(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202300034 (13) A2

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.05.31

(22) Дата подачи заявки
2023.05.29

(51) Int. Cl. ***A61K 31/00*** (2006.01)

(54) СПОСОБ ПОВЫШЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ОРГАНИЗМА К ОСОБО ОПАСНЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ ЗАБОЛЕВАНИЯМ БАКТЕРИАЛЬНОЙ И ВИРУСНОЙ ПРИРОДЫ

(31) **2022130042**
(32) **2022.11.18**
(33) **RU**

(71) Заявитель:
АБИДОВ МУСА ТАЖУДИНОВИЧ (RU)

(72) Изобретатель:
Абидов Муса Тажудинович, Абидова Алина Мусаевна, Маржохова Мадина Юрьевна, Каряев Александр Георгиевич (RU)

(74) Представитель:
Родионов Н.М. (RU)

(57) Изобретение относится к области инфекционной фармакологии и касается биологически активных соединений из класса фталгидразидов, к числу которых уже относятся такие соединения, как Галавит - аминофталгидразид натриевая соль-дигидрат и препарат нового поколения Тамерит - 5-аминофталгидразид - ангидрат. Препараты, имея схожую химическую формулу, обладают разной фармакологической и терапевтической активностью и предназначены для лечения широкого спектра воспалительных заболеваний человека и животных, сопровождающихся в том числе токсическим синдромом. Изобретение может быть использовано в научно-исследовательских лабораториях при разработке перспективных платформ и лекарственных средств с противоинфекционной активностью, экспериментальной и клинической фармакологии и инфектологии, ветеринарной инфектологии и фармакологии и учреждениях здравоохранения, занимающихся вопросами профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

202300034 A2

202300034 A2

A61K 0031/00

Способ повышения устойчивости организма к особо опасным инфекционным заболеваниям бактериальной и вирусной природы

1. Область техники, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области инфекционной фармакологии и касается биологически активных соединений из класса фталгидразидов, к числу которых уже относятся такие соединения, как Галавит - аминофталгидразид натриевая соль-дигидрат и препарат нового поколения Тамерит – 5-аминофталгидразид - ангидрат. Препараты, имея схожую химическую формулу, обладают разной фармакологической и терапевтической активностью и предназначены для лечения широкого спектра воспалительных заболеваний человека и животных, сопровождающихся, в том числе, токсическим синдромом. Изобретение может быть использовано в научно-исследовательских лабораториях при разработке перспективных платформ и лекарственных средств с противоинфекционной активностью, экспериментальной и клинической фармакологии и инфектологии, ветеринарной инфектологии и фармакологии и учреждениях здравоохранения, занимающихся вопросами профилактики и лечения инфекционных заболеваний.

2. Уровень техники

Анализ современного состояния санитарно-эпидемиологической обстановки показывает, что в мире в настоящее время сохраняется эпидемически неблагополучная ситуация по целому ряду инфекционных заболеваний. Наибольшую угрозу в этой связи представляют особо опасные инфекции (далее – ООИ), к числу которых относятся чума, сибирская язва, туляремия, геморрагические лихорадки, энцефалиты и др. С увеличением миграционных потоков возрастает вероятность распространения ООИ из эндемичных регионов в регионы, где их регистрации либо отсутствовала,

либо регистрировались эпизодически. Более того, не ослабевает вероятность использования возбудителей ООИ в качестве потенциальных биологических поражающих агентов (БПА) и диверсионных средств.

Для ликвидации подобных нежелательных событий и сохранения здоровья подвергшихся подобным воздействиям людей и животных предусмотрено как можно более раннее использование средств экстренной профилактики и раннего этиотропного лечения, к числу которых относятся антибактериальные препараты широкого спектра действия (доксициклин, рифампицин, ципрофлоксацин и др.). Однако, их эффективность зависит от многих факторов, среди которых время начала приема от момента инфицирования, результатов выявления и идентификации биопатогена, состояния иммунологического фона инфицированного, степени устойчивости биопатогена к антибактериаольным и противовирусным средствам и др. В этой связи, совершенствование экстренной профилактики ООИ в современных условиях является одним из приоритетных направлений медико-биологической защиты и инфектологии. В этом аспекте исследования и поиск эффективных биологически активных соединений осуществляется с использованием различных различных подходов и классов химических средств. В последнее время достаточно активно изучаются фталгидразиды, которые обладают противомикробными и антитоксическими свойствами, что весьма важно в антиинфекционной защите, особенно в отношении ООИ, возбудители которых обладают наиболее выраженными среди остальных биоагентов патогенными и вирулентными свойствами, способными порой преодолевать иммунную защиту и действие антимикробных препаратов.

Среди известных на сегодняшний день фталгидразидов одним из наиболее эффективных следует рассматривать препарат «Тамерит», обладающий иммуномодулирующееей, антиоксидантной и противовоспалительной ктивностью. Препарат «Тамерит» относится к

лекарственным средствам, регулирующим функциональноую активность и метаболизм макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов, повышая их поглотительную и переваривающую активность, а также синтез и секрецию в окружающее межклеточное пространство медиаторов противовоспалительного действия. (Абидов М.Т. 2000. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Москва, Токсический синдром, патогенез, методы коррекции,.Диссерт., на соискании док. мед. наук, 1994).

Формула препарата Тамерит - аминодигидрофталазиндион натрия (5-амино-2,3- дигидрофталазин-1,4-диона натриевая соль, ангидрат); дериват синтетических производных фталгидразида. Основные механизмы иммуномодулирующего действия: на уровне системы неспецифической иммунологической резистентности подавляет (обратимо, на 8 - 12 ч) гиперактивность макрофагов, снижает продукцию активных форм кислорода и других острофазных белков, ответственных за развитие токсического синдрома; восстанавливает функциональное состояние макрофагов, приводя к нормализации их антигенпредставляющей и регулирующей функций; увеличивает антимикробную активность нейтрофильных гранулоцитов, усиливая их поглотительную и переваривающую функции; в совокупности вышеперечисленных эффектов способствует повышению неспецифической иммунологической резистентности – первого барьера защиты организма от попавшего в него биопатогена; на уровне системы цитокинов - снижает избыточный синтез провоспалительных цитокинов, таких как, ФНО-α, интерлейкин-1, -2, -6, -10, -12 и др., одновременно регулируя функциональную активность Т- и В- систем иммунной защиты; на уровне антиинфекционной активности: эффективность препарата показана при фурункулезе (стрептококковой или стафилококковой природы, сепсисе), герпетической инфекции, туберкулезе, сальмонеллезе, дизентерии, малярии, брюшном тифе, геморрагических лихорадках и других инфекционных

заболеваниях, сопровождающихся выраженным токсическим и септическим синдромами.

Совокупность имеющихся к настоящему времени сведений об иммуномодулирующих эффектах тамерита, механизмах возникновения и развития инфекционного процесса, вызванного биоагентами различной природы, в том числе относящихся к потенциальным БПА и диверсионным средствам, вызывающим развитие ООИ, очевидно, что в плане повышения и совершенствования антимикробной защиты в современных условиях особенно от ООИ приоритет следует отдать препаратам с преимущественным иммуномодулирующим действием, а среди них – с одновременным антимикробным, противовирусным и антитоксическим действием, проявляемыми в совокупности с противовоспалительным эффектом.

Анализ доступной патентной и научной литературы показывает, что тамерит в этом плане может оказаться эффективным как при самостоятельном применении, так и в комбинации с предназначенными для противоинфекционной защиты известными препаратами (антибактериальными и противовирусными средствами), а также в составе комплексного (в виде физической смеси) с ними. Последние представляет собой единую лекарственную форму (капсулы, таблетки), в которой присутствуют в определенных весовых соотношениях каждый препарат (один и более) и вспомогательные вещества. Так, комбинации фторхинолонов с противовирусными средствами применяются в качестве для профилактики и лечения вирусных и бактериальных инфекций в ветеринарии [CN1185318. Pressure-sensitive adhesive sheet and convered structure / Isao S., Tomoo O., Hiroshi K. Lintec Corp) // Appl. 28.08.2002 CN Appl. 20018000796, 05.03.2001. (C09J7/02). 32 pp.; WO0145727. Veterinary compositions / Shoa A A.R., Hossny E.-B., Kefah D.A. (New Pharma Res Sweden Ab; Shoa A A.R.; Hossny E.B.; Kefan D.A.) // Appl. 28.06.2001 WO Appl. 2000EP13017,

20.12.2000. (A61K31/70; A61K45/06; A61K47/10; A61K47/12; A61K47/18; A61K47/22; A61P31/12). 31 pp.; CN101467999. Compound preparation of berberine hydrochloride / Hongyun W., Jianzheng L., Changchao B. (Zhengzhou Houyi Pharmaceutical) // Appl. 01.07.2009 CN Appl. 20071300060, 25.12.2007. (A61K31/4375). 7 pp.].

При анализе доступной патентной и специальной литературы фталгидразиды, как препараты, обладающие одновременно антибактериальной, противовирусной и антитоксической активностью, при применении в условиях заражения возбудителями ООИ самостоятельно или в комбинации с антибактериальными и противовирусными средствами не рассматривались.

3. Сущность изобретения.

Тамерит (Tameritum), дериват аминофталгидрозида, полученный по новой технологии, относится к лекарственным средствам, регулирующим функционально-метаболическую активность макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов.

Препарат относится к универсальным иммуномодуляторам с присущим противовоспалительным, иммуномодулирующим, антиоксидантным и новыми доказанными бактерицидным и противовирусным механизмом действия (эффектом) в дозировке от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг.

Формула лекарственного препарата Тамерит - фталазиндион натрия (5-амино-1,2,3,4-тетрагидрофталазин-1,4-диона натриевая соль: моногидрат, дигидрат, безводная форма); дериват синтетических производных аминофталгидразида в виде солей с щелочными и щелочноземельными металлами.

Основные механизмы иммуннотропного действия:

эффекты на уровне системы неспецифической иммунологической резистентности - ингибирует (обратимо, на 8-12 ч) гиперактивность макрофагов, снижает продукцию провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода и других острофазовых белков, ответственных за развитие токсического синдрома. Нормализует функциональное состояние макрофагов, приводит к восстановлению их антиген-представляющей и регулирующей функции. Одновременно, увеличивая микробицидную систему нейтрофильных гранулоцитов, усиливает фагоцитоз и повышает неспецифическую защиту организма.

Техническим результатом данного изобретения является расширение показаний для применения производных солей (с щелочными и щелочноземельными металлами) аминофталгидразида - препарата Тамерит (Tameritum) с иммуномодулирующим, антиоксидантным и противовоспалительным свойствами, одновременно обладающим антибактериальным и противовирусным действием в отношении всех инфекций, опасных и особо опасных инфекций при самостоятельном применении (монотерапия) или в комбинации со всеми антибактериальными, противогрибковыми, противопаразитарными противовирусными и другими препаратами, как раздельными лекарственными и нелекарственными формами в виде монотерапии, так и в комбинации. Тамерит может быть использован для создания лекарственных средств с универсальным противо-инфекционным механизмом действия, комплексных препаратов, различных форм и дозировок для экстренной профилактики и лечения всех инфекций, вызванных всеми патогенами бактериальной, грибковой, паразитарной и вирусной природы (в том числе вирусные гепатиты В, С, вирусы Эбола, Зика и других) в дозировках от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг, полученный любым способом (моно-, дигидрат, ангидрат, в комбинации с другими средствами) для лечения больного организма.

Еще одним техническим результатом является формирование невосприимчивости организма как к инфекциям бактериальной, вирусной природы, так и к патогенам другой инфекционной природы.

Следующими техническими результатами являются:

- снижение обратимо до нормы гиперактивности макрофагов (тем самым, не допуская запуска избыточной воспалительной реакции в организме), при этом не подавляя макрофаги в случае их нормальной (физиологической) активности. В этом кардинальное отличие Тамерита от цитостатиков и других противовоспалительных средств, которые угнетают иммунитет и используются при аутоиммунных заболеваниях для уменьшения аутоагрессии;

- усиление фагоцитоза и повышение микробицидной (уничтожение микробов) активность нейтрофилов и других гранулоцитов (против всех видов бактерий, паразитов, простейших и других патогенных микроорганизмов);

- повышает активность NK-клеток;

- антиоксидантное действие (борьба со свободными радикалами);

- оказывает противовирусное действие (стимулирует синтез эндогенного интерферона);

- безопасность и отсутствие побочных эффектов (важно для детей и пожилых пациентов, людей с аллергическими заболеваниями);

- совместимость с любой другой терапией;

- одновременная эффективность при бактериальных и вирусных инфекциях (актуально, когда растет антибиотико-устойчивость бактерий);

- снижение уровня аутоагрессии;

- возможность приема здоровыми людьми например, для профилактики в эпидемический период;

- возможность приема без предварительной иммунограммы при контакте с инфицированными людьми;

- проявление одновременно антибактериальной и противовирусной активности;

- разнообразие лекарственных форм, как моно- так и готовых комбинированных средств с препаратом (пример: любой антибиотик + Тамерит в одной таблетке, Тамерит + любой противовирусный препарат в одной капсуле, Тамерит + любой противогрибковый препарат в растворе и т.д.). Возможно создание любых форм и сочетаний Тамерита с другими лекарственными и нелекарственными средствами.

Характеристики изобретения в совокупности делают его исключительным.

Конкретно заявленная группа изобретений относится к:

Применению деривата или соли аминофталгидразида, включая препарат Тамерит (Tameritum), в дозе от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг для профилактики и/или лечения инфекционных заболеваний у человека и животных, исключая применение для лечения острых кишечных инфекций, в том числе диареи, исключая лечение панкреатита, исключая профилактику или лечение гнойного перитонита, исключая лечение офтальмосепсиса, язв роговицы, исключая лечение язвенной болезни, в том числе желудка и двенадцатиперстной кишки, исключая лечение раневых поверхностей, исключая туберкулез легких, исключая лечения бруцеллеза, исключая лечение герпети-формы экземы Капоши, исключая лечение гепатита С, исключая лечение гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, в том числе слизистой оболочки рта, в том числе пародонтита, исключая

лечение риккетсиозов, исключая лечение увеитов, исключая лечение кандидоза, исключая лечение периодонтитов, исключая лечение остеомиелита, исключая профилактику послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений.

