

6. Проценко Т.В. Иммуноterapia при папилломавирусной инфекции:// Журнал дерматовенерологии і косметологии ім. М.О. Торсуєва. - 2006. - № 1-2(12). - С 251.
7. Тактика терапии манифестных форм папилломавирусной инфекции урогенитального тракта и аногенитальной области у женщин. Методические рекомендации / Н.В.Кунгуров, Ю.Н.Кузнецова, Н.В.Зильберберг, Н.П. Евстигнеева-Екатеринбург, 2010.-24с.
8. Genital warts, human papillomaviruses, and cervical cancer // Lancet - 1985. - Vol. 2, №8463. - P. 1045-1046.
9. Hasler W.L.The irritable bovel syndrome during pregnancy//Gastroenter. Clin. North Amer. – 2003.

**КЛИНИКО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ПАПИЛЛОМАВИРУСНЫХ ПРОЛИФЕРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ
(НА МОДЕЛИ ГЕНИТАЛЬНЫХ БОРОДАВОК)**

Г.Ф.Лобанов, Л.И.Шелюженко, Н.Н.Руденко

Приведены клинико-эпидемиологические особенности развития и течения пролиферативных процессов, как с экзофитным, так и с эндофитным характером роста, вызванных папилломавирусной инфекцией, на модели генитальных бородавок в Киевском регионе.

**CLINICAL AND EPIDEMIOLOGICAL FEATURES OF PAPILOMA-VIRAL
PROLIFERATIVE PROCESSES (ON MODEL OF GENITAL WARTS)**

G.F.Lobanov, L.I.Shelyuzhenko, N.N.Rudenko

Clinical and epidemiological features of development and course of proliferative processes both with exophytic and endophytic nature of growth caused by papilloma-viral infection, on model of genital warts, in Kyiv region, have been specified.

УДК 579.882//044 615.33.015.8

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ РЕФЕРЕНС-ШТАММА CHLAMYDIA
TRACHOMATIS К ЛИПОСОМАЛЬНЫМ ФОРМАМ АНТИБИОТИКА**

Г.И.Мавров, В.В.Кутовая, Н.Н.Иванова, О.Н.Белоконь

ДУ «Институт дерматологии и венерологии АМН Украины»

Ключевые слова: антибиотики, чувствительность, *S.trachomatis*

Введение

Несмотря на значительные успехи клинической микробиологии этиотропная терапия хламидийной инфекции, по крайней мере, на начальном этапе остается эмпирической, и, вероятно, будет таковой в

обозримом будущем. Основой режимов эмпирической терапии являются данные о природной чувствительности к антибактериальным препаратам возбудителей хламидиозов. Однако, проблема значительно осложняется распространенной резистентностью штаммов хламидий циркулирующих в человеческой популяции [1, 5, 8]. Научное общество осознало бесперспективность пассивного отношения к процессам возникновения и распространения резистентности, поскольку она неизбежно приводит к проигрышу человека в борьбе с хламидиями на популяционном уровне. При этом речь идет не столько о пропаганде и быстрейшему внедрению в практику новых антибактериальных препаратов, а к разработке мер на «продление жизни» известных лекарственных средств, оформленных в липосомальные белковые структуры. [6, 7]. Практически все мишени действия антибиотиков на микробную клетку локализованы либо в цитоплазматической мембране, либо во внутренних структурах таковой. Для того чтобы достичь чувствительной мишени антибиотик должен преодолеть внешние структуры эпителиальной и микробной клетки. Основным препятствием для антибактериальных препаратов является липополисахаридный слой хламидий, пассивно диффундировать через который в силу гидрофильности молекулы большинства антибиотиков не способны. Транспорт антибактериальных препаратов внутрь микробной клетки осуществляется через пуриновые каналы белковой природы, которые являются естественными путями для поступления питательных веществ внутрь микроорганизма и выведению продуктов метаболизма. [9]. Актуальность проблемы направленного транспорта препаратов обусловлена неуклонным ростом числа «неуспехов» в лечении хламидийных заболеваний. Поскольку липосомы помогают дольше сохранить высокий уровень концентрации лекарственных препаратов в крови и в клетках, а также помогают им проникнуть

