**ПРОТЕКТИВНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ
КОМПЛЕКСНОГО БИОПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ
СОМАТИЧЕСКОГО ЭКСТРАКТА ТРИХИНЕЛЛ
И ИМУНОФАНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
ТРИХИНЕЛЛЕЗЕ НА БЕЛЫХ МЫШАХ**

Руднева О. В.¹,

к.б.н., с.н.с.

rudneva.olga79@gmail.com

Бережко В. К.¹,

проф., д.б.н, зав. лаб. иммунодиагностики паразитозов
и клеточной технологии

Аннотация

Целью данного плацебо-контролируемого рандомизированного лабораторного исследования была оценка эффективности комплексного биопрепарата на основе соматического антигена трихинелл (СЭТ) в дозе 40 мкг/мышь и иммуностимулятора имунофан в дозе 1 мг/мышь в отношении личинок *T. spiralis* при экспериментальном заражении ими спустя 40 дней после последнего введения препаратов. Препараты вводились двукратно, внутримышечно в 0,2 мл стерильного физраствора с интервалом 48 часов 20 животным из 2 терапевтических групп. 10 мышей контрольной группы получали плацебо. Мыши были экспериментально заражены личинками *T. spiralis* в дозе 30±5 личинок/мышь перорально. Через 40–45 дней проводили контрольную оценку с целью обнаружения личинок *T. spiralis*. Число личинок паразита у животных получавших комплексный препарат сократилось на 61,98%, а у мышей получавших иммуностимулятор – на 31,42% (при расчете по геометрическому среднему числу). Наибольшее количество личинок трихинелл обнаружили в контрольной группе получавшей плацебо.

По результатам исследования был сделан вывод об эффективности двукратного введения комплексного иммунопрепарата на основе СЭТ-40 и

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (Москва, 117218, Большая Черемушkinsкая, 28)

имунофана, а так же о перспективности и целесообразности продолжения дальнейших исследований в поиске наиболее перспективных иммунопрофилактических средств, их доз и кратности применения при трихинеллезе.

Ключевые слова: иммунопрофилактика, антигены, *Trichinella spiralis*, трихинеллез, иммуностимулятор, вакцина.

PROTECTIVE EFFICACY OF A COMPLEX BIOPREPARATION BASED ON A SOMATIC EXTRACT OF TRICHINELLA AND IMUNOFAN IN EXPERIMENTAL TRICHINOSIS IN WHITE MICE

Rudneva O. V.¹,

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher

rudneva.olga79@gmail.com

Berezhko V. K.¹,

Professor, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory
of Immunodiagnostics of Parasitosis and Cell Technology

Abstract

The purpose of this placebo-controlled randomized laboratory study was to evaluate the effectiveness of a complex biological product based on the *Trichinella* somatic antigen (SET) at a dose of 40 µg / mouse and an immunostimulant imunofan at a dose of 1 mg / mouse for *T. spiralis* larvae with experimental infection with them 40 days after the last injection of drugs. The preparations were administered twice, intramuscularly in 0.2 ml of sterile saline with an interval of 48 hours to 20 animals from 2 therapeutic groups. 10 mice of the control group received a placebo. Mice were experimentally infected with *T. spiralis* larvae at a dose of 30 ± 5 larvae / mouse orally. After 40–45 days, a control assessment was performed to detect *T. spiralis* larvae. The number of larvae of the parasite in animals treated with the complex drug was reduced by 61.98%, and in mice treated with an immunostimulant - by 31.42% (calculated from the geometric mean). The largest number of *Trichinella* larvae was found in the control group that received placebo.

According to the results of the study, a conclusion was drawn about the effectiveness of double administration of a complex immunopreparation based on SET-40 and Imunofan, as well as on the prospects and feasibility of continuing further research in

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a Branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Y.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences” (28, Bolshaya Cheremushkinskaya st., Moscow, 117218, Russia)

search of the most promising immunoprophylactic agents, their doses and frequency of use for trichinosis.

Keywords: immunization, antigens, *Trichinella spiralis*, trichinosis, immunostimulator, vaccine.

Введение. Трихинеллез, возбудителем которого является *Trichinella spiralis* относится к одному из наиболее опасных паразитарных зоонозов. Большое влияние трихинеллеза на экономику и здоровье населения признаны Комитетом Экспертов ВОЗ, по мнению экспертов с каждым годом отмечается увеличение числа случаев заболевания людей трихинеллезом. В борьбе с мышечной стадией трихинеллеза наиболее приемлемыми и осуществимыми являются два пути: химиотерапия и вакцинопрофилактика. Проведение химиотерапии всегда сопровождается большими дозами химических препаратов и ограниченным периодом их применения — до организации мигрировавших в мышцы личинок.