Еще более конкретно к применению, где применение деривата аминофталгидразида осуществляют в форме инъекций, ингаляций, спреев, свечей, растворов, суспензий, мазей, таблетированных форм, капсульных, сублингвальных форм, в виде кристаллической, лиофилизированной, смешанной и другой формы применения, где соль представляет собой соль щелочных и щелочноземельных металлов, включая натриевую соль (моногидрат, дигидрат, безводная форма), где инфекционные заболевания относятся к опасным и особо опасным бактериальным, грибковым, паразитарным и вирусным заболеваниям человека и животных.

К способу профилактики и/или лечения инфекционных заболеваний у человека и животных, включающий использвание деривата или соли аминофталгидразида, включая препарат Тамерит (Tameritum), в дозе от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг в виде монотерапии исключая применение для лечения острых кишечных инфекций, исключая профилактику или лечение гнойного перитонита, исключая лечение офтальмосепсиса, исключая лечение язвенной болезни, исключая туберкулез легких, исключая лечения бруцеллеза, исключая лечение герпетиформы экземы Капоши, исключая лечение гепатита С, исключая лечение гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, исключая лечение риккетсиозов, исключая лечение увеитов, исключая лечение кандидоза, исключая лечение периодонтитов, исключая лечение остеомиелита, исключая профилактику послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений.

К способу лечения инфекционных заболеваний у человека и животных, включающий использвание деривата или соли аминофталгидразида, включая препарат Тамерит (Tameritum), в дозе от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг в составе

комбинированного лечения, исключая применение для лечения острых кишечных инфекций, исключая профилактику или лечение гнойного перитонита, исключая лечение офтальмосепсиса, исключая лечение язвенной болезни, исключая туберкулез легких, исключая лечения бруцеллеза, исключая лечение герпетиформы экземы Капоши, исключая лечение гепатита С, исключая лечение гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, исключая лечение риккетсиозов, исключая лечение увеитов, исключая лечение кандидоза, исключая лечение периодонтитов, исключая лечение остеомиелита, исключая профилактику послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений.

Также изобретение относится к комбинации препаратов для профилактики и/или лечения инфекционных заболеваний у человека и животных, исключая применение для лечения острых кишечных инфекций, исключая профилактику или лечение гнойного перитонита, исключая лечение офтальмосепсиса, исключая лечение язвенной болезни, исключая туберкулез легких, исключая лечения бруцеллеза, исключая лечение герпетиформы экземы Капоши, исключая лечение гепатита С, исключая лечение гнойно-деструктивных поражений слизистой и кожи, исключая лечение риккетсиозов, исключая лечение увеитов, исключая лечение кандидоза, исключая лечение периодонтитов, исключая лечение остеомиелита, исключая профилактику послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений, включающая дериват или соль аминофталгидразида, включая препарат Тамерит (Tameritum), в дозе от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг и препарат, выбранный из: антибактериального, противовирусного, провивогрибкового, противопаразитарного.

Нами было проведено изучение эффективности препарата Тамерит одного из дериватов аминофталгидразида, в практике комплексного лечения инфекционных болезней.

Тамерит в лечении малярии (краткая информация) Применение тамерита у больных детей с малярией способствовало более раннему восстановлению клинических и лабораторных показателей, свидетельствующих о повышении адаптационных резервов фагоцитов и стабилизации показателей иммунной системы и фагоцитоза.

Кроме того, у больных, получивших тамерит, отмечалось более быстрое купирование симптомов интоксикации (4,2±0,2 дня) по сравнению с контрольной группой (9,6±1,2 дня), снижение высоты и длительности лихорадки (2,8±0,4 дня, против 7,08±0,8 дней в контрольной группе). При применении тамерита в ранние сроки болезни не отмечался синдром нейротоксикоза, что является хорошим предвестником течения тропической малярии вследствие предотвращения микроциркуляторных нарушений в сосудах головного мозга, очевидно, за счет ингибирования продукции гиперактивированными макрофагами провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-β, IL-6). Следует отметить также довольно быстрое сокращение размеров печени и селезенки у больных 2 группы - 5,8±0,2 и 6,2±1,4 дней соответственно против 15,2±2,5 и 10,5±1,2 дней в 1-й группе, ($p<0,001$), сроки исчезновения диспепсических проявлений также достоверно короче у больных, находившихся на комплексной иммунохимиотерапии (диарея - 1,5±0,04; боли в животе - 2,0±0,3; рвота - 1,4±0,04 дней, против 5,8±1,4; 6,5±1,2; 3,6±0,1 дней соответственно в контрольной группе, $p<0,001$).

При применении тамерита значительно сокращались как продолжительность болезни до11,2±1,3 дней против 18,4±2,1 дней в контрольной группе, так и сроки пребывания больных в стационаре (9,8±1,2 и 14,5±2,2 дней соответственно, $p<0,001$).

Вместе с тем, восстановление функциональных характеристик фагоцитов на ранних этапах болезни с прерыванием иммунопатологических реакций определяет, благоприятный исход тропической малярии.

Тамерит в лечении риккетсиозов

Риккетсиозы - группа острых инфекционных заболеваний, которые вызываются внутриклеточными паразитами риккетсиями, заселяющими, в отличие от бактерий, клетки эндотелиального и мезотелиального типа. Механизм передачи инфекции в основном трансмиссивный (при укусе кровососущих насекомых), также возможен гемотрансфузионный и трансплацентарный механизм заражения. Условное разделение риккетсиозов на две основные группы осуществляется в зависимости от особенностей течения заболевания и вида переносчика.

Выделяют: 1. группы тифов, 2. группы пятнистых лихорадок.

Однако различные типы риккетсиозов характеризуются рядом общих патогенетических, патоморфологических, иммунологических и клинических проявлений, характеризующихся острой лихорадкой, сыпью, гепатолиенальным синдромом, регионарным лимфаденитом.

В рамках этиотропной терапии риккетсиозов назначаются антибиотики (циклины, кетолиды). При особо тяжелом течении заболевания рекомендуют введение кортикостероидов. Кроме того, лечение включает проведение детоксикационной терапии. Однако такой способ лечения требует длительного лечения.

Эффективность применения тамерита при риккетсиозной инфекции обусловлена его способностью ингибировать избыточно активированные клетки моноцитарно-макрофагального ряда, и, соответственно, гиперпродукцию ими провоспалительных веществ (интерлейкинов, фактора некроза опухоли, нитросоединений, реакционно-способных радикалов и др.). Направленная иммунотерапия Тамеритом при лечении риккетсиозов обеспечивает меньшую выраженность клинических симптомов и более быстрое выздоровление (Абидов М.Т. Иммунотропная активность Тамерита. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2000 г., М.).

2. Экспериментальное изучение влияния препарата Тамерит в лечении риккетсиозов.

Эксперименты проводились на 90 белых нелинейных мышах массой 10-12 г., у которых воспроизводили перитонеальную форму риккетсиоза путем внутрибрюшинного введения 10% взвеси овокультуры R. astrakhani штамм АР-1, содержащей 105 минимальных инфицирующих доз R. sihirica штамм Нецветаев. Риккетсии указанных штаммов вызывают у мышей перитонеальный риккетсиоз различной степени выраженности R. Siblrica. Интенсивное размножение риккетсий в мезотелиальных клетках приводит к гибели 80-100% животных на 5-8-е сутки после заражения. Инфекция R. . astrakhani характеризуется более доброкачественным течением. На 5-8-е сутки болезни погибает 10-20% животных.

Начиная с 3-4-х суток после заражения обоими видами риккетсий, у мышей проявились клинические признаки заболевания (тусклая взъерошенная шерсть, одышка, отказ от пищи и т.д.).

При заражении R. astrakhani на 4-е сутки при гистоморфологическом исследовании печени отмечены отек стромы с лимфоцитарной инфильтрацией. Среди инфильтрата встречались лимфоциты, что соответствовало картине реактивного гепатита. Кроме того, отмечена пролиферативная реакция звездчатых макрофагов, которые были либо рассеяны по паренхиме, либо формировали небольшие скопления. Отмечено появление большого количества многоядерных гепатоцитов и их умеренно выраженной зернистой дистрофии. В эти же сроки при заражении R. siblrica В печени отмечались аналогичные нарушения, однако наряду с ними на фоне воспалительной реакции четко выявлялись множественные гранулемы, состоящие из ретикулоэндотелиальных клеток, мелких фибробластов и малых лимфоцитов. В других органах отмечаются аналогичные патологические изменения.

У животных, получавших Тамерит, купирование клинических и морфологических изменений происходило в среднем на двое-трое суток быстрее, чем при стандартном способе лечения. На 4-е сутки лечения, на фоне восстановления микроциркуляторного русла в синусоидах отмечено увеличение числа макрофагальных клеток. На 6-е сутки уменьшилась выраженность гранулематозного процесса; 8-е сутки характеризовались дальнейшим регрессом гранулематозного процесса. Появились признаки улучшения микроциркуляции, регенерации дистрофически измененных гепатоцитов в виде появления крупных многоядерных гепатоцитов и регресс эндоваскулитов. Аналогичные позитивные изменения наблюдались при исследовании изучаемых органов. Выживаемость животных увеличилась и составила при заражении R. astrakhani - 98%, а при R. siblrica - 35%.

Все вышеизложенное дает основание рекомендовать препарат для лечения больных с риккетсиозной инфекцией (Абидов М.Т., Нелюбов М.В., Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2001 г.).

Клиническое применение Тамерита в лечении риккетсиозов

Предложен способ лечения риккетсиозов, основанный на использовании антибиотика в сочетании с препаратом Тамерит, при этом его вводят в разовой дозе до 400 мг и суточной дозе до 800-1000 мг, до купирования симптомов интоксикации, а затем до нормализации температуры в дозе 50-100 мг в день.

Проведено лечение больных риккетсиозами (астраханская лихорадка, клещевой сыпной тиф), при этом дозозависимость препарата обусловлена степенью выраженности инфекционного токсического синдрома.

Под наблюдением находились 70 больных астраханской риккетсиозной лихорадкой, из которых 30 составляли контрольную группу (получали антибиотики группы тетрациклина), 40 человек опытной группы дополнительно получали по указанной схеме препарат Тамерит.

Таблица 1. Длительность проявления клинических симптомов в днях при лечении астраханской риккетсиозной лихорадки

Клинические симптомы	Длительность проявления симптомов в днях	
	Лечение доксициклином	Лечение доксициклином и Тамеритом
Повышение температуры тела	11±0,24	6,3±0,81
Головная боль	9,8±0,25	4,1±0,37
Общая слабость	10,8±0,31	5,0±0,21
Миалгии	9,4±0,26	4,0±0,59
Артралгии	9,6±0,28	5,0±0,27
Снижение аппетита	9,1±0,32	6,3±0,59
Тахикардия 80 мин	14,0±0,41	7,1±0,64
Тахикардия 100 мин	8,0±0,37	4,2±0,28
Гепатомегалия	13±0,57	5,0±0,25
Склероконъюнктивит	14±0,29	0,31±0,31
Гиперемия зева	13,3±0,54	5,0±0,21
Головокружение	10±0,25	4,3±0,59
Бессонница	6,3±0,24	2,0±0,21
Кашель	8,0±0,31	4,0±0,23
Тошнота	4-7	2,1±0,41
Рвота	5-8	2,0±0,32
Кожная сыпь	13±0,54	7,0±0,71
Одышка	11±0,28	4,0±0,30
Желтушное окрашивание кожи и слизистых	13,0±0,53	7,0±0,26

ПРИМЕР 1.

Было проведено клиническое исследование возможностей применения препарата Тамерит при лечении сыпного тифа (таблица 2).

Под наблюдением находилось 38 больных, из которых 20 получали только антибиотикотерапию, а 18 больных дополнительно получали препарат Тамерит.

Таблица 2. Длительность проявления клинических симптомов в днях при лечении сыпного тифа

Клинические симптомы	Длительность проявления симптомов в днях	
	Лечение доксициклином	Лечение доксициклином и Тамеритом
Повышение температуры тела	13±0,12	6,0±0,34
Головная боль	9,0±0,23	6,0±0,25
Миалгии	9,0±0,46	5,0±0,15
Артралгии	9,0±0,40	6,0±0,20
Снижение аппетита	11,0±0,55	7,0±0,30
Нарушение сна	12,0±0,34	7,0±0,25
Проявления катара верхних дыхательных путей	10,0±0,17	6,0±0,21
Гиперемия лица	10,0±0,25	6,0±0,22
Гиперемия мягкого неба	12,0±0,21	8,0±0,37
Регионарный лимфаденит	15,0±0,15	11,0±0,23
Экзантема	14,0±0,15	8,0±0,56
Брадикардия	9,0±0,45	7,0±0,27
Гипотония	11,0±0,33	8,0±0,41
Тошнота	9,0±0,28	5,0±0,25
Увеличение лечения	10,0±0,30	8,0±0,37
Увеличение селезенки	11,0±0,25	8,0±0,22

ПРИМЕР 2.

В изучении целесообразности использования препарата Тамерит в терапии лихорадки Ку участвовало 38 больных, из которых 15 находились на традиционной терапии (дезинтоксикационная и антибиотикотерапия), остальным больным дополнительно вводили инъекции препарата Тамерит внутримышечно. Основные клинические симптомы и их длительность указаны в таблице №3.