в те области, куда без липосом они попасть не могут, мы предположили, что указанные свойства могут быть использованы в лечении внутриклеточных инфекций, таких как хламидиоз. Изучение антихламидийного действия антибактериальных препаратов (официального и экспериментальных липосомальных растворов ципрофлоксацина) на референс-штамм *S.trachomatis* в культуре клеток в зависимости от концентрации разведения испытуемых растворов в условиях развитой инфекции и явилось целью наших исследований. Основное внимание будет уделено одному из типов нанокапсул – липосомам как контейнерам для доставки лекарственных средств. Мембрана липосом состоит из природных фосфолипидов, что определяет их многие привлекательные качества. Они не токсичны, биодергардируемые, при определенных условиях могут поглощаться клетками, их мембрана может сливаться с клеточной мембраной, что приводит к внутриклеточной доставке их содержимого [6]. Кроме того, вещество, заключенное в липосомы, в нашем случае ципрофлоксацин, защищено от воздействия ферментов, что увеличивает эффективность препаратов, подверженных биодеструкции в биологических жидкостях. Еще важное преимущество липосом как лекарственных форм – постепенное высвобождение лекарственного вещества, инкорпорированного в них, что увеличивает время его действия.

Материалы и методы

В работе были использованы: 10% спиртовой раствор яичного лецитина (ЗАО "Биолик", Украина); смесь полярных липидов с негативным зарядом [9]. В качестве испытуемого был выбран антибиотик ципрофлоксацин (Украина) - фторхинолон, являющийся «золотым стандартом» этой группы антибактериальных препаратов и обладающий широким спектром активности в отношении грамотрицательных микроорганизмов, к которым относятся также и хламидии, а также его липосомальные

формы двух видов. В качестве инфекционного агента был использован штамм Bu-L2 венерической лимфогранулемы. Липосомы получали методом выпаривания липидов на вакуумном ротационном выпаривателе (Vakuum Rotation, Германия). В работе были использованы 10% спиртовой раствор яичного лецитина (ЗАО "Биолик", Украина); холестерин ("Sigma", США); смесь полярных липидов с негативным зарядом [3]. После выпаривания липосомы суспендировали в забуференном физиологическом растворе при pH 7,4 и озвучивали на диспергаторе УЗДН-А (Россия) при охлаждении до 2-4°C. Размер липосом определяли методом турбодиметрии по измерению оптической плотности исследуемой липидной суспензии в диапазоне волн 450 - 700 нм. Средний размер липосом составлял 160 - 180 нм, концентрация липидов в липосомах составляла 0,2%. Для получения стерильных липосом применялась фильтрация через фильтры "Millipore" с величиной пор 0,22 мкм [3]. Антибиотик, не включившийся в липосомы, удаляли ультрацентрифугированием (центрифуга MSE-Superspeed 65, Англия) на протяжении часа при 105000g. Выход липосом определяли методом спектрофотометрии при длине волны 450 нм. Определение концентрации цiproфлоксацина осуществляли спектрофотометрически после его экстракции смесью хлороформ:спирт (3:2 соответственно) при длине волны 278 нм. Рабочий раствор официального препарата цiproфлоксацина готовили в соответствии с инструкциями производителей. В эксперименте по определению МПК использовали десятикратные разведения чистого цiproфлоксацина в диапазоне 0,2 мг/мл и 0,02 мг/мл, а также липосомальные формы цiproфлоксацина в тех же дозах основного действующего вещества: №1 - липосомальная форма антибиотика Фхя+ЦФ содержащая цiproфлоксацин в дозе 20мг и полученная на основе яичного лецитина (Фхя). №2 - липосомальная форма антибиотика ОЗЛП+ЦФ содержащая цipro-

