



MD 3718 G2 2008.10.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **3718** ⁽¹³⁾ **G2**
(51) Int. Cl.: **A61B 10/00** (2006.01)
C12Q 1/06 (2006.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/225 (2006.01)

(12) **BREVET DE INVENȚIE**

<p>(21) Nr. depozit: a 2007 0248 (22) Data depozit: 2007.09.13</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2008.10.31, BOPI nr. 10/2008</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD (72) Inventatori: VELCIU Aliona, MD; TIMOȘCO Maria, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE FIZIOLOGIE ȘI SANOCREATOLOGIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI, MD</p>	

(54) Metodă de determinare a stării bacteriocenozei intestinale la copiii de vârstă fragedă

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la sanocreatologie, microbiologie și medicină, și anume la o metodă de determinare a stării bacteriocenozei intestinale la copiii de vârstă fragedă și poate fi aplicată pentru determinarea stării sănătății copiilor în vârstă de 1...3 ani.

Metoda solicitată include determinarea conținutului cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus* în conținutul intestinal și aprecierea stării bacteriocenozei intestinale. Totodată starea bacteriocenozei se determină după conținutul cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus*, exprimat în valoarea logaritmului zecimal al canti-

2
5 tării de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal, după care se apreciază starea sanogenă, intermediară și patologică, când valorile obținute constituie, corespunzător: 10,14...7,83; 7,82...5,88 și 5,87...1,00 – pentru copiii de până la un an; 9,02...7,48; 7,47...5,57 și 5,56...1,00 – pentru copiii de până la 2 ani și 8,79...7,23; 7,22...5,08 și 5,07...1,00 – pentru copiii de până la 3 ani.

Revendicări: 1

15

MD 3718 G2 2008.10.31

MD 3718 G2 2008.10.31

3

Descriere:

Invenția se referă la sanocreatologie, microbiologie și medicină, și anume la o metodă de determinare a stării bacteriocenozei intestinale la copiii de vârstă fragedă și poate fi aplicată pentru determinarea stării sănătății copiilor în vârstă de 1...3 ani.

5 Este cunoscută metoda de determinare a unor indici microbieni ai bacteriocenozei intestinale care prevede evidențierea cantității de bifido-, lactobacterii și *Escherichia coli* cu stabilirea raportului numeric dintre bifidobacterii și *Escherichia coli*, precum și dintre lactobacterii și *Escherichia coli*, iar în baza acestui raport se apreciază starea bacteriocenozei intestinale [1].

10 Dezavantajul acestei metode constă în posibilitatea aplicării ei doar la animalele agricole tinere (viței, porcii etc.).

Cea mai apropiată soluție este metoda de diagnosticare a dismicrobismului intestinal la copii și adulți, care include examenul microbiologic al conținutului intestinal, determinarea indicilor cantitativi ai microorganismelor din genurile obligative, facultative, condițional patogene și patogene. Starea normală sau patologică este determinată prin compararea indicilor obținuți cu indicii normativi în vigoare [2].

15 Dezavantajul acestei metode constă în aceea că ea necesită mult timp pentru investigare, este voluminoasă, deoarece prevede determinarea a cel puțin 13 genuri de microorganisme și nu permite de a depista stările intermediare.

20 Problema pe care o rezolvă invenția constă în elaborarea unei metode simplificate, accesibile, de determinare a stării bacteriocenozei intestinale, precum și a stării sănătății copiilor de vârstă fragedă, ușor realizabilă, care ar putea permite și depistarea stărilor intermediare.

25 Metoda de determinare a stării bacteriocenozei intestinale la copiii de vârstă fragedă include determinarea conținutului cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus* în conținutul intestinal și aprecierea stării bacteriocenozei intestinale, totodată starea bacteriocenozei se determină după conținutul cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus*, exprimat în valoarea logaritmului zecimal al cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal, după care se apreciază starea sanogenă, intermediară și patologică, când valorile obținute constituie, corespunzător: 10,14...7,83; 7,82...5,88 și 5,87...1,00 pentru copiii de până la un an; 9,02...7,48; 7,47...5,57 și 5,56...1,00 pentru copiii de până la 2 ani și 8,79...7,23; 7,22...5,08 și 5,07...1,00 pentru copiii de până la 3 ani.