Таблица 3. Длительность проявления клинических симптомов в днях при лечении лихорадки Ку

Клинические симптомы	Длительность проявления симптомов в днях	
	Лечение доксициклином	Лечение доксициклином и Тамеритом
Повышение температуры тела	14,0±0,24	9,0±0,30
Головная боль	9,0±0,85	6,0±0,25
Миалгии	10,0±0,65	8,0±0,15
Артралгии	10,0±0,40	7,0±0,20
Анорексия	10,0±0,22	6,0±0,11
Нарушение сна	9,0±0,23	6,0±0,50
Рвота	6,0±0,35	4,0±0,10
Гиперемия лица	8,0±0,45	6,0±0,30
Гиперемия мягкого неба	10,0±0,50	7,0±0,35
Брадикардия	11,0±0,50	8,0±33
Гипотония	12,0±0,20	7,0±0,20
Гепатомегалия	13,0±0,45	9,0±0,15
Увеличение селезенки	12,0±0,10	9,0±0,25
Экзантема	14,0±0,17	7,0±0,50
Боль в глазных яблоках	8,0±0,45	6,0±0,37
Желтушный синдром	14,0±0,40	8,0±0,30
Изменения в легких (пневмония)	16,0±0,24	9,0±0,15

Таким образом, было установлено, что дополнительное введение модулятора функции макрофагов, препарата Тамерит в комплексную терапию различных типов риккетсиозов, практически вдвое сокращает время проявления основных клинических симптомов заболевания и способствует сокращению сроков лечения.

Препарат Тамерит одновременно, действуя на нейтрофильные гранулоциты, стимулирует микробицидную систему, усиливает фагоцитоз болезнетворных микроорганизмов, в данном случае риккетсий. С другой стороны, Тамерит снижает продукцию макрофагами IL-1, TNFα, NO, реакционных форм кислорода, уменьшает выраженность эндогенной интоксикации. Воздействие препарата разрывает патогенетическую цепь и приводит в большинстве случаев к купированию патологического процесса в ранние сроки, что способствует улучшению качества проводимой терапии. Применение Тамерита в лечении лептоспироза.

Лептоспироз, острое генерализованное инфекционное заболевание, вызванное попаданием в организм грамотрицательных бактерий рода

Leptospira. Полиорганность поражения, наблюдаемая при лептоспирозе с вовлечением в патологический процесс сердечно-сосудистой системы, печени, почек, нервной системы и с развитием тяжелого токсического синдрома, в ряде случаев заканчивается полиорганной недостаточностью, сепсисом и септическим шоком.

Под наблюдением находилось 30 пациентов в лептоспирозном центре, в возрасте 20-46 лет. Больные были госпитализированы в стационар на 4-9-е сутки заболевания в тяжелом состоянии с выраженными симптомами интоксикации и органной дисфункцией. Они были произвольно разделены на 2 группы, сопоставимые по возрасту и тяжести патологического процесса. У Низ 15 пациентов основной группы диагностирован иктерогеморрагический лептоспироз (желтушная форма, тяжелое течение с преимущественным поражением печени и почек), у одного больного -тяжелая инфекционно-токсическая форма заболевания, обусловленная инфекцией Leptospiracanicola. Этим больным с момента поступления в стационар назначали Тамерит по 100 мг 2 раза в сутки ежедневно внутримышечно в течение 10 суток. Пациентам контрольной группы с иктерогеморрагическим лептоспирозом Тамерит не назначали.

Оценивали продолжительность симптомов интоксикации (цефалгия, общая слабость, тошнота, анорексия, миалгия), комплексное лабораторное обследование, в том числе иммунный статус в динамике.

ПРИМЕР 3.

Нами, была также изучена эффективность Тамерита в комплексной терапии больных иктерогеморрагическим лептоспирозом тяжелой желтушной формы с преимущественным поражением печени и почек, находившихся на лечении в инфекционной больнице. Тамерит назначался больным с момента госпитализации, происходившей на 4-9-е сутки заболевания, по 200 мг внутримышечно ежедневно в течение 10 суток.

Контрольную группу составили 15 больных, сопоставимых по полу, возрасту, срокам поступления в стационар и тяжести лептоспироза.

В результате проведенного исследования установлено, что у больных, получавших Тамерит, в сравнении с контрольной группой, продолжительность клинических проявлений интоксикации была короче, существенно быстрее увеличивалось содержание в крови тромбоцитов, снижались лейкоцитарный индекс интоксикации, активность аланинаминотрансферазы, содержание общего билирубина сыворотки крови и мочевины.

Таким образом, проведенное исследование применения препарата Тамерит при тяжелой форме лептоспироза, показало их эффективность в купировании клинических проявлений и нормализации лабораторных показателей синдрома интоксикации, что свидетельствует о целесообразности включения этих препаратов в комплекс терапии больных лептоспироза. (Лебедев В.В., Абидов М.Т. Диагностика и лечение тяжелых форм лептоспироза. Монография, 2006 г).

Тамерит в лечении брюшного тифа у детей

Брюшной тиф - острое инфекционное заболевание, вызываемое брюшными палочками Salmonellatyphi. Функционально-метаболическая активность макрофагов определяет окончательную элиминацию возбудителя. Фагоцитируя бактерии, макрофаги выделяют провоспалительные цитокины TNFα, IL-1, активные радикалы кислорода, оксид азота, простагландины, лизосомальные ферменты и ряд ругих биологически активных веществ. Гиперпродукция этих веществ макрофагами определяет тяжесть протекания заболевания и выраженность эндогенной интоксикации. С другой стороны, при недостаточном функционировании микробицидной системы макрофагов происходит, так называемый незавершенный фагоцитоз. При этом сальмонеллы, внутри макрофага не погибают, а способны размножаться,

вызывая в дальнейшем очаговые поражения различных органов и приводя, в конечном итоге, к септическому состоянию.

Длительная бактериемия, возникающая за счет постоянного поступления в кровь сальмонелл из первичных и вторичных очагов инфекции, увеличивает, как правило, продолжительность антибактериальной терапии, что может привести к развитию лекарственной болезни, дисбактериозу и подавлению иммуногенеза.

В условиях антибиотикотерапии, частота рецидивов брюшного тифа выше, чем при симптоматическом лечении, а применение вакцин детям мало эффективны, ввиду того, что вакцины реактогенны и дают много побочных эффектов.

Учитывая определяющую роль макрофагов и провоспалительных цитокинов патогенезе брюшного тифа целесообразно введение препаратов направленной иммуннокоррекции в терапию брюшного тифа.

Исходя из этого Тамерит, представляет большой интерес не только как средство для купирования симптомов интоксикации, но и в плане профилактики развития рецидивов. (Абидов М.Т. Токсический синдром, патогенез, методы коррекции. Москва, 1994 г.).

ПРИМЕР 4.

Под наблюдением находилось 84 больных в возрасте 10-14 лет со среднетяжелыми и тяжелыми формами болезни. Диагноз брюшного тифа был подтвержден бактериологическими и клинико-эпидемиологическими исследованиями. Базисную (антибактериальную) терапию получали 56 детей (контрольная группа), 28 пациентам (опытная группа) базисная терапия была дополнена Тамеритом. Результат оценивали как отличный, если все основные симптомы интоксикации купировались за 2-3 сутки, как хороший - на 3-4-е сутки и как удовлетворительный - на 5-6-е сутки.

Отличный эффект препарата отмечен у 64,3% больных, хороший - у 28.6%, удовлетворительный - у 14,3%. Продолжительность курса лечения детей, поступивших в клинику на 1-2-й неделе болезни, составила 5-7 дней, при позднем поступлении и развившихся осложнениях - 10 дней и более. Следует отметить, что наилучший эффект наблюдался в группе больных, получавших Тамерит в ранние сроки заболевания. В 84.3% случаев температура нормализовалась к концу 2-3-х суток, у остальных - на 4-6-е сутки. В контрольной группе температура нормализовалась лишь через 17.0±3.2 суток.

Слабость различной степени выраженности при применении Тамерита купировалась на 2-5 сутки (53,5%). В контрольной группе проявления общей слабости сохранялись до 2 недель.

После применения Тамерита у 85.7% детей аппетит полностью восстановился на 5-6-е сутки. Тошнота, до лечения имевшая место у 64,3% больных, купировалась также на 3-4-е сутки с момента начала лечения, а рвота прекратилась в течение первых суток. В контрольной группе улучшение аппетита зафиксировано через 11,5±3.9 суток, тошнота сохранялась до 6,5±2.3 суток, а рвота у 24% больных прекратилась на 4-е сутки лечения, у остальных - на 6-8-е сутки.

Боли в животе различной интенсивности отмечали 1,4% детей основной группы. После введения препарата у 65% больных болевой синдром купировался на 3-й сутки. В контрольной группе боли в животе сохранялись в течение 9,0±2.8 суток.

Диарея отмечена в обеих группах у 36,9% больных. В основной группе стул нормализовался в первые 2 дня у 50% детей, у остальных - на 3-4-е сутки. В контрольной группе диарея прекратилась через 9,8±3.2 суток.

Положительным моментом является тот факт, что в группе больных, находившихся на комплексной иммуно-антибиотикотерапии, не отмечено развития ранних рецидивов.

Таким образом, у 92,8% больных брюшным тифом эффект применения тамерита можно оценить как отличный. Применение нового лекарственного препарата, модулятора функции макрофагов, сокращает сроки пребывания в стационаре на 10-12 дней. Наряду с высокой клинической эффективностью препарата отмечена его хорошая переносимость. Вышеизложенное доказывает целесообразность применения Тамерита с целью иммунокоррекции в комплексном лечении брюшного тифа и как средства профилактики развития рецидивов болезни. (Абидов М.Т. Файзулаев А.С. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Москва, 2000 г.)

Многолетние исследования, проведенные нами по изучению влияния препарата (в эксперименте и в клинике) в развитии токсического синдрома введением разных микроорганизмов таких как стафилококк, стрептококк, сальмонелл, шигелл, холерного вибриона и др. а также их токсинов показал высокую эффективность в плане купирования токсического синдрома. (Абидов М.Т. Токсический синдром, патогенез и методы коррекции.Москва, 1994.).

Тамерит в лечении ВИЧ инфекции

ВИЧ-инфекция одна из наиболее тяжелых и распространенных инфекционных заболеваний вирусной природы и занимает одно из ведущих мест по тяжести течения, по летальности проявлений. В патогенезе ВИЧ-инфекции помимо патогенных свойств вируса и состояния иммунной защиты принимает участие множество кофакторов, определяющих развитие тех или иных звеньев патогенеза. Такими кофакторами являются сочетание вирусных гепатитов и ВИЧ-инфекции, туберкулеза и др. (Ладная Н.Н., Иванова М.А., 2010).

Поражение иммунной системы при ВИЧ-инфекции носит системный характер, проявляясь глубокой супрессией Т- и В-звеньев клеточного иммунитета. Нарушение иммунного статуса клинически проявляется (сопровождается) инфекционным, аллергическим, аутоиммунным и лимфопролиферативным синдромами и иммунологической недостаточностью. Все это определяет, в целом, клинику ВИЧ-инфекции. Известно, что клеточные взаимодействия при инфекционном процессе координируют макрофаги, регулирующие миграцию клеток в очаг воспаления. Дисбаланс в выработке цитокинов макрофагами приводит к генерализации инфекции, что является одной из ведущих причин летальности у больных с инфекционно-воспалительными заболеваниями. Синдром эндогенной интоксикации, развивающийся у этой категории больных усугубляет тяжесть течения и прогноз исхода заболевания (Нагоев Б.С., Абидов М.Т., Сабанчиева Ж.Х., 2010 г.).

Тамерит - модулятор функции макрофагов, в отличие от цитостатиков, которые вызывают стойкое подавление иммунной системы. Тамерит ингибирует только гиперактивированные макрофаги (обратимо), не оказывая влияния на резидентые клетки (Абидов М.Т., Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.М., 2000 г.).

ПРИМЕР 5.

С учетом этих свойств, препарата был применен в комплексном лечении больных ВИЧ-инфекцией. Препарат назначался двумя- тремя курсами в зависимости от стадии и тяжести заболевания: в стадии первичных проявлений, при присоединении вторичных заболеваний (инфекций) и повторно в стадии вторичных заболеваний (инфекций). Эффективность действия препарата оценивали по клинико-биохимическим и иммунологическим показателям, показателям про-антиоксидантной системы крови. Так, у больных ВИЧ-инфекцией, получавших помимо патогенетической, комплексной терапии Тамерит, длительность

интоксикации уменьшалась, в среднем на 7-9 дней раньше, чем в контрольной группе больных. В группе больных при ко-инфекции ВИЧ и вирусные гепатиты В, С и микст В+С желтушный период сократился на 5 дней, чем в группе больных с базис-терапией. Уровень билирубина при применении Тамерита нормализовался в среднем на 6 дней раньше, АЛТ и АСТ - на 4 дня быстрее, чем в контрольной группе.

Установлен существенный эффект от применения препарата у больных при ко-инфекции ВИЧ и вирусных гепатитов В, С, В+С. Среди обследованных 123 больных у 38 пациентов ВИЧ-инфекция протекала при ко-инфекции вирусных гепатитов В, С и В+С и туберкулез.

Самочувствие больных, объективные данные и клинико-лабораторные показатели улучшались быстрее при использовании Тамерита, чем при базисной терапии. У больных с ко-инфекций ВИЧ + вирусные гепатиты, быстрее сокращалась продолжительность интоксикации, желтушный период, снижались биохимические показатели (билирубин крови, АлАТ и АсАТ и др.). Аналогичная закономерность наблюдалась в сдвиге интралейкацитарных компонентов. В иммунном статусе под влиянием Тамерита отмечена активация Т-клеточного звена иммунной системы, увеличение соотношения CD4/CD8 и числа естественных киллеров CD 16.

