor vizibile cu ochiul liber, clamidosporii având o contrastivitate înaltă;
- s-a redus prețul de cost al preparatului, deoarece pentru pregătirea lui nu se utilizează reactive sau materiale deficitare și costisitoare. Tăciunele porumbului este accesibil practic pentru orice laborator, fiind larg răspândit în natură în tulpinile și știuleții porumbului. Din miceliu se dezvoltă o pulbere neagră de clamidospori, încapsulați în pungi de diferite dimensiuni. Aceste pungi cu clamidospori pot fi strânse toamna de pe lanurile de porumb, înainte de recoltarea roadei.

Rezultatul tehnic al invenției constă în sporirea sensibilității reagentului propus.

Posibilitatea realizării invenției poate fi confirmată prin următorul exemplu.

În piulița de porțelan se introduce 1 ml de clamidospori și se triturează sub un jet de aer cald până la obținerea unei pulberi brune, apoi se adaugă 200 mg fibrinogen liofilizat și se continuă triturarea până la formarea unei pulberi omogene de culoare crem.

Apoi în piuliță se adaugă 10 ml soluție fiziologică (pH 6,4) și se continuă triturarea până la dizolvarea completă a pulberii. Ulterior conținutul piuliței se transferă într-o eprubetă de centrifugare și se spală de 2 ori prin centrifugare la 3000 rot./min. La ultimul sediment din eprubetă se adaugă 10 ml soluție fiziologică (pH 7,2) și se resuspendează atent în ea stratul superior al sedimentului, care constă din clamidospori sensibilizați neagregați. Această suspensie se transferă în altă eprubetă sterilă și se adaugă 1-2 picături soluție de 1% de mertiolat în calitate de conservant.

Reagentul obținut la agitare are o culoare cafeniu-deschisă, deoarece clamidosporii sensibilizați uniform se dispersează în lichid fără a forma agregate vizibile. La expoziția de câteva ore clamidosporii se sedimentează formând un sediment de culoare brună, iar lichidul supernatant devine absolut transparent.

La aplicarea pe lamă a unei picături de reagent peste câteva minute clamidosporii se adună în centrul picăturii într-un punct brun, fără a forma agregate vizibile.

Pentru determinarea fibrinogen-afinității stafilococilor pe lama de sticlă degresată se aplică o picătură de reagent în care se emulsionează cultura stafilococică examinată și se înregistrează imediat rezultatul reacției (pe parcursul a 5-10 s) după apariția unor macroflocoane brune și limpezirea concomitentă a lichidului din picătură.

În cazul rezultatelor negative formarea macroflocoanelor brune nu are loc, lichidul din picătură rămâne difuz tulbure, iar clamidosporii se adună, ca regulă, în centrul picăturii într-un punct brun.

În așa mod, utilizarea în reagentul elaborat în calitate de purtător a clamidosporilor tăciunelui porumbului și sensibilizarea lor mecanică cu fibrinogen liofilizat atribuie reagentului un șir de avantaje față de reagentul analog, și anume: a sporit viteza reacției de aglutinare pe lamă, a crescut demonstrativitatea ei și s-a redus în general prețul de cost al reagentului, deoarece a decăzut necesitatea în reactive și materiale suplimentare pentru obținerea lui (tab. 1).