30 Rezultatul invenției constă în utilizarea indicilor cantitativi ai reprezentanților bacteriocenozei intestinale cu apartenența doar la un gen de microorganisme - *Lactobacillus*. Lactobacteriile sunt prezente practic în tot tractul gastrointestinal, îndeplinind rolul imunomodulator și imunostimulator, asigurând echilibrul dinamic în sistemul macroorganism-mediul ambiant, influențând inhibitor asupra procesului de multiplicare în tubul digestiv a microorganismelor de categorie facultativă, condițional patogenă și patogenă, care pătrunzând odată cu hrana, pot condiționa apariția infecțiilor endogene. Lactobacteriile sunt deosebit de sensibile la schimbările din organism provocate de influența factorilor nefavorabili ai mediului ambiant, reacționând prompt prin diminuarea sau reducerea indicilor cantitativi.

40 Metoda se realizează în modul următor.

Informația despre indicii cantitativi ai lactobacteriilor la 1 g de conținut intestinal servește la compararea lor cu datele expuse în tabelul informativ recomandat.

45 Datele numerice ale nivelului cantitativ al lactobacteriilor obținute determină în mod expres starea bacteriocenozei intestinale și, respectiv, starea sănătății copiilor (sanogenă, intermediară sau patologică).

Metoda propusă a fost testată asupra a 30 de copii de vârsta 1...3 ani. În baza rezultatelor obținute s-a evidențiat că pentru starea sanogenă este caracteristică valoarea numerică a lactobacteriilor de 10,14...7,83 la copiii de 1 an, 9,02...7,48 la copiii de 2 ani și 8,79...7,23 (logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene la 1 g de conținut intestinal) la copiii de 3 ani.

50 Starea intermediară se atestă în cazul existenței unui număr al lactobacteriilor de 7,82...5,88; 7,47...5,57 și 7,22...5,08 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal corespunzător vârstelor de 1, 2 și 3 ani. Se consideră stare patologică, dacă nivelul cantitativ al lactobacteriilor este respectiv de 5,87...1,00; 5,56...1,00 și 5,07...1,00 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal.

55

MD 3718 G2 2008.10.31

5 Indicii cantitativi ai microorganismelor din genul *Lactobacillus*, caracteristici anumitor stări ai bacteriocenozei intestinale și sănătății microorganismului copiilor de vârstă fragedă (1...3 ani), recomandați spre utilizare

Varsta copiilor (ani)	Logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal		
	Starea sănătății		
	Sanogenă	Intermediară	Patologică
1	10,14...7,83	7,82...5,88	5,87...1,00
2	9,02...7,48	7,47...5,57	5,56...1,00
3	8,79...7,23	7,22...5,08	5,07...1,00

10 În cazul înregistrării stării intermediare sau patologice se propune examenul detaliat al nivelului cantitativ al tuturor reprezentanților bacteriocenozei intestinale în scopul evidențierii microorganismelor din genurile condițional patogene și patogene pentru a stabili etiologia disfuncțiilor intestinale.

Exemplul 1

15 De la copilul M., cu vârsta de 2 ani, care frecventează grădinița și la moment nu prezintă nici un fel de acuze, s-au prelevat 4 mostre de conținut intestinal în cantitate de până la 1 g. S-a adăugat soluție fiziologică în cantitate necesară pentru obținerea diluției de 10^{-1} . Ulterior din prima diluție s-au pregătit diluțiile următoare (10^{-2} ... 10^{-10}), conform metodei microbiologice clasice (Petrovscaia, Marco, 1976).

20 Din fiecare diluție zecimală s-a efectuat inocularea mostrelor pe mediul nutritiv electiv pentru lactobacterii MRS și s-au supus incubării la temperatura de $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ timp de 72 ore. În continuare s-au numărat celulele microbiene crescute pe mediul nutritiv agarizat, numărul absolut al cărora a fost supus logaritmirii zecimale după tabelul lui Bradis și calculului statistic, care a prevăzut obținerea mediei aritmetice a cantității de celule microbiene vii cu aprecierea devierii standard (\pm). Nivelul cantitativ obținut de lactobacterii în mostrele examinate a fost respectiv de: 8,24; 8,28; 8,26; 8,43 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal, iar indicele cantitativ în mediu a alcătuit 8,32 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. Devierea standard este de 0,23. Compararea rezultatelor obținute cu cele recomandate de metoda descrisă a arătat că indicele numeric al lactobacteriilor la acest copil corespundea stării sanogene a bacteriocenozei intestinale și respectiv sănătății lui.