По современным представлениям макрофаги являются важным звеном естественной резистентности и иммунорегуляции организма. Основной причиной, определяющей фундаментальную роль макрофагов в защитной системе организма, являются их ключевое положение в тканевом гомеостазе. В случае агрессии и репликации вируса иммунодефицита человека и вирусного гепатита В, С может возникнуть самая неблагоприятная ситуация, когда в организме могут присутствовать вирусы, токсины, гиперактивные макрофаги и провоспалительные цитокины. Важным моментом в такой ситуации является то, что независимо от этиологического фактора, патогенетические механизмы микст заболеваний приобретают общие черты

и, соответственно, защитная реакция организма, главную роль в котором играет макрофаг, также отвечает однотипно. В связи с этим, принцип ингибирования гиперактивированных макрофагов под влиянием Тамерита может являться рациональным подходом в лечении ВИЧ-инфекции (и не только) с сочетанными заболеваниями.

В работе обосновано применение в комплексной терапии ВИЧ-инфекции нового противовоспалительного, иммуномодулирующего и антиоксидантного препарата Тамерит. Применение препарата показало на достаточно высокую эффективность Тамерита в купировании интоксикационного синдрома и гнойно-воспалительных проявлений в более короткие сроки, чем при базис-терапии. Установлена хорошая переносимость терапии Тамеритом. Более того, Тамерит, эффективно снижая побочные эффекты других противовирусных препаратов, одновременно усиливал их терапевтический эффект. У более 80% больных ВИЧ-инфекцией после применения Тамерита отмечено более быстрое улучшение состояния больных и улучшения клинико-лабораторных показателей. Так, на фоне лечения Тамеритом происходила быстрее нормализация активности и содержание внутриклеточных компонентов микробицидной системы лейкоцитов (миелопероксидазы, щелочной и кислой фосфатаз, катионного белка, гликогена, липидов) и показателей про-антиоксидантных систем крови, чем у больных, получивших базис-терапию.

Необходимо отметить, что Тамерит, проявляя высокую терапевтическую активность при СПИДе, как и при ВИЧ, одновременно снижал побочные эффекты противовирусных препаратов. При неэффективности общепринятых лекарственных препаратов, особенно в сочетании ВИЧ + туберкулез, Тамерит проявлял выраженную терапевтическую активность через регуляцию функции макрофагов, снижая тем самым уровни провоспалительных цитокинов, соответственно и выраженность токсического синдрома.

Для обоснования собственной противоинфекционной активности Тамерита (Tameritum) были проведены следующие эксперименты:

ПРИМЕР 6.

Защитная эффективность Тамерита, на модели экспериментальной туляремии.

Для моделирования туляремии использовали вакцинный штамм 15 линии. Сухую туляремийную вакцину, содержащую лиофилизированную живую культуру вакцинного штамма 15 линии (с2-3 к527), разводили ампулированной дистиллированной водой, находящейся в комплекте с препаратом, с соблюдением правил асептики. Ампулу встряхивали в течение трех минут до образования гомогенной взвеси, которую равномерно распределяли по 0,2 мл на поверхности Ft-агара в чашках Петри. Чашки помещали в термостат при температуре 37°С и культивировали в течение трех суток. Выросшую культуру смывали с поверхности Ft-агара стерильным физиологическим раствором (pH=7,2-7,4). Полученную суспензию переносили в стерильную колбу и использовали для получения различных концентраций взвесей микроба и дальнейшего внутрибрюшинного заражения экспериментальных животных.

Исследования выполнены на белых неинбредных мышах, полученных из питомника. Всего было использовано 150 мышей массой 16-18 г. В исследования брали животных, в обязательном порядке выдержавших карантин в течение 1 недели. Условия содержания экспериментальных животных и рацион их питания были стандартными. Выживших животных выводили из эксперимента в соответствии с требованиями этических норм, путем усыпления этиловым эфиром.

Моделирование туляремийной инфекции осуществляли, используя вакцинный штамм 15 линии. Для определения инфекционной активности возбудителя в отношении белых беспородных мышей, производили смыв

выращенной на питательной среде культуры возбудителя путем добавления в каждую чашку по 5-10 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия (pH=7,2-7,4). Полученные смывы из каждой чашки переносили в стерильную бактериологическую пробирку и доводили плотность суспензии до 10 единиц по отраслевому стандарту мутности. Затем из нее готовили 6 последовательных десятикратных разведений на стерильном изотоническом растворе хлорида натрия (pH=7,2-7,4). После этого суспензию из каждого разведения в объеме 0,2 мл вводили однократно, внутрибрюшинно 10 животным. За животными устанавливали ежедневное наблюдение (в течение 21 суток) с регистрацией количества живых и павших мышей. Величину ЛД50 возбудителя туляремии рассчитывали по методу Кербера. В эксперименте использовали концентрацию (заражающую дозу) возбудителя в суспензии, соответствующую инфекционной активности 10 ЛД50. Для возбудителя туляремии она составила 105. Экспериментальных животных заражали суспензией возбудителя туляремии в дозе 105 однократно, вводя ее внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл. Перед заражением животных сутки не кормили. Наблюдение за зараженными животными осуществляли в течение 21 суток от момента заражения, ежедневно регистрируя число заболевших, павших и живых мышей. Симптомы инфекции: учащенное дыхание, взъерошивание шерсти, малоподвижность, кровянистые испражнения. Гибель животных наступала, как правило, через 4-5 суток после заражения. С целью контроля, специфичности инфекции туляремии из внутренних органов (лимфатические узлы, селезенка, брюшина, печень, кровь из сердца) павших экспериментальных животных делали мазки-отпечатки, которые фиксировали 96° спиртом или ацетоном в течение 20 мин и окрашивали диагностической туляремийной иммунной люминесцирующей сывороткой в соответствии с инструкцией по применению. Мазки просматривали под масляной иммерсией, используя люминесцентный микроскоп.

Эффективность Тамерита - оценивали по выживаемости животных в подопытных (получавших соответствующий препарат) и контрольных группах. Процент выживших животных определяли по таблицам Генеса В.С. (1967). Помимо этого, определяли защитную эффективность (%) оцениваемых средств ЭП и ЭЛ, представляющую собой разность между количеством выживших инфицированных животных в подопытной группе (%) и количеством выживших инфицированных животных (%) в контрольной группе, а также среднюю продолжительность жизни (СПЖ, суток) подопытных и контрольных животных. Последнюю вычисляли по формуле:

$$T = \frac{\sum(N \times S)}{N_1}, \quad (1)$$

где N - количество выживших животных, гол.;

S - срок наблюдения, суток.;

N1 - количество зараженных мышей в группе, гол.

Результаты проведенных исследований приведены в таблице 4.

Таблица 4. Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной туляремии

Вводимый препарат	Доза препарата на особь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, X;(X-tm÷X+t)
Тамерит	50,0	10	20	90±7*;(68÷99)
Тамерит	100,0	10	20	100±5*;(83÷100)
Тамерит	150,0	10	20	100±5*;(83÷100)
Тамерит	200,0	10	20	100±5*;(83÷100)
Тамерит	250,0	10	20	100±5*;(83÷100)
Контроль заражения	Не вводили	10	20	0±5;(0÷17)
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.				

Представленные в таблице данные, свидетельствуют, что Тамерит способствовал формированию состояния повышенной невосприимчивости к экспериментальной туляремийной инфекции у инфицированных одноименным возбудителем животных. Выживаемость составила 90-100% в условиях заражения возбудителем в дозе 10 ЛД50. Показатели выживаемости инфицированных мышей под влиянием Тамерита достоверно превышали контрольные значения (p<0,05).

ПРИМЕР 7.

Защитная эффективность Тамерита - на модели экспериментальной чумы.

Исследования выполнены на модели экспериментальной чумной инфекции, вызванной штаммом чумного микроба EV, на белых беспородных мышах-самцах массой 16-18 г. Животных заражали однократно суспензией возбудителя в дозе 109 КОЕ/особь, которую вводили внутрибрюшинно в объеме 0,2 мл. Наблюдение за зараженными животными осуществляли в течение 21 суток от момента заражения, ежедневно регистрируя число заболевших, павших и живых мышей. Результаты исследований представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной чумной инфекции

Вводимый препарат	Доза препарата на особь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, X;(X-tm÷X+t)
Тамерит	50,0	10	20	50±15;(27÷83)
Тамерит	100,0	10	20	70±15;(35÷93)
Тамерит	150,0	10	20	100±5*(83÷100)
Тамерит	200,0	10	20	100±5*(83÷100)
Тамерит	250,0	10	20	100±5*(83÷100)
Контроль заражения	Не вводили	10	10	0±10;(0÷31)
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при $p<0,05$.				

Как свидетельствуют представленные в таблице 5 данные, в отношении экспериментальной чумной инфекции Тамерит также оказался достаточно эффективен, однако только при применении в дозе равной или выше 150 мкг/особь. В этих условиях уровень защиты составил 100%, что достоверно ($p<0,05$) превышало контрольные значения.

В целом, анализируя защитную эффективность Тамерита на моделях опасных инфекционных заболеваний бактериальной природы следует отметить, что активность макрофагов, состояние иммунной системы, прежде всего системы фагоцитоза и неспецифической иммунологической резистентности, играет важную роль в плане защиты организма от этих инфекций, а его выраженный защитный эффект как раз и может быть обусловлен влиянием на эти системы.

ПРИМЕР 8.

Защитная эффективность Тамерита - в отношении опасных инфекционных заболеваний с преимущественным поражением центральной нервной системы.

Для моделирования опасных инфекционных заболеваний с преимущественным поражением центральной нервной системы использовали вирулентные штаммы возбудителей:

- вирус Венесуелъский энцефалит лошадей (ВЭЛ) - патогенный штамм Тринидад. Накопление вируссодержащего материала для последующего заражения лабораторных животных осуществляли с использованием 9-11 дневных развивающихся куриных эмбрионов - 30-50 шт. Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащей суспензии. По 0,2 мл каждого разведения вируссодержащей суспензии вносили в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов. Место инъекции вируссодержащей суспензии покрывали расплавленным парафином. Затем развивающиеся куриные эмбрионы помещают в термостат при температуре (37±0,5)°С на 18 ч, периодически оценивая их жизнеспособность. По истечении времени инкубации в термостате оценивали жизнеспособность развивающихся куриных эмбрионов и из «тушек» живых эмбрионов готовили 10% суспензию вируссодержащего материала с использованием физиологического раствора с добавлением антибиотиков (пенициллин из расчета 100 ЕД на 1 мл, стрептомицин - 200 ЕД на 1 мл). Полученную суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 1,5-2,0 тыс.об./мин и температуре плюс (3±0,5)°С. Надосадочную жидкость разливали во флаконы объемом 1,0 мл и использовали для дальнейшего заражения экспериментальных животных мышей. Исходный титр вируса 107-108 ЛД50/мл;

- вирус лихорадки долины Рифт (ЛДР) - вирулентный штамм 8-87. Накопление вируссодержащего материала для заражения лабораторных животных осуществляют с использование 3-5-дневных мышей-сосунков (п-10-15). Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащего материала. По 0,02 мл каждого разведения

вводили в мозг мышам-сосункам, за которыми устанавливали наблюдение в течение 24-48 ч, по окончании которого животных забивали эфиром, извлекали головной мозг и депонировали его по три образца в пенициллиновые флаконы, которые хранили в морозильной камере при температуре минус (20±0,5)°С. В дальнейшем, 10% суспензию головного мозга использовали в качестве вируссодержащего материала. Исходный титр вируса 105-106 ЛД50/мл;

- вирус лихорадки денге типа 1 (ЛД) - патогенный штамм Гавайский. Накопление вируссодержащего материала для заражения лабораторных животных проводили на мышах-сосунках. Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащего материала, которым служил центрифугат 10% суспензии мозга зараженных ранее мышей или регидратированный из лиофильного состояния вируссодержащий материал. По 0,02 мл каждого разведения вводили в мозг мышам-сосункам, за которыми устанавливали наблюдение в течение 24-72 ч, по окончании которого животных забивали под эфиром, извлекали головной мозг и депонировали его по три образца в пенициллиновые флаконы, которые хранили в морозильной камере при температуре -50±0,5°С. В дальнейшем, 10% суспензию головного мозга использовали в качестве вируссодержащего материала. Исходный титр вируса 102-103 ЛД50/мл;

- вирус лихорадки Западного Нила (ЛЗН) - патогенный штамм Нр-91. Накопление вируссодержащего материала для заражения лабораторных животных проводили на мышах-сосунках. Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащего материала, которым служил центрифугат 10% суспензии мозга зараженных ранее мышей или регидратированный из лиофильного состояния вируссодержащий материал. По 0,02 мл каждого разведения вводили в мозг мышам-сосункам, за которыми устанавливали наблюдение в течение 96-120 ч, по окончании которого животных забивали под эфиром, извлекали головной мозг и

депонировали его по три образца в пенициллиновые флаконы, которые хранили в морозильной камере при температуре -50±0,5°С. В дальнейшем, 10% суспензию головного мозга использовали в качестве вируссодержащего материала. Исходный титр вируса 103-104 ЛД50/мл.

Исследования выполнены на белых неинбредных мышах, полученных из питомника. Всего было использовано 240 мышей массой 16-18 г и 240 мышей массой 8-12 г. В исследования брали животных, в обязательном порядке выдержавших карантин в течение 1 недели. Условия содержания экспериментальных животных и рацион их питания были стандартными. Выживших животных выводили из эксперимента в соответствии с требованиями этических норм, путем усыпления этиловым эфиром.

Моделирование смертельной инфекции ВЭЛ проводили на белых беспородных мышах массой 18-20 г путем их подкожного заражения вируссодержащим материалом в объеме 0,3 мл. Использовали две заражающие дозы возбудителя, вызывающие в контроле гибель 57-100% инфицированных животных. После заражения за мышами устанавливали ежедневное наблюдение в течение 21 суток с регистрацией количества живых и павших особей. Инкубационный период моделируемой инфекции составлял в среднем 5 суток. Заболевания характеризовалось следующими признаками: мыши становились малоподвижными, отказывались от еды и питья, шерсть у них была взъерошена. В последующем развивались и нарастали явления энцефалита (нарушение координации, появление парезов и параличей) и наступала гибель инфицированных животных. Максимальная гибель мышей отмечалась, как правило, на 7-9 день после заражения.

