

Винахід відносяться до ветеринарної мікробіології і може бути використаний для пересіву та зберігання штамів кампілобактерій на напіврідкому агарі, зокрема очищення штамів кампілобактерій від кокової мікрофлори та дисоційованих форм кампілобактерій.

Мета винаходу - поставлено розробити спосіб пересіву та збереження штамів кампілобактерій, який буде запобігати забрудненню штамів при пересівах та дозволить довший час зберігати їх без пересіву на живильних середовищах в лабораторних умовах, що забезпечується нашаруванням живильного середовища на вихідну культуру штамів кампілобактерій в пробірці (впродовж 2-5 генерацій у одній пробірці).

Існує спосіб пересіву штамів кампілобактерій за допомогою бактеріологічної петлі або пастерівської піпетки на дно пробірки з напіврідким поживним середовищем (Голиков А.В., 1978г., Россельхозиздат, Москва; Лучко М.А., Шманов К.С., 1986, Бюл. ВНИИЕВ). При цьому музейні штами потрібно пересівати кожні 10-12 днів.

Недоліками вищезазначеного методу є часте забруднення культур, що пересівають пастерівською піпеткою або бактеріологічною петлею, часткове внесення культури на поверхню середовища і розмноження дисоційованих форм кампілобактерій на поверхні середовища, додаткові затрати пастерівських піпеток, живильного середовища та пробірок.

Існує спосіб Флорана (Россия, Левина И.Г., Ветеринария, 1963). Для очищення культур кампілобактерій від сторонньої мікрофлори в пастерівську піпетку набирають живильне середовище, потім відсмоктують забруднену культуру кампілобактерій та запаюють видовжену частину піпетки. Цей спосіб може бути прототипом.

Недоліками способу Флорана є малий вихід очищеної культури, незручність відбору очищеної культури з пастерівської піпетки та незручність культивування в ексікаторі, можливість знищення культур при запаюванні кінчика пастерівської піпетки.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб культивування та селекції недисоційованих форм штамів кампілобактерій, що містить часткове очищення культур від сторонньої мікрофлори та дисоційованих форм кампілобактерій шляхом нашарування живильного середовища шаром 1-2см³, культивування культури кампілобактерій на протязі 3-х діб з моменту висіву в ексікаторі з збільшеною кількістю вуглекислого газу при температурі 37,5±0,5°C та зберігання при кімнатній температурі, щоб забезпечити спосіб культивування і селекціонування недисоційованих форм штамів кампілобактерій.

Спосіб виконується таким чином. Музейну культуру висівають за допомогою пастерівської піпетки з ліофілізованого або замороженого стану, або з патологічного матеріалу на дно пробірок, які містять 5см³ напіврідкого живильного середовища (що дорівнює висоті стовпчика середовища приблизно 3см при діаметрі пробірки 15мм) та зверху нашаровують 1-2см³ напіврідкого живильного середовища. Вихідну культуру кампілобактерій культивують на протязі 3-х діб з моменту висіву в ексікаторі при температурі 37,5±0,5°C. Перевіряють морфологічні, біохімічні та серологічні властивості штамів кампілобактерій. Після перевірки на перший висів обережно нашаровують напіврідке живильне середовище за допомогою стерильної мірної бактеріологічної піпетки в кількості 1,5-2см³ (що дорівнює 1-1,5см висоти стовпчика середовища при діаметрі пробірки 1,5см). Штам культивують на протязі 3-х діб в ексікаторі при температурі 37,5±0,5°C після чого залишають при кімнатній температурі (17-23°C) в захищеному від сонячних променів місці. В процесі зберігання визначають термін зберігання та ступінь дисоціації. Спосіб пояснюється такими прикладами.

Приклад 1

Бактеріологічною петлею висівали в напіврідкий агар 8 культур штамів кампілобактерій (з них 5 штамів *Campylobacter fetus ssp. venerealis*, а 3 штами *Campylobacter fetus ssp. fetus*), культивували 3 доби та зберігали при кімнатній температурі.

Приклад 2

На первинний висів 8 вихідних культур штамів кампілобактерій (з них 5 штамів *Campylobacter fetus ssp. venerealis*, а 3 штами *Campylobacter fetus ssp. fetus*) нашаровували напіврідкий агар, культивували 3 дні та зберігали при кімнатній температурі.

Чистоту культур, їх збереженість та ступінь дисоціації (шляхом морфологічного обстеження під мікроскопом) визначали на 7, 11, 14, 18, 21, 30 дні зберігання при кімнатній температурі (таблиця).

Порівняльний аналіз з прототипом дозволяє зробити висновок про те, що заявлений спосіб відрізняється від відомих тим, що дозволяє зберігати культури кампілобактерій в лабораторних умовах на протязі 18-30 днів при меншій ступені дисоціації та забруднення культур, що відповідає критерію "новизна".

Спосіб нашарування живильного середовища на вихідну культуру дає можливість зберігати живі культури кампілобактерій протягом більш тривалого часу при кімнатній температурі при економії пастерівських піпеток, пробірок, живильного середовища та менших затратах робочого часу. При цьому ріст кампілобактерій можна виявити вже після першої доби культивування в ексікаторі при температурі 37,5±0,5°C.

Цей спосіб дозволяє економічно витрачати живильне середовище та робити до 5 нашарувань в одній пробірці.

Таблиця

Срок спостереження	Посів бактеріологічною петлею			Нашарування живильного середовища		
	кількість висіяних штамів	виросло	ступінь дисоціації	кількість висіяних штамів	виросло	ступінь дисоціації
7	8	8	5%	8	8	0%
11	8	8	20-30%	8	8	10%
14	8	7*(3 штами <i>C.fetus fetus</i> , 4 штами <i>C.fetus venerealis</i>)	30%	8	8	10%
18	8	6*(3 штами <i>C.fetus fetus</i> , 3 штами <i>C.fetus</i>)	30%	8	8	20%

		venerealis)				
21	8	4(2 штами C.fetus fetus, 2 штам C.fetus venerealis)	30-40%	8	7(3 штами C. fetus fetus, 4 штами C.fetus venerealis)	20-25%
30	8	2*(1 штам C.fetus fetus, 1 штам C.fetus venerealis)	40%	8	6(3 штами C.fetus fetus, 3 штами C.fetus venerealis)	20-30%

* - забруднені культури коковою мікрофлорою в кількості 1-2 культури.