флоксацин в дозе 20 мг и полученная путем использования смеси полярных липидов с большим отрицательным зарядом (ОЗЛП). №3 – официальный (аптечный) раствор антибиотика цiproфлоксацина (ЦФ), содержащий цiproфлоксацин в дозе 50 мг. Разведения растворов содержащих антибиотик готовили методом переката *ex tempore* перед каждым экспериментом. Культивирование клеток L 929: фибробластоподобные клетки мышей линии L 929 выращивали в плоскодонных матрасах на 25см³ при температуре 36°C в среде 199 («БиолоТ», Россия) с добавлением 3 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) («БиолоТ», Россия), 100 мкг/мл гентамицина (КРКА, Словения) и 2,5 мкг/мл амфотерицина (Россия). Для формирования монослоя культуры клеток L-929, в специальные стерильные плоскодонные стаканчики с покровными стеклами вносили по 1мл суспензии клеток ($1 \cdot 10^5$ клеток/мл) на ростовой среде 199 с добавлением 3 % ЭТС, 100 мкг/мл гентамицина (КРКА, Словения) и 2,5 мкг/мл амфотерицина (Россия) и инкубировали в условиях термостата при температуре 35-37°C в течение суток [2]. Культивирование *Chlamydia trachomatis*: Референс-штамм *Chlamydia trachomatis* Bu-434, серовар L2 венерической лимфогранулемы был получен из криохранилища Филиала Музея патогенных для человека микроорганизмов ДУ «ИЕИЗ АМНУ» им. Заболотного при ДУ «ИДиВ АМНУ». Для культивирования хламидий из плоскодонных стаканчиков содержащих покровные стекла с 24-часовой культурой клеток (КК) удаляли 0,5мл ростовой среды и вносили инокулят с референс-штаммом в количестве 0,5мл, затем центрифугировали при 3000об/мин (2400 g) 1 час в центрифуге с горизонтальным ротором (Германия). После этого стаканчики инкубировали при 36°C в суховоздушном термостате в течение 1 час, затем среду удаляли, добавляли в стаканчики 1мл инкубационной среды и инкубировали при 36°C в течение 72 час. Визуализацию и подсчет хламидийных

включений производили с помощью светового микроскопа Микмед-5 (Россия) при 200-кратном увеличении в препаратах, окрашенных по Май-Грюнвальду-Гимзе. С целью получения большого количества хламидий, необходимого для тестирования чувствительности к антибиотикосодержащим препаратам, проводили 4 последовательных пассажа, стандартизируя систему «КК-инфекция» до содержания не менее 20-40 хламидийных включений в поле зрения при 200-кратном увеличении (т.е. 10^3 в 1 мл инокулята) [2]. Суточную КК L-929 инфицировали хламидиями следующим образом: после очередного пассажа культивирования референс-штамма из стаканчиков с инфицированной КК вынимали покровные стекла и готовили суспензию, стандартизованную до содержания включений хламидий 10^3 в 1мл. Из стаканчиков с чистой 24-часовой КК удаляли 0,5мл ростовой среды и вносили инокулят хламидий в количестве 0,5 мл, затем центрифугировали при 3000об/мин (2400 g) в течение 1 часа в центрифуге с горизонтальным ротором. После этого стаканчики инкубировали при 36°C в термостате в течение 1 часа. Затем среду удаляли, добавляли в стаканчики 1мл инкубационной среды содержащей разведения тестируемых препаратов. Кратные разведения испытуемых растворов осуществляли методом переката из исходных растворов на среде 199 ex tempore в диапазоне 2мг/мл и 0,2мг/мл. Каждую концентрацию тестировали в 5 стаканчиках. В качестве контроля использовали 5 стаканчиков, куда добавляли инкубационную среду без тестируемых антибактериальных препаратов (контроль прохождения инфекции).

Таким образом, все стаканчики с развивающейся инфекцией были разделены на следующие группы:

№1 - Опытная, для внесения препарата №1 в количестве 0,2мг/мл (n=5);

№2 - Опытная, для внесения препарата №1 в количестве 0,02 мг/мл, (n=5);

№3 - Опытная, для внесения препарата №2 в количестве 0,2мг/мл (n=5);

№4 - Опытная, для внесения препарата №2 в количестве 0,02 мг/мл, (n=5);

№5 - Опытная, для внесения препарата №3 в количестве 0,2мг/мл, (n=5);

№6 – Опытная, для внесения препарата №3 в количестве 0,02 мг/мл, (n=5);

№7 – Контрольная, инфицированная без внесения экспериментальных растворов (контроль прохождения инфекции); (n=5);

№8 – Интактная культура клеток, контроль монослоя (n=2). После инфицирования и смены среды все стаканчики инкубировали при 36°C в термостате в течение 72 часов.

Через каждые 24 часа инкубации (24, 48 и 72 ч) покровные стекла с КК извлекали из стаканчиков, фиксировали 96° этанолом в течении 10 мин, отмывали физиологическим раствором и окрашивали по Май-Грюнвальду-Гимза. Результаты оценивали в световом микроскопе по выявлению в монослое клеток наличия типичных цитоплазматических включений, компактно или диффузно расположенных морфологических структур возбудителя на разных этапах развития [2].