Моделирование смертельной инфекции ЛДР проводили на белых беспородных мышах массой 18-20 г путем их подкожного заражения вируссодержащим материалом в объеме 0,5 мл. В эксперименте использовали две заражающие дозы вируса, которые различались на один порядок и в контрольных группах вызывали гибель 40-100% мышей (в

зависимости от использованной заражающей дозы вируса). После заражения за инфицированными животными устанавливали ежедневное наблюдение в течение 14 суток с регистрацией количества живых и павших особей. Инкубационный период моделируемой инфекции составил 3 суток. Заболевание характеризовалось следующими признаками: у мышей развивалась адинамия, они отказывались от еды и питья, шерсть у них была взъерошена. В последующем развивались параличи и наступала гибель животных. Максимальная гибель мышей отмечалась, как правило, на 5-7 суток после инфицирования.

Моделирование смертельной инфекции ЛД проводили на белых беспородных мышах массой 8-10 г путем их подкожного заражения вируссодержащим материалом в объеме 0,5 мл. В эксперименте использовали две заражающие дозы вируса, которые различались на один порядок и в контрольных группах вызывали гибель 40-100% мышей (в зависимости от использованной заражающей дозы вируса). После заражения за инфицированными животными устанавливали ежедневное наблюдение в течение 14 суток с регистрацией количества живых и павших особей. Инкубационный период при моделируемой инфекции составил 3-4 суток. Заболевание характеризовалось следующими признаками: у мышей развивалась адинамия, они отказывались от еды и питья, шерсть у них была взъерошена. В последующем развивались параличи и наступала гибель животных. Максимальная гибель инфицированных мышей отмечалась, как правило, на 6-9 суток после инфицирования.

Моделирование смертельной инфекции ЛЗН проводили на белых беспородных мышах массой 8-10 г. путем их подкожного заражения вируссодержащим материалом в объеме 0,5 мл. В эксперименте использовали две заражающие дозы вируса, которые различались на один порядок и вызывали гибель 50-100% мышей (в зависимости от использованной заражающей дозы вируса). После заражения за

инфицированными животными устанавливали ежедневное наблюдение в течение 14 суток с регистрацией количества живых и павших особей. Инкубационный период при экспериментальной инфекции ЛЗН у экспериментальных животных составлял 5-6 суток. Заболевание характеризовалось следующими признаками: у мышей развивалась адинамия, они отказывались от еды и питья, шерсть у них была взъерошена. В последующем развивались параличи и наступала гибель животных. Максимальная гибель мышей отмечалась, как правило, на 6-9 суток после инфицирования.

Эффективность препарата Тамерит оценивали по выживаемости животных в подопытных (получавших соответствующий препарат) и контрольных группах. Процент выживших животных определяли по таблицам Генеса В.С. (1967). Помимо этого, определяли защитную эффективность (%), представляющую собой разность между количеством выживших инфицированных животных в подопытной группе (%) и количеством выживших инфицированных животных (%) в контрольной группе, а также среднюю продолжительность жизни (СПЖ, суток) подопытных и контрольных животных. Последнюю вычисляли по формуле:

$$T = \frac{\sum(N \times S)}{N_1}, \qquad (2)$$

где N - количество выживших животных, гол.;

S - срок наблюдения, суток.;

N1 - количество зараженных мышей в группе, гол.

Статистический анализ результатов исследования произведен с помощью компьютерной программы статистической обработки данных Statistica 6.0 for Windows. Для оценки количественных показателей

определялись стандартные количественные характеристики: среднее значение показателя (M), среднеквадратичное отклонение, стандартная ошибка средней величины (m). Сравнение количественных данных проводили при помощи парного и непарного теста Стьюдента с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены как M±m. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

ПРИМЕР 8а. Венесуэльский энцефалит лошадей. Исследования выполнены на животных, инфицированных вирулентным штаммом вируса ВЭЛ «Тринидад» в дозах 32 и 3,2 ЛД50. Полученные результаты приведены в таблице 6 и свидетельствуют о том, что оцененный препарат обеспечивал защиту инфицированных животных на уровне 30-60%, и увеличение СПЖ инфицированных животных на 3-5 суток по сравнению с контрольными показателями. При этом, наиболее эффективным оказалось применение препарата в дозе 250 мкг/особь. В этом случае, независимо от заражающей дозы возбудителя уровень защиты инфицированных животных составил 60%, достоверно ($p<0,05$) превышая контрольные значения.

Полученные данные позволяют заключить, что в условиях возникновения данной инфекции Тамерит можно использовать до установления ее истинной причины, в дальнейшем подключая иные противовирусные препараты, в частности, индукторы эндогенного интерферона и др.

Таблица 6. Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментального венесуэльского энцефалита лошадей

Вводимый препарат	Доза препарата на особь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, X;(X-tm÷X+t)
Тамерит	50,0	32	10	30±15; (7÷65)
		3,2	10	50±16; (27÷83)*
Тамерит	150,0	32	10	40±11;(12÷74)
		3,2	10	60±16;(26÷83)*
Тамерит	250,0	32	10	60±16;(26÷83)*
		3,2	10	60±16;(26÷83)*
Контроль заражения	Не вводили	32	10	0±10;(0÷31)
		3,2	10	0±10;(0÷31)
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.				

Таблица 6а - Защитная эффективность комбинации тамерита и триазавирина и триазавирина в отношении экспериментального венесуэльского энцефаломиелита лошадей

Вводимый препарат	Доза препарата, мг/кг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, X;(X-tm÷X+t)
(тамерит + триазавирин)	300 мкг/мл + 62,1	32	10	30±15;(7÷65)
		3,2	10	70±15*;(35÷93)
Триазавирин	62,1	32	10	10±10;(0÷44)
		3,2	10	20±10(2÷56)
Контроль заражения	Не вводили	32	10	0±10(0÷31)
		3,2	10	0±10(0÷31)

Сказанное позволяет заключить, что в условиях возникновения данной инфекции комбинацию тамерита и триазавирина можно использовать до установления ее истинной причины в качестве средства общей экстренной профилактики, в дальнейшем подключая иные противовирусные препараты, в частности, индукторы эндогенного интерферона.

ПРИМЕР 8б. Лихорадка западного Нила. Схема исследования полностью соответствовала аналогичной, использованной на модели ВЭЛ. Результаты представлены в таблице.

Таблица 7. Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной лихорадки Западного Нила

Препарат	Доза препарата на мышь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе	Выживаемость, %, P±σp	Защита, %, P±σp	СГПЖ, суток,
Тамерит	50,0	80	10	0 (0÷31)	0 (0÷31)	8,9
		8,0	10	20 (2÷56)	0 (0÷31)	12,2
Тамерит	150,0	80	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)	19,2
		8,0	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	50,0
Тамерит	250,0	80	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	41,7
		8,0	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)*	76,9
Контроль заражения	Не вводили-	80	10	0 (0÷31)	-	8,7
		8,0	10	0 (0÷31)	-	11,5
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.						

Представленные в таблице 7 данные показывают, что Тамерит способствует повышению выживаемости инфицированных вирусом ЛЗН животных на 70-80% в зависимости от заражающей дозы возбудителя 8 или 80 ЛД50 по сравнению со 100% летальностью в контроле (p<0,05), а также позволяет существенно в 5-7 раз по сравнению с контролем увеличить СПЖ инфицированных мышей.

Таблица 7а - Защитная эффективность комбинации тамерита и триазавирина в отношении экспериментальной лихорадки Западного Нила

Препарат	Доза препарата	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе	Выживаемость, %, P±σp	Защита, %, P±σp	СГПЖ, сут,
Триазавирин	62,1 мг/кг	80	10	20 (2÷56)	20 (2÷56)	9,2
		8,0	10	40 (12÷74)	40 (12÷74)	11,6
(тамерит + триазавирин)	300 мкг/мл + 62,1 мг/кг	80	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	41,7
		8,0	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)*	76,9
Контроль заражения	Не вводили-	80	10	0 (0÷31)	-	8,7
		8,0	10	0 (0÷31)	-	11,5
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.						

Представленные в таблице 7а данные показывают, что комбинированное применение тамерита и триазавирина способствует повышению выживаемости инфицированных вирусом ЛЗН животных на 40-50% в зависимости от заражающей дозы возбудителя 8 или 80 ЛД50 по сравнению со эффектами только триазавирина, и на 70-80% по сравнению с контролем ($p<0,05$).

ПРИМЕР 8в. Лихорадка Денге. Схема исследования полностью соответствовала аналогичной, использованной на моделях ВЭЛ и ЛЗН. Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8. Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной лихорадки Денге.

Препарат	Доза препарата на мышь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе	Выживаемость, %, P±σp.	Защита, %, P±σp	СГПЖ, суток,
Тамерит	50,0	50	10	0 (0÷31)	0 (0÷31)	8,9
		5,0	10	0 (0÷31)	0 (0÷31)	12,2
Тамерит	150,0	50	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)	19,2
		5,0	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	50,0
Тамерит	250,0	50	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	41,7
		5,0	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)*	76,9
Контроль заражения	Не вводили	50	10	0 (0÷31)	-	8,7
		5,0	10	0 (0÷31)	-	11,5
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при $p<0,05$.						

Полученные результаты свидетельствуют, что Тамерит оказывает достаточно существенный протективный эффект в отношении экспериментальной ЛД. В этом случае удается достигнуть уровня выживаемости инфицированных животных 70-80% на фоне 100% летальности в контроле ($p<0,05$), а также существенно в 5-7 раз по сравнению с контролем увеличить величину СГПЖ инфицированных мышей. Схожий механизм защиты препарата и при других геморрагических лихорадках.

Таблица 8а - Защитная эффективность комбинации тамерита и триазавирина в отношении экспериментальной лихорадки денге

Препарат	Доза препарата	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе	Выживаемость, %, P±σp.	Защита, %, P±σp	СГПЖ, сут.
Триазавирин	62,1 мг/кг	50	10	30 (7÷65)	30 (7÷65)	12,2
		5,0	10	50 (19÷81)	50 (19÷81)	35,0
(тамерит + триазавирин)	300 мкг/мл + 62,1 мг/кг	50	10	70 (35÷93)*	70 (35÷93)*	41,7
		5,0	10	80 (44÷98)*	80 (44÷98)*	76,9
Контроль заражения	Не вводили-	50	10	0 (0÷31)	-	8,7
		5,0	10	0 (0÷31)	-	11,5
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.						

Полученные результаты свидетельствуют, что комбинированное применение тамерита и триазавирина оказывает достаточно существенный протективный эффект в отношении экспериментальной ЛД. В этом случае удается достигнуть уровня выживаемости инфицированных животных 70-80% на фоне 100% летальности в контроле (p<0,05), а также этот показатель на 30-40% выше, по сравнению с эффектом только триазавирина.

ПРИМЕР 8г. Лихорадка долины Рифт. Исследования выполнены в условиях заражения животных вирулентным штаммом 8-87 вируса ЛДР в дозе 25 и 250 ЛД50. Результаты представлены в таблице 9.

Таблица 9. Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной лихорадки долины Рифт.

Вводимый препарат	Доза препарата на особь, мкг	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, P±σp
Тамерит	250,0	250	10	30 (7÷65)
		25	10	70 (35÷93)*
Тамерит	150,0	250	10	20 (2÷56)
		25	10	60 (26÷83)
Тамерит	50,0	250	10	20 (2÷56)
		25	10	40 (12÷74)
Контроль заражения	Не вводили	250	10	0 (0÷31)
		25	10	0 (0÷31)
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения; * - различия с контролем достоверны при p<0,05.				

Как свидетельствуют представленные в таблице данные, использование Тамерита обеспечивало формирование защиты у 20% животных, инфицированных возбудителем в дозе 250 ЛД50 и у 70% животных, инфицированных возбудителем в дозе 25 ЛД50, что свидетельствует о перспективности использования препарата в качестве средства защиты при ЛДР.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют, что Тамерит оказывает защитное действие в отношении опасных инфекционных заболеваний, характеризующихся поражением центральной нервной системы. При этом, эффект Тамерита проявлялся в отношении всех флавивирусов, буньявирусов, альфавирусов и других особо опасных вирусов. Также были проведены исследования в отношении и других вирусов, где препарат Тамерит показал высокую эффективность. Учитывая установленную широту противовирусной активности препарата, можно предположить перспективность его применения в качестве универсального препарата выбора при всех вирусных инфекциях, а также вызванных вирусами, относящимися к иным таксономическим группам микроорганизмов, например, филовирусами или ортопоксвирусами, поражающее действие которых сопряжено с патологическими процессами в центральной нервной системе.

Таблица 9а – Защитная эффективность комбинации тамерита и триазавирина в отношении экспериментальной лихорадки долины Рифт

Вводимый препарат	Доза препарата	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, P±σp
(тамерит + Триазавирин)	300 мкг/мл + 62,1 мг/кг	25	10	70 (35÷93)*
Триазавирин	62,1 мг/кг	250	10	30 (7÷65)
		25	10	50 (19÷81)
Контроль заражения	Не вводили	250	10	0 (0÷31)
		25	10	0 (0÷31)
Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения;				

* - различия с контролем достоверны при p<0,05.

Как свидетельствуют представленные в таблице данные, использование комбинации тамерита и триазавирина обеспечивало формирование защиты у 70% животных, инфицированных возбудителем в дозе 25 ЛД50, что свидетельствует о перспективности использования препарата в качестве средства экстренной профилактики и раннего этиотропного лечения данной инфекции.

ПРИМЕР 9.