Исследования в области иммунопрофилактики гельминтозов ведутся на протяжении многих лет, как в нашей стране, так и за рубежом. Одним из значимых направлений профилактики трихинеллеза является применение специфического паразитарного антигена с иммунопрофилактической целью. Так, применение вакцины на базе рекомбинантного белка (rTs-Adsp) [4] мышей линии BALB/c этим белком в сочетании с адьювантом наблюдали снижение количества личинок трихинелл в мышцах при проверочном заражении на 46,5% по отношению к контрольной группе. Необходимо отметить, что в последние годы возрос интерес к применению иммуностимулирующих препаратов при гельминтозах, как в лечебной практике, так и среди научных исследований. Имеются данные о защитном действии иммуномодуляторов азоксимера бромид, циклоферон и ронколейкин при экспериментальном трихинеллезе мышей [5, 6]. На модели экспериментального альвеолярного эхинококкоза установлено протективное действие иммуностимулирующего препарата риботан в комплексе с клеточным антигеном протосколексов *E. multilocularis* [3]. Известно о применении имунофана в качестве иммунотерапевтического средства в комбинированной иммунотерапии при лечении эхинококкоза [2]. С учетом этих научных данных была поставлена цель - оценить эффективность комплексного биопрепарата на основе соматического антигена трихинелл (СЭТ) и иммуномодулятора имунофан в отношении личинок *T. spiralis* через 40 дней после последнего введения исследуемых препаратов.

Материалы и методы. Исследование проводили на базе лаборатории иммунодиагностики и клеточной технологии ВНИИП – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. Для проведения лабораторного рандомизированного плацебо-контролируемого испытания были приготовлены препараты с использованием соматического экстракта личинок трихинелл в дозе 40 мкг/мышь и иммуностимулятора имунофан, доза которого составила 1 мг/мышь. Опыт провели на 3 группах белых беспородных мышей массой 18-20 г по 10 животных в каждой. Первая группа мышей – контрольная, получала плацебо – стерильный раствор 0,9% NaCl в дозе 0,2 мл/мышь. Вторая группа – имунофан в дозе 1 мг/мышь; и третья – комплексный биопрепарат состоящий из соматического экстракта трихинелл (СЭТ) в дозе 40 мкг белка /мышь и имунофана в дозе 1 мг/мышь. Препараты вводили в 0,2 мл стерильного физиологического раствора дважды внутримышечно с интервалом 48 часов. Заражение подопытных мышей личинками *T. spiralis* в дозе 30 ± 5 личинок/мышь, включая контрольную группу, проводили через 40 дней после последнего введения иммунных препаратов. Для заражения использовался штамм личинок *T. spiralis*, культивируемый в ВНИИП – филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН.

Протективное действие испытываемых препаратов оценивали с 40–45 дня после заражения подопытных животных личинками *T. spiralis*. Мыши каждой группы, включая контрольную, (отдельно), были подвергнуты убою в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», их тушки – измельчению и пептолизу в искусственном желудочном соке методом переваривания мясного фарша по Березанцеву Ю.А. [1] с последующим промыванием и подсчетом обнаруженных личинок трихинелл у каждой мыши в группе. Обработка данных осуществлялась методами математической статистики с использованием ПК.

Результаты исследований. Анализ данных исследования по оценке протективного действия иммунных средств, проведенного на 30 белых беспородных мышах свидетельствует о том, что спустя 40 дней после последнего введения препаратов наибольший эффект защиты наблюдался в группе № 3 при применении специфического комплексного иммунопрофилактического препарата (табл.).

Животные этой группы оказались менее всего подвержены инвазии, среднее геометрическое число обнаруженных у них личинок трихинелл составляло 4349,57 экз./голову, что по сравнению с контролем, получавшем плацебо, было в 2,6 раза меньше. Защитный эффект

также отмечался в группе мышей, которым ввели только имунофан (группа № 2), среднее геометрическое число обнаруженных у них личинок трихинелл было равно 7845,83 экз./голову. По сравнению с животными контрольной группы это значение было в 1,45 раза меньше. Таким образом, протективная эффективность комплексного препарата в группе № 3 составила 61,98%, а имунофана в группе № 2 – 31,42%. По сравнению с эффективностью комплексного препарата, действие имунофана было в 1,8 раза меньше. Введение препаратов хорошо переносилось всеми животными, участвовавшими в исследовании.