Результаты и их обсуждение

Результаты тестирования изучаемых лекарственных форм антибиотика и предложенных липосомальных форм того же антибиотика на *S.trachomatis* референс-штамма, суммированы в табл. 1, 2. В эксперименте были использованы разведения испытуемых растворов антибиотика ципрофлоксацина официальной и липосомальных форм в разведениях 1:10 и 1:100, что составляло концентрацию действующего вещества в растворе 0,2 и 0,02 мг/мл соответственно. В результате исследования установлено, что использование лекарственной формы официального ципрофлоксацина в концентрации 0,2 мг/мл вызывает цитопатическое действие на клеточный монослой, что проявилось в сохранении его от 50 до 60% по сравнению с остальными тестируемыми препаратами. Дальнейшее изучение прохождения ин-

фекции показало, что добавление в культуру хламидий на 24 часа инкубации опытных образцов №1, №2, №3 не препятствовало формированию включений, хотя и отличалось в количественном значении. Наибольшая концентрация МПК₉₀ наблюдалась в исследуемых образцах №2, №1, №3 в соответствии с дозой исследуемых растворов антибиотика. На 48 часов инкубации наблюдалась та же картина МПК₉₀ как и в предыдущем опыте с разницей в количественном составе развивающихся включений хламидий. После 72 часов прохождения инфекции в культуре клеток и воздействия на нее опытных образцов установлено, что МПК липосомальной формы антибиотика №2 в дозе 0,2 мг/мл цитоплазматических включений хламидий не выявлено, когда при меньшей концентрации данной формы 0,02 мг/мл наблюдались единичные не развитые формы хламидий. При исследовании культуральных образцов опытных форм липосомального №1 и официального ципрофлоксацина №3 установлено наличие цитоплазматических включений хламидий в разной степени зрелости и в разном количественном составе. Принимая во внимание особенности биологии возбудителя - внутриклеточный паразитизм - не представляется возможным корректно оценить действие антибактериальных растворов методом микроскопии окрашенных препаратов, полученных в ходе первой фазы эксперимента. Известно, что выживаемость небольшого количества инфекционных элементарных телец - может иметь место *in vitro* и в ситуации *in vivo* полная элиминация возбудителя наступает возможно, при воздействии иммунных механизмов макроорганизма выживших под воздействием антибиотиков. Из этого следует, что в 72-часовом окрашенном препарате визуально мы можем наблюдать как потенциально инвазивные формы, так и потерявшие эту способность под действием антибиотиков хламидий на разных стадиях своего развития. Для более полной оценки подавляю-

щего действия изучаемых антибактериальных препаратов была проведена вторая фаза эксперимента, что позволило оценить МПК тестируемых препаратов. Так как накопление хламидий в культуре клеток происходит медленно, культивирование стандартно осуществлялось в двух последовательных пассажах, первый из которых - слепой. Для проведения пассажей культуру клеток L-929 подготавливали как описано выше. Затем стаканчики с монослоем инфицировали материалом, полученным в ходе первой фазы эксперимента. В условиях соблюдения стерильности из стаканчиков одной группы покровные стекла были извлечены, помещены в ступку и растерты с добавлением небольшого количества ростовой надосадочной жидкости 199. Затем полученную взвесь центрифугировали 5 мин при 1000 об/мин для избавления от остатков стекла. Полученным инокулятом инфицировали КК по процедуре описанной выше, а затем инкубировали в термостате при температуре 35-37°C до 72 час. После первого (слепого) пассажа стаканчики просматривали *in vitro* в инвертированном микроскопе для оценки состояния монослоя (табл. 2). Монослой культуры клеток инфицированный инокулянтом во всех опытных образцах был сохранен на 70-80%. Инфекция на данном этапе работы не просматривалась. Затем по описанной выше схеме был проведен второй пассаж. После 72 часов инкубации из стаканчиков были извлечены покровные стекла, окрашены по Май-Грюнвальду-Гимзе и изучены при световой микроскопии. Результаты оценки состояния монослоя и прохождения инфекции представлены в табл. 2. Во втором пассаже в клеточном монослое наблюдались типичные цитоплазматические включения хламидий от 5 до 10 в 100 полях зрения в 1-ой и 2-ой опытных группах, что соответствовало липосомальной форме антибиотика №1 содержащий ципрофлоксацин в количестве 0,2мг/мл, и 0,02мг/мл. В опытных группах 3 и 4, что соответствует липосомальной

форме антибиотика №2 содержащий ципрофлоксацин в количестве 0,2мг/мл и количестве 0,02 мг/мл, в клеточном монослое типичных цитоплазматических включений хламидий клеток не выявлено. Полностью развитая инфекция наблюдалась в 5-ой группе с чистым аптечным ципрофлоксацином в дозе 0,2 мг/мл.