Защитная эффективность Тамерита в отношении ортопоксвирусных инфекций

Исследования выполнены на модели оспы коров. Тамерит применяли в дозах 50, 150 и 250 мкг/особь, вводили по единой схеме: начало введения через 4 ч и далее через 24 ч и 48 ч после заражения животных возбудителем в дозах 30 или 300 ЛД50. Полученные результаты представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Защитная эффективность Тамерита в отношении экспериментальной ортопоксвирусной инфекции у белых мышей

Препарат	Доза препарата на особь, мкг	Заражающая доза, ЛД $_{50}$	Выживаемость, %, X; (X-tm÷X+t)	Защита, %
Тамерит	50,0	300	0 (0÷31)	0
		30	20 (2÷56)	20
Тамерит	150,0	300	10 (0÷44)	10
		30	40(12÷74)	40
Тамерит	250,0	300	30 (7÷65)	30
		30	70 (35÷93)**	70
Контроль заражения		300	0 (0÷31)	0
		30	0 (0÷31)	0
** - различия с показателями в контроле достоверны при p≤0,05. Количество животных в каждой группе – 10 особей.				

Как свидетельствуют представленные в таблице данные, Тамерит проявлял определенный защитный эффект в отношении экспериментальной ортопоксвирусной инфекции. В наибольшей степени этот эффект

регистрировали при применении Тамерита в максимальной разовой дозе 250 мкг/особь. При этом, даже в условиях заражения возбудителем в дозе 300 ЛД50 препарат обеспечил защиту на уровне 30%, а при заражении возбудителем в дозе 30 ЛД50 - 70% (p≤0,05).

ПРИМЕР 10 Сибиреязвенная инфекция. Исследования выполнены на белых беспородных мышах-самцах массой 16-18 г по 20 голов к группе на модели сибиреязвенной инфекции с оценкой защитной эффективности комбинации тамерита и левофлоксацина и препарата сравнения - левофлоксацина. Заражающая доза Bacillusanthracis (штамм 71/12) составила 10 ЛД50. Оцениваемые препараты вводили животным внутримышечно (тамерит) и per os (левофлоксацин) в объеме 0,5 мл. Результаты исследований приведены в табл. 11.

Таблица 11 – Защитная эффективность комбинированного применения тамерита и левофлоксацина и левофлоксацина в отношении экспериментальной сибиреязвенной инфекции

Вводимый препарат	Доза препарата на особь	Заражающая доза возбудителя, $ЛД_{50}$	Количество животных в группе, гол.	Выживаемость, %, X;(X-tm÷X+t)
Тамерит + левофлоксацин	300 мкг/мл + 89,7 мг/кг	10	20	96±5;(75÷100)*
Левофлоксацин	89,7	10	20	75±10;(51÷91)*
Контроль заражения	Не вводили	10	20	5±5;(0÷24)

Схема введения препаратов: 0, +24, +48, +72, +96 ч после заражения;
* - различия с контролем достоверны при $p<0,05$.

Как следует из представленных данных, комбинированное применение тамерита и левофлоксацина обеспечивало защиту 96% инфицированных животных от заражения возбудителем сибиреязвенной инфекции в дозе 10 ЛД50. При этом противомикробная активность левофлоксацина не только не уступала аналогичной, определенной у левофлоксацина (75%), но даже на 20% ее превосходила, хотя различия были статистически недостоверными. В обоих случаях, величины уровня защиты достоверно превышали контрольные значения ($p<0,05$).

ПРИМЕР 11 Сравнительная оценка противовирусной активности противовирусных препаратов и их комбинаций с тамеритом в отношении экспериментальной инфекции, вызванных вирусом гриппа H5N1.

В работе использовали вирус гриппа, штамм А/курица/2/05 (H5N1), вирус выделен в октябре 2005 года из биопроб павших кур птицефабрики. Штамм охарактеризован с помощью биологических и молекулярно-биологических методов исследования, в том числе путем секвенирования специфических областей генома возбудителя. Для моделирования экспериментальной формы гриппа А использовали белых мышей массой 12-22 г, полученных из питомника. Животных инфицировали интраназально вирусом в дозе 10 ЛД50. В ходе оценки лечебной эффективности

иммуномодулирующего средства Тамерит®, проводилось его сравнение с препаратами контроля - Рибавирин®, Тамифлю®, (осельтамивир), Арбидолом®. Рибавирин® вводили животным перорально в дозах 500 и 250 мкг/мл; Тамифлю® - в дозе 25 мг/кг массы; Арбидол® - в дозах 60 и 135 мг/кг массы животных, а Тамерит® - в дозе 250 мкг/особь. Все препараты вводили через 24 ч после инфицирования животных и далее ежедневно, 1 раз в сутки, в течение 5 суток.

Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 14 суток. Титрование возбудителя гриппа А проводили на 9-суточных развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ). Оценка противовирусной активности используемых лекарственных препаратов проводилась согласно требованиям, изложенным в соответствующем руководстве (Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М. 2012). Статистическую обработку экспериментальных данных проводили по Стьюденту. Основными критериями оценки лечебной эффективности препаратов in vivo являлись:

- показатели защиты лабораторных животных от гибели;

- среднее время жизни животных в группе.

Полученные результаты приведены в таблице 1 и свидетельствуют о высокой лечебной эффективности всех оцененных препаратов.

Как свидетельствуют представленные в таблице 1 данные, защитная эффективность препарата Тамифлю® в суточной дозе 25 мг/кг (соответствует равноэффективной суточной дозе для человека 150 мг) защищал белых мышей от гибели, в среднем на 80%. Арбидол® обладает низкой защитной эффективностью в отношении экспериментальной инфекции, вызванной вирусом гриппа А (H5N1), выживаемость по сравнению с контролем увеличилась только на 15-17% в зависимости от использованной дозы препарата.

Таблица 12 – Результаты сравнительной оценки лечебной эффективности противовирусных препаратов и препарата тамерита в отношении экспериментальной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа штамм А/курица/2/05 (H5N1) при интраназальном заражении

Препарат	Число опытов	Доза препарата	Гибель животных, % (M±m)	Удлинение среднего времени жизни,суток (M±m)	Защита от гибели, % (M±m)
Тамифлю®	5	25 мг/кг	10,0±4,5	6,8±0,1	80,0±4,3
Арбидол®	5	60 мг/кг	84,2±2,0	1,9±0,2	17,0±2,0
	4	135 мг/кг	86,2±2,6	1,6±2,0	15,0±2,4
Тамерит®	4	250 мкг/особь	68,3±0,7	4,7±0,1	54,0±3,6
Контроль дозы		-	100,0±0,0	-	-
Контроль стада		-	0,0±0,0	-	-
Количество животных в каждой группе – по 10 особей.					

Особо следует остановиться на результатах защитной эффективности иммуномодулирующего средства Тамерит®, применение которого позволило защитить 54% инфицированных вирусом гриппа А (H5N1) животных и на 4,7 суток удлинить среднее время их жизни, что превосходит аналогичные эффекты Арбидола®. В этой связи Тамерит® следует рассматривать в качестве препарата выбора при гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа А (H5N1).

Была выполнена серия исследований по оценке защитной эффективности Рибавирина® и Арбидола® в отношении гриппозной инфекции H5N1 в условиях их совместного применения с Тамеритом®. Результаты проведенных исследований приведены в таблице 2.

Таблица 13 – Результаты сравнительной оценки лечебной эффективности комбинированного применения противовирусных препаратов с Тамеритом в отношении экспериментальной гриппозной инфекции, вызванной вирусом гриппа штамм А/курица/2/05 (H5N1) при интраназальном заражении беспородных белых мышей

Препарат	Число опытов	Доза препарата	Гибель животных, % (M±m)	Удлинение среднего времени жизни,суток (M±m)	Защита от гибели, % (M±m)
Рибавирин®	3	500мкг/мл	61,7±1,7	4,4±0,1	38,0±1,8
	6	250 мкг/мл	60,8±0,8	4,2±0,1	39,0±0,7
Арбидол®	5	60 мг/кг	84,2±2,0	1,9±0,2	17,0±2,0
	4	135 мг/кг	86,2±2,6	1,6±2,0	15,0±2,4
Тамерит®	4	250 мкг/особь	68,3±0,7	4,7±0,1	54,0±3,6
Рибавирин® + Тамерит®	3	500 мкг/мл + 250 мкг/особь	21,7±1,7	7,4±0,1	79,6±1,8
Рибавирин® + Тамерит®	6	250 мкг/мл + 250 мкг/особь	20,7±1,7	7,4±0,1	79,3±1,8
Арбидол® + Тамерит®	5	60 мг/кг + 250 мкг/особь	31,7±1,8	6,9±0,1	69,3±1,8
Арбидол® + Тамерит®	4	135 мг/кг + 250 мкг/особь	19,7±1,7	7,6±0,1	81,3±1,8
Контроль дозы		-	100,0±0,0	-	-
Контроль стада		-	0,0±0,0	-	-
Количество животных в каждой группе – по 10 особей.					

Как следует из представленных данных под влиянием иммуномодулирующего средства Тамерит® выживаемость инфицированных вирусом гриппа (H5N1) по сравнению с аналогичным показателем среди животных, которым вводили только противовирусные средства возросла в

группах с Рибавирином в зависимости от дозы последнего на 40%, а в группах с Арбидолом® - на 50-60%, что свидетельствует о перспективности применения подобных комбинаций препаратов при данной инфекции.

ПРИМЕР 12 Противовирусная активность препаратов с различным механизмом действия при экспериментальном клещевом энцефалите.

Вирус. В работе использован вирус клещевого энцефалита, штамм «Абсетаров». В исследовании была использована 10% суспензия мозга инфицированных мышей-сосунков (9-й пассаж), титр которой на культуре клеток почки эмбриона свиньи (СПЭВ) составлял 105 ТЦИД50/мл. (Тканеспецифическое, цитопатическое действие).

Животные. Изучение противовирусной активности препаратов in vivo проводили на белых беспородных мышах-самцах массой 12-14 г. (600 голов), полученных из питомника.

Препараты. В работе использованы иммуномодулирующий препарат Тамерит, а для сравнения были использованы официнальные препараты, применяемые для профилактики и лечения КЭ: рибавирин, реаферон-ЕС, циклоферон.

Определение противовирусной активности препаратов in vivo. Для моделирования экспериментального КЭ мышам подкожно вводили суспензию вируса КЭ в дозе 100 ЛД50/0,2 мл. Животные получали исследуемые препараты через 1 ч после заражения. Препараты вводили в дозах, рекомендуемых для применения в клинике и пересчетных на массу тела животных. Контролем служили мыши, инфицированные вирусом КЭ и не получавшие препараты. За животными наблюдали в течение 21 суток. В каждой группе было по 10 животных, опыты повторяли трехкратно. Основными критериями оценки эффективности препаратов являлись показатели летальности (отношение павших животных к общему количеству

животных в группе, %) и средней продолжительности жизни (СПЖ) в группе (в суток). Результаты проведенных исследований приведены в таблице 1.

Таблица 14 – Влияние препаратов на выживаемость животных, инфицированных вирусом КЭ

Препарат	Способ и кратность применения	Доза препарата	% выживших животных	СПЖ, суток
Контроль (без препаратов)			0	9,6±1,4
Рибавирин	Перорально 10 суток	50 мг/кг 100 мг/кг 200 мг /кг	5,0±1,0 13,0±3,2 0	10,6±1,8 11,6±2,2 9,0±1,6
Циклоферон	Внутримышечно 5 сут	0,6 мг/кг 6 мг/кг 60 мг/кг	0 21,4±4,0 35,0±5,0	10,0±1,8 12,4±2,4 14,8±2,6
Реаферон-ЕС	Внутримышечно 5 сут	10^3МЕ/кг 10^4МЕ/кг	0 5,0±1,0	10,2±2,0 10,8±2,1
Тамерит	Перорально 5 сут	100 мкг/особь 200 мкг/особь	25,6±5,2 36,5±4,8	12,5±2,2 14,0±3,4
Тамерит + Рибамидил	Перорально 5 сут Перорально 10 сут	100 мкг/особь 100 мг/кг	33,8±5,7	13,9±2,1
Тамерит + Циклоферон	Перорально 5 сут Внутримышечно 5 сут	100 мкг/особь 60 мг/кг	60,0±4,7	16,0±2,5

Представленные данные свидетельствуют о том, что применение на данной модели рибавирина в зависимости от использованной дозы обеспечивало защиту 5-13% на фоне 100% летальности в контроле. Циклоферон в этом отношении оказался более эффективным и обеспечивал защиту 21-35% инфицированных животных. Наименее эффективным из официнальных противовирусных средств оказался реаферон-ЕС, защита от применения которого не превышала 5%. Тамерит оказался более эффективным и в зависимости от использованной дозы обеспечивал защиту 26-37% инфицированных особей, что, можно сказать, находилось на уровне индуктора эндогенного интерферона - препарата циклоферон. Более эффективным оказалось комбинированное применение рибавирина и циклоферона с тамеритом. Последний заметно увеличивал противовирусное действие рибавирина (примерно на 20%) и циклоферона (примерно на 25%). Возможно, это связано с иммуномодулирующими эффектами тамерита, а именно усиления цитотоксической активности NK-клеток, стимуляции фагоцитарной активности нейтрофилов и макрофагов.

Полученные данные подтверждают противовирусное действие тамерита и его способность усиливать противовирусную активность истинных противовирусных препаратов рибавирина и циклоферона.

ПРИМЕР 13 Адъювантные свойства адьюванта Абидова в отношении ИЛП против герпетической инфекии.