Exemplul 2

30 Copilul A., 11 luni, alimentat natural, trei luni în urmă a suferit de traheită acută, a fost tratat cu ampicilină, dozată la kg/corp, la moment nu prezenta acuze. Au fost studiate 4 mostre de conținut intestinal similar exemplului 1. Nivelul cantitativ al lactobacteriilor pentru fiecare mostră a constituit respectiv: 6,96; 6,98; 7,02; 6,78 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. Indicele cantitativ al lactobacteriilor în mediu a fost 6,93 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal cu o deviere standard de 0,13 care conform metodei descrise era caracteristic stării intermediare a bacteriocenozei intestinale și respectiv sănătății organismului copilului.

Exemplul 3

40 Copilul C., 3 ani, a prezentat acuze la scaun frecvent (8...10 ori/24 ore), grețuri, vomă (4 ori/24 ore), dureri în abdomen. A fost internat în secția gastroenterologie a spitalului municipal de boli infecțioase pentru copii cu diagnosticul prezumtiv „gastroenterită acută”. S-au studiat 4 mostre de conținut intestinal la fel ca în ex. 1 și s-a constatat că nivelul cantitativ al lactobacteriilor în mostrele respective a fost de 1,96; 1,94; 1,82; 1,57 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. În mediu indicele numeric al lactobacteriilor a alcătuit 1,82 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal cu o deviere standard de 0,25. Utilizând metoda descrisă, s-a constatat că starea bacteriocenozei intestinale și respectiv a sănătății organismului copilului este patologică.

Exemplul 4

50 Copilul S., 2 ani și 9 luni, a frecventat grădinița și la moment nu prezenta acuze. Studiarea a 4 mostre de conținut intestinal a evidențiat că indicii cantitativi ai lactobacteriilor în ele au fost respectiv de: 5,64; 5,78; 5,72; 5,95 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. Nivelul cantitativ al lactobacteriilor în mediu a constituit 5,77 logaritmi zecimali ai cantității de celule vii la 1 g de conținut intestinal, devierea standard fiind 0,21. Conform metodei propuse a fost apreciată starea intermediară a bacteriocenozei intestinale și sănătății organismului copilului examinat.

MD 3718 G2 2008.10.31

5

Exemplul 5

Un grup de 10 copii organizați, cu vârsta de la 2 până la 3 ani, au frecventat grădinița și la moment nu prezenta acuze. S-au studiat 10 mostre de conținut intestinal și s-a evidențiat cantitatea de lactobacterii, care a atins nivelul de 5,37; 5,43; 5,30; 5,53; 5,76; 5,30; 5,49; 5,63; 5,33 și 5,60 logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. În mediu el a constituit $5,43 \pm 0,10$ logaritmi zecimali ai cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal. Utilizarea metodei revendicate a permis aprecierea în mod expres a stării bacteriocenozei intestinale la acești copii și, respectiv, a stării sănătății lor, care a fost corespunzătoare celei intermediare. Acest fapt a servit ca bază la recomandarea de urgență a măsurilor profilactice, care au ameliorat situația de dereglare a componenței cantitative a bacteriocenozei intestinale, precum și la utilizarea indicilor cantitativi ai lactobacteriilor ca test informativ al stării sănătății copiilor experimentați.

Metoda de determinare a stării bacteriocenozei intestinale, care concomitent permite și aprecierea stării sănătății copiilor de vârstă fragedă este accesibilă, ușor realizabilă, nu necesită utilizarea mediilor nutritive și a aparatului costisitor.

20 (57) Revendicări:

Metodă de determinare a stării bacteriocenozei intestinale la copiii de vârstă fragedă, care include determinarea conținutului cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus* în conținutul intestinal și aprecierea stării bacteriocenozei intestinale, **caracterizată prin aceea că** starea bacteriocenozei se determină după conținutul cantitativ al microorganismelor din genul *Lactobacillus*, exprimat în valoarea logaritmului zecimal al cantității de celule microbiene vii la 1 g de conținut intestinal, după care se apreciază starea sanogenă, intermediară și patologică, când valorile obținute constituie, corespunzător: 10,14...7,83; 7,82...5,88 și 5,87...1,00 – pentru copiii de până la un an; 9,02...7,48; 7,47...5,57 și 5,56...1,00 – pentru copiii de până la 2 ani și 8,79...7,23; 7,22...5,08 și 5,07...1,00 – pentru copiii de până la 3 ani.

35 (56) Referințe bibliografice:

1. Timoșco Maria. Stresul și flora microbiană intestinală. Chișinău, 2005, p. 62-66
2. Galețchi P., Rusu G., Stasii E. ș. a. Dismicrobismul intestinal la copii. Chișinău, 2001, p. 13-19

Șef Secție: GROSU Petru

Examinator: BAZARENCO Tatiana

Redactor: CANȚER Svetlana