Таким образом, в проведенном эксперименте получены результаты антихламидийного действия официального и экспериментальных липосомальных форм ципрофлоксацина на референс-штамм *S.trachomatis* в культуре клеток в зависимости от концентрации разведения испытуемых растворов в условиях развитой инфекции. Липосомальная форма ципрофлоксацина №2 в количестве 0,2мг/мл, и 0,02мг/мл полностью элиминировала возбудитель в культуре клеток при последующих пассажах, в отличии от других вышеперечисленных форм. Трудно переоценить важность изучения липосомальных

лекарственных форм на феномен резистентности хламидий к антибиотикам, поэтому дальнейшее изучение данной проблемы рационально.

Выводы

Экспериментально установлено, что референс-штамм *S.trachomatis* *in vitro* оказался резистентно-устойчивым к ципрофлоксацину в дозе 0,2 мг/мл, применяемый для лечения хламидийной инфекции.

Высокая антихламидийная активность проявлена липосомальной формой ципрофлоксацина, полученного на основе полярно негативно заряженных липидов в дозах от 0,2 мг/мл, 0,02 мг/мл по сравнению с официальным ципрофлоксацином в тех же дозах. Использование отрицательно заряженных липосом на основе полярных липидов с антибиотиком, усиливает проникновение внутрь клетки с хламидийной инфекцией в большей степени, чем использование фосфатидилхолиновых липосомальных форм с антибиотиком.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мавров Г.И. Хламидийные инфекции: биология возбудителей, патогенез, клиника, диагностика, лечение профилактика / Г.И.Мавров: Монография. – К.: Геркон, 2005. -524 с.
2. Экспериментальное обоснование комбинированного применения липосом и антибиотиков для их рационального использования при хламидиозе / Н.Н.Иванова, И.И. Мавров, В.В. Кутовая и др. // Дермалогия и венерология. - 2008. - №1.-С. 15-19.
3. Сорокоумова Г.М. Фосфолипиды. Методы их выделения, обнаружения и изучения физико-химических свойств липидных дисперсий в воде / Г.М Сорокоумова, А.А Селищева, А.П. Каплун //Учебно- методическое пособие по биоорганической химии. - М. - 2000. - 105 с.
4. Уніфікація лабораторних методів дослідження в діагностиці захворювань, що передаються статевим шляхом /І.І.Мавров, О.П.Белозоров, Л.С.Тацька та ін. - Харків,2000. - 120 с
5. Устойчивость *Chlamydia trachomatis* к антибиотикам *in vitro*: методологические аспекты и клиническое значение / Е.В.Шипицина, А.М Савичева, Т.А Хуснутдинова и др. // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2004. – том 6, №1. – С. 54-64.
6. Hard charged liposomes inhibit complement - induced haemolysis / N.N Ivanova, A.P. Kaplun, V.I. Shvets at.al. // 24th International Symposium on Conrolled Release of Bioactive Materials, Proceeding. Abstracts. Стокгольм.- 1997- P. 757-758.
7. Husain Al-Awadhi. Inhibition of *Chlamydia trachomatis* growth in mouse fibroblasts by liposome-encapsulated tetracycline / Husain Al-Awadhi, V. Gerald, Stokes and Melvin Reich // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. - 1992.-V. 30.-P. 303-311.
8. Multiple drug- resistant *Chlamydia trachomatis* associated with clinical treatment failure. / J.Somani, Y.B Bhullar, K.A Workowski et ol. // J. Infect. Dis. – 2000. – v.181. – P.1421-1427.

9. Yadunanda Kumar. The Obligate Intracellular Pathogen Chlamydia trachomatis Targets Host Lipid Droplets / Yadunanda Kumar, Jordan Cocchiaro, Raphael H. Valdivia //Current Biology.-2006.-V. 16. - P. 1646-1651.

ВИЗНАЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ РЕФЕРЕНС-ШТАМУ CHLAMYDIA TRACHOMATIS ДО ЛІПОСОМАЛЬНИХ ФОРМ АНТИБІОТИКА.

Г.І.Мавров, В.В.Кутова, Н.М.Іванова, О.М.Білоконь

Вивчена антихламідійна дія офіційного ципрофлоксацину і його експериментальних ліпосомальних форм на референс-штам *C.trachomatis* у культурі клітин залежно від концентрації розведення випробовуваних розчинів в умовах розвиненої інфекції. Отримані дані дозволяють зробити висновок про високу антихламідійну активність ліпосомальної форми ципрофлоксацина, отриманого на основі полярних негативно заряджених ліпідів у дозах 0,2мг/мл і 0,02 мг/мл при порівнянні з офіційним ципрофлоксацином та фосфатиділхоліновою ліпосомальної форми ципрофлоксацина.

SENSITIVITY DEFINITION REFERENS-SHTAMMA CHLAMYDIA TRACHOMATIS TO LIPOSOME ANTIBIOTIC FORMS

G.I.Mavrov, V.V.Kutovaja, N.N.Ivanova, O.N.Belokon

It is studied antichlamyidian action of official ciprofloxacin and fero experimental liposome forms on referens-strain *C.trachomatis* in culture of cells depending on concentration of delution of examinees of solutions in the conditions of the developed infection. The obtained data allows to draw a conclusion about high antichlamyidian activity liposome forms of the ciprofloxacin received on the basis of polar negatively charged lipids in doses of 0,2mg/ml and 0,02mg/ml of an antibiotic in comparison with official ciprofloxacin and phosphatidylcholine liposome by the form of ciprofloxacin.

Таблица № 1

	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа	6 группа	7 группа	8 группа
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>
Тестируемый препарат	раствор №1 в концентрации 0,2 мг/мл n=5	раствор №1 в концентрации 0,02 мг/мл n=5	раствор №2 в концентрации 0,2 мг/мл n=5	раствор №2 в концентрации 0,02 мг/мл n=5	раствор №3 в концентрации 0,2 мг/мл n=5	раствор №3 в концентрации 0,02 мг/мл n=5	Контрольная 1, (контроль прохождения-инфекции), n=3	Контрольная 2 (контроль культуры клеток), (n=2)
Посевная доза клеток	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ к/мл	1x10 ⁵ к/мл	1x10 ⁵ к/мл	1x10 ⁵ к/мл	1x10 ⁵ кл/мл
Состояние монослоя после 24 час инкубации инфекции	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен частично, плотность клеток 50-60%	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен полностью, плотность клеток 90-100%
Прохождение инфекции после 24 час культивирования (Число включений на 100 полей зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 5-6 в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 15-20 в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 1-2 в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 4-6-в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 15-20 в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 50-60 в 100 полях зрения	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами 60-70 в 100 полях зрения	нет
Состояние монослоя после 48час инкубации инфекции	Монослой сохранен (плотность монослоя до 80%)	Монослой сохранен (плотность монослоя до 80%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 80%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 80%)	Монослой сохранен частично, плотность клеток 50-60%	Монослой сохранен (плотность клеток до 80%)	Монослой сохранен (плотность клеток до 90%)	Монослой сохранен полностью, плотность клеток 100%

Продолжение таблицы №1

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Прохождение инфекции после 48 час культивирования (число включений на 100 полей зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (5-6 в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (15 -20 в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (1-2 в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (4-6-в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (10-20 в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (30-40 в 100 полях зрения)	Цитоплазматические включения хламидий с развивающимися морфологическими структурами (60-70 в 100 полях зрения)	Инфекции нет

Таблица №2

	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа	6 группа
Тестируемый препарат	раствор №1 в концентрации 0,2 мг/мл n=2	раствор №1 в концентрации 0,02 мг/мл n=2	раствор №2 в концентрации 0,2 мг/мл n=2	раствор №2 в концентрации 0,02 мг/мл n=2	раствор №3 в разведении 1:25, n=2	раствор №3 в разведении 1:250, n=2
Посевная доза клеток	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ кл/мл	1x10 ⁵ к/мл	1x10 ⁵ кл/мл
Пассаж - слепой (состояние монослоя после 72 ч. культивирования просмотр in vivo в инвертированном микроскопе)	Монослой просматривается плотность монослоя 70-80%					