Для моделирования герпетической инфекции использовали вирус герпеса простого (ВГП) 1 типа, штамм УС, исходный титр вируса 102-103 ЛД50/мл или ВГП 2 типа, штамм ВН, исходный титр вируса 102-103 ЛД50/мл. Исследования выполнены на белых беспородных мышах, полученных из питомника «Рапполово» РАН. Всего в исследованиях было использовано 300 белых беспородных мышей-самцов массой 16-18 г. Опыты проводили на животных, в обязательном порядке выдержавших карантин в течение 1 недели. Для внутримозгового накопления модельного вируса, а также определения инфекционной активности вируссодержащего материала использовали мышей-сосунков. Накопление ВГП проводили посредством внутримозгового церебрального заражения мышей-сосунков. Инфекционную активность вируссодержащих материалов определяли по методу Рида-Менча. Величину ЛД50 применительно к каждому возбудителю определяли на белых беспородных мышах по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева (1962). Заражение осуществляли путем подкожного заражения животных суспензией вируса простого герпеса 1 типа в объеме 0,5 мл/особь в дозе 2,5 ЛД50. Для повышения восприимчивости животных к инфекции их подвергали однократному облучению за 4 суток до заражения на установке ИГУР-1 при мощности дозы 1,5 Гр/мин. Совокупная доза облучения составила 5,5 Гр. Численность животных в опытных и контрольных группах составляла по 10 особей в каждой. Заражение осуществляли спустя 28 суток после иммунизации животных. Для иммунизации использовали вакцину герпетическую культуральную инактивированную сухую (ГВ) (сер. 126, контр. №718). Иммунизирующая

доза ИЛП составляла 0,1 человеческой дозы. Вакцину вводили однократно подкожно в объеме 0,5 мл в холку животным. Адьювант Абидова вводили животным внутримышечно в правое бедро задней лапы в дозе 150 мкг/особь. Было апробировано две схемы иммунизации:

- адъювант Абидова вводили одновременно раздельно с ИЛП;

- адъювант Абидова вводили на фоне текущего иммунизационного процесса - за 3, 2, 1 суток до заражения.

Животным контрольных групп вводили: только ИЛП, только адьювант Абидова, только физиологический раствор хлорида натрия. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Оценка адъювантной активности адьюванта Абидова в отношении ИЛП против герпетической инфекции.

Препарат	Заражающая доза возбудителя (кол-во $ЛД_{50}$)	Количество животных в группе, гол.	Количество павших животных, %	Количество выживших животных, %
Адьювант Абидова +вакцина одновременно в разные места	2,5	10	20 (2-56)	80 (44-98)*
Вакцина + Адьювант за 3,2,1 сут до иммунизации	2,5	10	20 (2-56)	80 (44-98)*
Адьювант однократно	2,5	10	80 (44-98)	20(2-56)
Адьювант за 3, 2, 1 сут	2,5	10	70 (19-81)	30 (7-65)
Вакцина	2,5	10	50 (19-81)	50 (19-81)
Контроль заражения	2	10	100 (69-100)	0 (0-31)

Полученные результаты свидетельствуют о том, что адьювант Абидова обладает адъювантным действием в отношении герпесвирусной вакцины при применении по всем изученным схемам. Выживаемость в этих группах составила 80% и достоверно превышала аналогичный показатель в контроле заражения ($p \leq 0,05$). По сравнению с иммунизацией только ИЛП или применением только адъюванта, показатель выживаемости в группах животных, которым вводили и ИЛП, и адъювант Абидова оказался выше на 30-60%. В случае применения адъюванта в схемах иммунизации эффективность ИЛП повышалась на 30%, что свидетельствует о наличии у адьюванта Абидова адъювантной активности в отношении вакцины

герпетической культуральной инактивированной сухой. В доступных источниках информационных материалах подобные сведения отсутствуют. Новая функция адъюванта Абидова не вытекает с очевидностью из его известных свойств и состава. Активность препарата в опытах in vivo против возбудителей, вызывающих фурункулез, острые и хронические инфекции ЖКТ, генерализованную герпетическую инфекцию без использования ИЛП, не означает, что препарат непременно будет обладать адъювантными свойствами в отношении герпетической вакцины, равно как и в отношении других ИЛП.

Для доказательства соответствия заявляемого способа критерию изобретения «промышленная применимость» приводим следующие примеры. Для моделирования инфекций использовали вирулентные штаммы возбудителей: венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВЭЛ), оспы коров (ОК), ботулизма, столбняка, брюшного тифа (БТ), дизентерии. Исследования выполнены на белых беспородных мышах-самцах массой 16-18 г. В исследование брали животных, в обязательном порядке выдержавших карантин течение 1 недели в условиях вивария. Величину инфекционной активности возбудителей (ЛД50) возбудителей оценивали по методу Кербера в модификации И.П. Ашмарина и А.А. Воробьева [51].

Эффективность соответствующих ИЛП при применении одновременно с адъювантом Абидова и без него определяли по сопоставлению величин показателей выживаемости животных в подопытных (иммунизированные животные ИЛП с адъювантом Абидова) и контрольных группах. Процент выживших животных в подопытных и контрольных группах определяли по таблицам Генеса В.С. [52]. Наблюдение за инфицированными животными проводили в течение 21 суток, ежедневно регистрируя число живых и павших в подопытных и контрольных группах. Помимо этого, определяли защитную эффективность (%) адъюванта Абидова, представляющую собой разность между количеством выживших инфицированных животных в

подопытной группе (вводили адъювант Абидова, %) и количеством выживших инфицированных животных в контрольной группе (без адъюванта Абидова, %), а также среднюю продолжительность жизни Т, (СПЖ, суток) подопытных и контрольных животных. Последнюю вычисляли по формуле:

$$T = \frac{\sum(NxS)}{N1} \quad (1)$$

где N - количество выживших животных, гол.;

S - срок наблюдения, сутки.;

N1 - количество зараженных мышей в группе, гол.

Статистический анализ результатов исследования проведен с помощью компьютерной программы статистической обработки данных Statistica 6.0 for Windows. Для оценки количественных показателей определялись стандартные количественные характеристики: среднее значение показателя (M), среднеквадратичное отклонение, стандартная ошибка средней величины (m). Сравнение количественных данных проводили при помощи парного и непарного теста Стьюдента с использованием t-критерия Стьюдента. Результаты представлены как M±m. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

ПРИМЕР 14 Адъювантный эффект адьюванта Абидова в отношении ИЛП против венесуэльского энцефаломиелита лошадей

Оценку адъювантных свойств адьюванта Абидова в отношении вакцины венесуэльского энцефаломиелита лошадей (ВВЭЛ) проводили в «точечных» экспериментах, в каждой точке использовали по 10 мышей массой от 16 до 18 г. Вируссодержащий материал вводили животным подкожно в объеме 0,3 мл/мышь. Заражающие дозы вируса составляли 2 и 10 ЛД50. Для заражения использовали вирус венесуэльского энцефаломиелита

лошадей (ВЭЛ), штамм Тринидад. Исходный титр вируса составил 107-108 ЛД50/мл. Для иммунизации использовали ВВЭЛ культуральную инактивированную жидкую (ВВЭЛ) (сер. 145; контр. N 1244). Адьювант применяли в дозе 150 мкг/особь, вводили внутримышечно по различным схемам. ИЛП применяли однократно, вводили внутримышечно в объеме 0,5 мл, иммунизирующая доза ИЛП составляла 0,1 человеческой дозы.

Как следует из представленных данных, ВВЭЛ, введенная однократно в дозе равной 0,1 человеческой дозы за 21 сутки до заражения в зависимости от заражающей дозы вируса обеспечивала выживаемость 15% (10 ЛД50) и 70% (2 ЛД50) инфицированных животных.

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Оценка адъювантной активности адъюванта Абидова в отношении ИЛП против венесуэльского энцефаломиелита лошадей

Схема применения адъюванта Абидова относительно ВВЭЛ и заражения	Способ введения адъюванта	аражающая доза возбудителя (количество $ЛД_{50}$)	ыживаемость, M (M-tm-M+tm), %
Одновременно с ВВЭЛ в одном шприце за 21 сут до заражения	Внутримышечно	0,0	5 (2-45)
		,0	0 (12-74)
Одновременно с ВВЭЛ в разных шприцах за 21 сут до заражения	Внутримышечно	0,0	0 (12-74)
		,0	00 (69-100)*
Раздельно с ВВЭЛ за 3, 2, 1 сут до заражения	Внутримышечно	0,0	0 (12-74)
		,0	00 (69-100)*
Без ВВЭЛ за 21 сут до заражения	Внутримышечно	0,0	0 (12-74)
		,0	0 (35-93)*
Без ВВЭЛ за 3, 2, 1 сут до заражения	Внутримышечно	0,0	0 (26-83)
		,0	00 (69-100)*
Не вводили (контроль 1)	-	0,0	5 (2-45)
		,0	0 (35-93)*
Не вводили (контроль 2)	-	0,0	(0-31)
		,0	5 (2-45)

Контроль 1 – животных иммунизировали только ВВЭЛ; Контроль 2 – ВВЭЛ и адъювант Абидова не вводили; * - различия с показателями в контрольных группах достоверны при P<0,05

Введение в эти же сроки только адъюванта Абидова обеспечивало выживаемость 40% (10 ЛД50) и 70% (2 ЛД50) инфицированных вирусом ВЭЛ мышей. Более эффективным оказалось использование адъюванта

Абидова по многократной схеме. При этом в зависимости от заражающей дозы вируса выживаемость инфицированных мышей составила 60-100%.

При одновременном введении ВВЭЛ и адъюванта Абидова в одном шприце показатели выживаемости инфицированных животных колебались в диапазонео от 15 до 40% и были либо на уровне, либо несколько меньшими, чем в группах животных, которым вводили только ВВЭЛ или только адъювант. Более эффективным оказалось одновременное применение ВВЭЛ и адъюванта, но в разных шприцах. В этом случаев в зависимости от величины заражающей дозы вируса ВЭЛ показатель выживаемости инфицированных животных составил 40% и 100%, соответственно при заражении вирусом в дозе 10 ЛД50 и 2 ЛД50, что оказалось на 25-30% выше аналогичного показателя, зарегистрированного в группах животных, иммунизированных только ВВЭЛ.

ПРИМЕР 15 Адъювантный эффект адьюванта Абидова в отношении ИЛП против ортопоксвирусной инфекции

Исследования выполнены на белых беспородных мышах-самцах массой от 10 до 12 г. Численность групп - по 20 животных в каждой. Для иммунизации использовали вакцину оспенную живую сухую (ВОЖС) (сер. 80, контр. N 1841). ИЛП вводили животным в дозе 0,2 человеческой дозы, иммунизацию осуществляли однократно подкожно, объем вводимой вакцины составил 0,5 мл. Адьювант Абидова применяли в дозе 150 мкг/особь, вводили подкожно по различным схемам. Заражение мышей проводили интраназально через 14 суток после иммунизации. Для этого использовали вирус оспы коров (ВОК), штамм Пуменок. Исходный титр вируса составлял 103-104 ЛД50/мл. Вируссодержащую суспензии вводили в объеме 0,1 мл. Заражающие дозы вируса составляли 1 и 10 ЛД50. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Установлено, что независимо от схемы сочетанного применения, не удалось выявить выраженного адъювантного действия адъюванта Абидова в отношении ВОЖС. Величины показателей выживаемости инфицированных животных, которым вводили адъювант Абидова и ВОЖС, практически не отличались от таковых, зарегистрированных в группах мышей, иммунизированных только ВОЖС. Возможно это обусловлено тем, что адъювантный эффект в отношении такого сильного антигена, каким является ВОЖС, получить достаточно сложно. В то же время, какого-либо отрицательного воздействия адъюванта на формирование специфического ортопоксвирусного иммунитета при совместном применении с вакциной не установлено. Поэтому такой вариант при проведении специфической иммунопрофилактики упомянутого заболевания с использованием ВОЖС исключить нельзя..

Таблица 3 - Оценка адъювантной активности адъюванта Абидова в отношении ИЛП против ортопоксвирусных инфекций

Схема применения адъюванта Абидова относительно ВОЖС и заражения	Заражающая доза возбудителя (количество $ЛД_{50}$)	Выживаемость, M (M-tm-M+tm), %
Одновременно с ВОЖС в одном шприце за 14 сут до заражения	10,0	40 (19-64)*
	1,0	60 (36-81)*
Одновременно с ВОЖС в разных шприцах за 14 сут до заражения	10,0	60 (36-81)*
	1,0	70 (46-88)*
Раздельно с ВОЖС за 3, 2, 1 сут до	10,0	70 (46-88)*

заражения	1,0	70 (46-88)*
Без ВОЖС за 14 сут до заражения	10,0	30 (12-54)
	1,0	90 (68-99)
Без ВОЖС за 3, 2, 1 сут до заражения	10,0	10 (1-32)
	1,0	90 (68-99)
Не вводили (контроль 1)	10,0	60 (36-81)
	1,0	70 (46-88)
Не вводили (контроль 2)	10,0	0 (0-17)
	1,0	50 (27-73)
Контроль 1 – животных иммунизировали только ВОЖС; контроль 2 – животным не вводили ВОЖС и адъювант Абидова; * - различия достоверны по сравнению с контролем 2 при P<0,05		

ПРИМЕР 16 Адъювантный эффект адъюванта Абидова в отношении ИЛП против ботулизма и столбняка.

Как известно, тетраанатоксин (ТА) включает в себя анатоксины против ботулизма типов А, В, Е и столбняка. В данном препарате упомянутые анатоксины сорбированы на гидрате окиси алюминия. Для формирования специфической защиты ТА применяется трехкратно, при этом между первой и второй инъекциями интервал составляет 28-30 суток, а между второй и третьей - 4-6 мес.Исследования по оценке адъювантных свойств адъюванта Абидова в отношении ТА проводили на белых мышах и морских свинках. Доза адъюванта составляла 150 мкг/особь.

Иммунизацию осуществляли двукратно с интервалом 30 суток. Адъювант Абидова и ТА вводили в одном шприце подкожно. Объем вводимой смеси препаратов составлял 0,5 мл. В качестве инфекционной модели использовали отравление животных ботулиническим токсином типа А в дозе 100 ЛД50. Моделирование интоксикации осуществляли спустя 14 суток после второй иммунизации путем внутрибрюшинного введения токсина в объеме 0,5 мл. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Оценка адъювантной активности адъюванта Абидова в отношении ИЛП против ботулизма и столбняка

Препарат для иммунизации	Кратность иммунизации	Количество животных в группе, гол.	Срок отравления после иммунизации, сут	Заражающая доза токсина, $ЛД_{50}$	Выживаемость, М (M-tm-M+tm), %
Белые мыши					
ТА+ адъювант Абидова	2	20	14	16	100 (83-100)**
ТА	2	20	14	16	70 (46-88)*
Адъювант Абидова	2	20	14	16	0 (0-17)
Контроль заражения	-	20	14	16	0 (0-17)
Морские свинки					
ТА+ адъювант Абидова	2	20	14	16	100 (83-100)*
ТА	2	20	14	16	60 (35-93)*
Адъювант Абидова	2	20	14	16	0 (0-17)
Контроль заражения	-	20	14	16	0 (0-17)
* - различия с показателями в группе «контроль заражения» достоверны при $p<0,05$.					