Таблица

**Протективная эффективность имунофана в комплексе с СЭТ-40
при экспериментальном трихинеллеze на мышах**

	Кол-во личинок <i>T.spiralis</i>		Эффективность защиты (%)
	среднее арифметическое	среднее геометрическое	
группа 1	12 934,86	11 439,71	0,00
группа 2	8544,43	7845,83	31,42
группа 3	4442,86	4349,57	61,98

Заключение. На основании полученных нами данных по оценке протективных свойств комплексного биопрепарата состоящего из имунофана и соматического антигена *T. spiralis* на экспериментальной модели трихинеллеза установлено, что введение этих препаратов активизировало защитную реактивность организма, сохраняющуюся на протяжении 40 дней и снижающую последующую зараженность животных трихинеллами. Наибольший защитный эффект (61,98%) достигался при использовании имунофана в дозе 1 мг/мышь в комплексе с соматическим антигеном трихинелл в дозе 40 мкг белка/мышь. Так же, защитный эффект (31,42%) наблюдался и при введении имунофана в дозе 1 мг/мышь. Протективная эффективность имунофана была в 1,8 раза меньше эффективности комплексного биопрепарата.

Таким образом, можно считать подход использования комплексных препаратов, состоящих из антигенных компонентов и иммуномодуляторов перспективным с точки зрения иммунопрофилактики трихинеллеза, однако требующим дальнейших исследований по отработке иммунопрофилактических доз и кратности введения комплексного биопрепарата.

Литература

1. Березанцев Ю.А. Простой способ исследования мышц на трихинеллез методом переваривания в искусственном желудочном соке // Лабораторное дело. 1960. № 6. С. 7–8.
2. Дударев В.А., Стрельников А.Г. Комбинированная терапия в лечении эхинококкоза печени // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2009. № 1. С. 66.
3. Руднева О.В., Написанова Л.А., Бережко В.К. Сравнительная оценка современных иммуностимулирующих препаратов на зараженность животных личинками *Trichinella spiralis* при экспериментальном трихинеллезе // Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы: сборник трудов X Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием, г. Москва, 26–28 февраля 2018 года. Москва, 2018. С. 188.
4. Li X., Yao J.P., Pan A.H., Liu W., Hu X.C., Wu Z.D., Zhou X.W. An antigenic recombinant serine protease from *Trichinella spiralis* induces protective immunity in BALB/c mice // Parasitol Res. 2013 Sep; 112(9). 3229–38. doi: 10.1007/s00436-013-3500-6.
5. Rudneva O.V., Berezhko V.K., Sasikova M.R. Immunoprophylaxis of secondary alveolar echinococcosis by a immunostimulation ribotan combined with antigen protoscolex cells of *Echinococcus multilocularis* // Ad Alta: Journal of Interdisciplinary Research. 2016. Vol. 6. Issue 1. P. 88–91.
6. Rudneva O.V., Napisanova L.A., Berezhko V.K. Azoximer i bromidum – protective action of immunostimulator drug in experimental trichinosis of mice // AGROFOR International Journal. 2018. Vol. 3, Issue 1. P. 99–105. DOI: <http://dx.doi.org/10.7251/AGRENG1801099R>

References

1. Berezantsev Y.A. A simple way to study the muscles for trichinosis using the method of digestion in artificial gastric juice. *Laboratory case*. 1960; (6): 7–8. (In Russ.)
2. Dudarev V.A., Strel'nikov A.G. Combined therapy in the treatment of liver echinococcosis. *Medical Bulletin of the North Caucasus*. 2009; (1): 66. (In Russ.)
3. Rudneva O.V., Napisanova L.A., Berezhko V.K. Comparative evaluation of modern immunostimulating drugs for infection of animals with *Trichinella spiralis* larvae in experimental trichinosis. Infectious diseases in the modern world: evolution, current and future threats: a collection of works of the *X Annual All-Russian Congress on Infectious Diseases with International Participation*, Moscow, February 26–28, 2018. Moscow, 2018. P. 188. (In Russ.)

4. Li X., Yao J.P., Pan A.H., Liu W., Hu X.C., Wu Z.D., Zhou X.W. An antigenic recombinant serine protease from *Trichinella spiralis* induces protective immunity in BALB/c mice. *Parasitol Res.* 2013 Sep; 112(9): 3229-38. doi: 10.1007/s00436-013-3500-6.
5. Rudneva O.V., Berezhko V.K., Sasikova M.R. Immunoprophylaxis of secondary alveolar echinococcosis by a immunostimulation ribotan combined with antigen protoscolex cells of *Echinococcus multilocularis*. *Ad Alta: Journal of Interdisciplinary Research.* 2016; 6(1): 88–91.
6. Rudneva O.V., Napisanova L.A., Berezhko V.K. Azoximer i bromidum – protective action of immunostimulator drug in experimental trichinosis of mice. *AGROFOR International Journal.* 2018; 3(1): 99–105. DOI: <http://dx.doi.org/10.7251/AGRENG1801099R>