

Винахід стосується медицини, а саме мікробіології, й може бути використаний для одержання штамів хламідій із культури клітин.

Важливість удосконалення лабораторної діагностики хламідій і викликаних ними інфекцій, визначається внутрішньоклітинним паразитизмом цих мікроорганізмів прокаріотної природи, що значно затруднює їх виявлення.

Первинне виділення ізолятів хламідій на перещеплюваних лініях клітин часто приносять стабільно позитивні результати тільки для високопатогенних штамів хламідій (венеричної лімфогранульоми, трахоми). Інфекційний агент добре адаптується до певних культуральних систем при використанні оптимальних умов для розвитку паразита (Кутова В.В. Некоторые особенности использования L-цистеина для стимуляции размножения хламидий в культуре клеток // Дерматология и венерология. - 2001. - №1 (11). - С.33-35).

Наряду з перевагами даний метод має наступний недолік: він недостатньо чутливий для виділення і подальшого пасивування низько патогенних штамів хламідій збудників сечостатевого та бронхолегеневого тракту.

В діагностичній роботі частіш усього використовують перещеплювані клітини L 929, McCoу, які вирощують і застосовують для виділення хламідій. (Шаткин А.А, Мавров И.И. Урогенитальные хламидиозы. - Киев: "Здоровье", 1983. - 200с).

Спосіб здійснюють таким чином: при стандартних умовах моношар клітин інфікують біологічним матеріалом від хворих. Центрифугування інокулята на моношар проводять на центрифугі з горизонтальним ротором при 2400g на протязі 1 години. Після центрифугування інокулят видаляють, моношар промивають розчином Хенкса і подальше культивування проводять на поживному середовищі 199 з 5% вмістом ембріональної телячої сироватки та додаванням 1мкг/мл циклогексими́ду. Результати оцінюють по виявленню цитоплазматичних включень хламідій в моношарі клітин в світловому та люмінесцентному мікроскопі.

Вищезгаданий спосіб діагностики є найбільш близьким за технічною суттю та результатами, який може бути досягнутий до того, що заявляється, тому його обрано за прототип.

Основним недоліком відомих способів, у тому числі прототипу є досить повільне накопичення збудника, і як наслідок, одержання недостатньої кількості інфекційного агенту.

У зв'язку з вищезгаданим, в основу винаходу покладено задачу підвищення якості та вірулентності отриманих штамів хламідій.

Задача, яка покладена в основу винаходу, вирішується тим, що у відомому способі виділення хламідій, який включає їх накопичення на перещеплювальній культурі клітин, згідно з винаходом, культурою клітин додатково інфікують 6-7-денні жовткові мішки курячих ембріонів.

Для чого біологічним матеріалом від хворого інфікують моношар культури клітин шляхом центрифугування та культивування, згідно з прототипом, через 3 доби після культивування моношаром клітин, навантаженим біологічним матеріалом, інфікують жовткові мішки курячих ембріонів, інкубують їх до 10 діб, розтинають яйце та видаляють інфіковану оболонку жовтка, готують мазки-відбитки для бактеріоскопічного дослідження.

Позитивний ефект винаходу обґрунтований тим, що курячі ембріони являються чутливою моделлю для виділення і лабораторного культивування всіх хламідій по класичному методу. (Cox H.R. Use of yolk sac of decaying chick embryo as medium for growing Rickettsiae of rocky mountain spotted fever and typhus groups // Public Health Reports (Washington). - 1938. - Vol.53, P.2241-2247). Хламідії найбільш інтенсивно розмножуються в ендодермальних клітинах оболонок жовткових мішків 6-7-денних курячих ембріонів, що розвиваються. Застосування курячих ембріонів обумовлює відмінні передумови їх використання для підняття вірулентності отриманих штамів. При цьому проходить різке зростання кількості елементарних та ретикулярних тілець хламідій. Штам набуває достатньої вірулентності, і що саме головне, він набагато краще зберігає свою життєздатність при довгостроковій кріоконсервації і здатний відновлятися в мінімальні терміни при необхідності розконсервування.

Спосіб виділення штамів хламідій із культури клітин проводять слідуєчим чином: одержаний моношар культури клітин, який інфікований біологічним матеріалом згідно з прототипом, через 3 доби переносять в жовткові мішки 6-7-денних курячих ембріонів в кількості 0,2-0,5мл. Інфіковані яйця інкубують при +35°C та високій відносній вологості, контролюючи життєздатність ембріонів в овоскопі. Яйця, які загинули в перші 2-3 дні, винищують. Жовткові мішки ембріонів, які загинули в послідуєчі строки, а також які дожили до 10 дня після інфікування, витягують, роблять мазки-відбитки для виявлення морфологічних структур та антигенів хламідій.

Ефективність способу ілюструє слідуєчий приклад: Штам UGC Chlamydia trachomatis, виділений з каналу шийки матки хворої С. 47 років, історія хвороби 65. Штам одержаний в результаті переносу інфікованого моношару клітин біологічним матеріалом від хворої на жовткові мішки 6-7-денних курячих ембріонів, що розвиваються. Первинне бактеріологічне дослідження інфікованого моношару культури клітин позитивних результатів на наявність хламідій не дало. Тільки при вивченні мазків-відбитків оболонок жовткових мішків загинувих курячих ембріонів бактеріоскопічними методами вдалося виявити велику кількість елементарних та ретикулярних тілець хламідій. При подальших пасажах штам досяг достатньої вірулентності, що дало можливість подальшого вивчення його біологічних властивостей та реєстрації до "Музею штамів патогенних для людини мікроорганізмів в ІЕІХ АМН України".