Применение одного адъюванта Абидова не оказывало существенного влияния на устойчивость животных к отравлению ботулотоксином типа А. Выживаемость мышей в данной группе составила 0%. Иммунизация одним ТА обеспечивала защиту 60-70% отравленных животных в зависимости от их вида (белые мыши или морские свинки) на фоне 100% летальности в контроле ($p<0,05$). Наиболее эффективным оказалось сочетанное применение ТА и адъюванта Абидова. В этом случае удалось достигнуть 100% выживаемости животных на фоне полной летальности в контроле ($p<0,05$). Более того, этот показатель был достоверно выше, чем в группе животных, привитых только ТА ($p<0,05$). Практически полностью идентичные результаты были получены на модели интоксикации столбнячным токсином.

ПРИМЕР 17 Адъювантный эффект адьюванта Абидова в отношении ИЛП против острых кишечных инфекций

Для иммунопрофилактики брюшнотифозной инфекции использовали вакцину брюшнотифозную Ви-полисахаридную жидкую («ВИАНВАК»). Препарат вводили однократно подкожно в объеме 0,5 мл, в дозе, эквивалентной 0,02 и 0,2 человеко-дозы. Для иммунопрофилактики дизентерии использовали вакцину дизентерийную «Шигеллвак» липополисахаридную из штамма Зонне. Препарат вводили однократно подкожно в объеме 0,5 мл в дозе, эквивалентной 0,2 человеко-дозы.

Характеристика модельных биопатогенов.

Возбудитель брюшного тифа - штамм Breslau. Суспензию возбудителя готовили следующим образом: на агаре Мюллер-Хинтона при температуре 37°С в течение 24 ч выращивали микробную культуру. По окончании культивирования готовили серийные разведения выращенной микробной суспензии по стандарту мутности с шагом 10 (начиная с разведения 109 до 102 КОЕ/мл). Полученную суспензию использовали для дальнейшего подкожного заражения экспериментальных животных.

Возбудитель дизентерии - штамм Sh. Sonnei II. Суспензию возбудителя готовили следующим образом: на агаре Мюллер-Хинтона при температуре 37°С в течение 24 ч выращивали микробную культуру. Для подтверждения чистоты высев осуществляли и на среду Эндо. По окончании культивирования готовили серийные разведения выращенной микробной суспензии по стандарту мутности с шагом 10 (начиная с разведения 109 до 102 КОЕ/мл). Полученную суспензию использовали для дальнейшего подкожного заражения экспериментальных животных. Исследования по оценке иммунотропных эффектов адьюванта Абидова при его совместном применении с ИЛП выполнены на белых не инбредных мышах-самцах

массой 16-18 г (600 голов). В исследования брали животных, в обязательном порядке выдержавших карантин в течение 1 недель.

Моделирование брюшнотифозной инфекции in vivo осуществляли на белых беспородных мышах массой 16,0-18,0 г путем внутрибрюшинного заражения взвесью спор штамма Breslau в объеме 0,5 мл. Наблюдение за инфицированными животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя число живых и павших в опытных и контрольных группах. Специфичность гибели животных подтверждали бактериологически - посевом селезенки павших животных на специальную питательную среду. Моделирование дизентерийной инфекции in vivo осуществляли на белых беспородных мышах массой 16,0-18,0 г путем внутрибрюшинного заражения взвесью спор штамма Sh. Sonnei II в объеме 0,5 мл. Наблюдение за инфицированными животными осуществляли в течение 14 суток, ежедневно регистрируя число живых и павших в опытных и контрольных группах. Специфичность гибели животных подтверждали бактериологически - посевом селезенки павших животных на специальную питательную среду.

Антитела к брюшнотифозным антигенам у животных, иммунизированных вакциной брюшнотифозной Ви-полисахаридной жидкой «ВИАНВАК», определяли в сыворотке крови на 21 сутки после иммунизации с помощью набора реагентов для определения антител к антигенам бактерий тифо-паратифозной группы, бруцеллам и протею в реакции агглютинации («Анти-Бактантиген-Тест») (сер. 04/15.). Постановку реакции осуществляли в соответствии с «Инструкцией …» по применению набора. Антитела к шигеллезным антигенам Зонне определяли в сыворотке крови иммунизированных соответствующим ИЛП животных на 21 суток после иммунизации с помощью препарата «Реплан» - диагностикум эритроцитарный шигеллезный Зонне антигенный (лиофилизат для диагностических целей) (серия 950914). Диагностический препарат

применяли согласно «Инструкции …» по применению. Определение титра противошигеллезных антител осуществляли в РПГА.

В ходе проведенных исследований иммунизацию животных осуществляли по схеме: первоначально животных иммунизировали соответствующим ИЛП, затем одновременно с ИЛП и далее через 3 суток и 6 суток после иммунизации ИЛП животным вводили адъювант Абидова внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл в разовой дозе 150 мкг/особь.

До иммунизации и спустя 21 сутки после окончания последнего введения адъюванта у животных методом декапитации отбирали кровь, в сыворотке крови производили определение титров соответствующих специфических антител.

Результаты проведенных исследований сведены в таблицу 5.

Таблица 5 - Оценка адъювантной активности адъюванта Абидова в отношении ИЛП против брюшного тифа и дизентерии

ИЛП для иммунизации	Количество иммунизированных животных, гол.	Величины показателей иммунологической эффективности ИЛП при ее определении серологическими методами	
		Сероконверсии, % (к О-антигену)	Обратная величина титра антител, Me (к О-антигену)
Брюшной тиф (вакцина ВИАНВАК)			
ВИАНВАК+ адъювант Абидова	20	100 (83-100)*	256 (128-512*)**
ВИАНВАК	20	80 (56-94)*	64 (16-64)*
Не вводили (контроль)	20	10 (1-32)	8 (4-16)
Дизентерия (вакцина ШИГЕЛЛВАК)			
ШИГЕЛЛВАК+ адъювант Абидова	20	100 (83-100)*)**	256 (128-512)*)**
ШИГЕЛЛВАК	20	60 (36-81)*	64 (8-64)*
Не вводили (контроль)	20	0 (0-17)	0 (0-0)
* - различия с контролем достоверны при $p<0,05$; ** - различия с привитыми ШИГЕЛЛВАК достоверны при $p<0,05$.			

Иммунизация брюшнотифозной вакциной. Результаты, приведенные в таблице 5, показали, что иммунизация брюшнотифозной вакциной

«ВИАНВАК» обеспечивала формирование устойчивого антителогенеза к сальмонеллезным антигенам (в частности О-антигену S.Typhi) у 80% иммунизированных животных. При этом титр специфических антител в сыворотке крови (Me) составил 1:64. В обоих случаях различия с контролем были статистически достоверными ($p<0,05$). При комбинированном применении брюшнотифозной вакцины «ВИАНВАК» с адъювантом Абидова процент положительных сероконверсий достигал 100%, что на 20% выше, чем среди привитых только ИЛП, а уровень специфических сывороточных антител (Me) достигал 1:256, что достоверно превышало как контрольные значения, так и аналогичный показатель у привитых только ИЛП ($p<0,05$).

Иммунизация шигеллезной вакциной. Результаты, приведенные в таблице 5, показали, что иммунизация вакциной «Шигеллвак» обеспечивала формирование иммунного ответа в отношении шигелл Зонне у 60% иммунизированных животных, то есть уровень положительных сероконверсий составил 60%, что достоверно превышало контрольные значения ($p<0,05$). При этом средняя величина титра специфических антител в сыворотке крови привитых мышей (Me) составила 1:64, что также достоверно превышало контрольные значения ($p<0,05$). В случае комбинированной иммунизации препаратом «Шигеллвак» и адъювантом Абидова показатель положительных сероконверсий достигал 100%, что достоверно превышало как контрольные значения, так и аналогичный показатель у привитых только Шигеллвак. В этих условиях происходило и более интенсивное образование специфических сывороточных антител, о чем свидетельствовала величина среднего титра (Me), составившая 1:256, что было достоверно выше в 4 раза, чем в контроле и у привитых только Шигеллвак ($p<0,05$).

ПРИМЕР 18 Адъювантная активность адъюванта Абидова в отношении ИЛП против венесуэльского энцефаломиелита лошадей и ортопоксвирусной инфекции, примененных в составе ассоциации (ВЭЛ+ВОЖС).

Опасные инфекционные заболевания (ОИЗ) представляют достаточно серьезную в эпидемиологическом отношении группу инфекций, возбудители которых характеризуются выраженной патогенностью, вирулентностью и контагиозностью применительно к человеческой популяции, что способствует их достаточно быстрому распространению, охвату больших контингентов и нанесению серьезного урона здравоохранению и национальной безопасности государств, на территории которых они регистрируются. В качестве примера можно привести периодически возникающие эпидемии лихорадок Эбола, Зика, денге, Западного Нила, коронавирусных инфекций и др. Поэтому вопросам профилактики и лечения ОИЗ уделялось и продолжает уделяться пристальное внимание эпидемиологов и инфекционистов, причем приоритет отдается иммунопрофилактике как наиболее действенному мероприятию в отношении данной группы инфекций. Причем первостепенное значение имеет комплексность в применении ИЛП, поскольку в результате резкого ухудшения санитарно-эпидемической обстановки в том или ином регионе высока вероятность возникновения и быстрого прогрессирования не одной, а нескольких инфекций одновременно. В последнее время внимание исследователей приковано к так называемым «комплексным вакцинальным системам» (КВС), которые призваны явиться альтернативой существующих средств иммунопрофилактики (ИП). Подобные системы включают в себя ассоциации и комплексы ИЛП, способствующие одновременному введению в организм нескольких антигенных раздражителей, а также ИЛП, основанные на наночастицах, покрытых несколькими антигенными детерминантами в отношении нескольких инфектов.

В структурном отношении КВС представляют собой наночастицы различной природы, нагруженные наиболее активными в иммунологическом отношении детерминантами возбудителей инфекций [53-55]. Основным принципом конструирования КВС является повышение защищенности

иммуногенных субстанций от воздействия ферментных систем организма и, как следствие, их стабильности и биодоступности в отношении иммунокомпетентных клеток [56].

Учитывая вышеизложенное и для полноты доказательности адъювантных свойств адьюванта Абидова мы провели исследования по оценке его адъювантных свойств в условиях одномоментного раздельного введения с ассоциацией ИЛП против ВЭЛ и ортопоксвирусной инфекции.

Для иммунопрофилактики ВЭЛ использовали ВВЭЛ культуральную инактивированную жидкую (сер. 145; контр. №1244). Животных иммунизировали однократно подкожно, иммунизирующая доза препарата составила 0,1 человеко-дозы. Для иммунопрофилактики ортопоксвирусной инфекции использовали вакцину оспенную живую сухую (сер. Т. 15, контр. №1542). Препарат применяли однократно подкожно в объеме 0,5 мл в прививочной дозе, эквивалентной 0,2 человеко-дозы.

В качестве инфицирующих возбудителей:

- вирус ВЭЛ - патогенный штамм Тринидад. Накопление вируссодержащего материала для последующего заражения лабораторных животных осуществляли с использованием 9-11 дневных развивающихся куриных эмбрионов - 30-50 шт. Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащей суспензии. По 0,2 мл каждого разведения вируссодержащей суспензии вносили в аллантоисную полость развивающихся куриных эмбрионов. Место инъекции вируссодержащей суспензии покрывали расплавленным парафином. Затем развивающиеся куриные эмбрионы помещают в термостат при температуре (37±0,5)°С на 18 ч, периодически оценивая их жизнеспособность с помощью овоскопа. По истечении времени инкубации в термостате оценивали жизнеспособность развивающихся куриных эмбрионов и из «тушек» живых эмбрионов готовили 10% суспензию вируссодержащего материала с

использованием физиологического раствора с добавлением антибиотиков (пенициллин из расчета 100 ЕД на 1 мл, стрептомицин - 200 ЕД на 1 мл). Полученную суспензию центрифугировали в течение 10 мин при 1,5-2,0 тыс.об./мин и температуре плюс (3±0,5)°С. Надосадочную жидкость разливали во флаконы объемом 1,0 мл и использовали для дальнейшего заражения экспериментальных животных мышей. Исходный титр вируса 107-108 ЛД50/мл.

- вирус ОК - патогенный штамм Пуменок. Накопление вируссодержащего материала для заражения лабораторных животных осуществляли с использование 11-12-дневных развивающихся куриных эмбрионов - 30-50 шт. Первоначально готовили пять последовательных десятикратных разведений вируссодержащего материала. По 0,2 мл каждого разведения вносили на хорион-аллантоисную оболочку развивающихся куриных эмбрионов. Место инъекции покрывали расплавленным парафином. Инфицированные развивающиеся куриные эмбрионы помещали в термостат при температуре (35±0,5)°°С на 72 ч, ежедневно оценивая их жизнеспособность с помощью овоскопа. По окончании времени инкубации оценивали жизнеспособность развивающихся куриных эмбрионов и из хорион-аллантоисной оболочки живых готовили 60 мл 10% суспензии вируссодержащего материала с использованием физиологического раствора с добавлением антибиотиков (пенициллин из расчета 100 ЕД на 1 мл, стрептомицин - 200 ЕД на 1 мл). Полученную суспензию вируссодержащего материала центрифугировали в течение 10 мин при 1,5-2,0 тыс.об./мин и температуре (3±0,5)°С. Надосадочную жидкость разливали во флаконы объемом 10 мл (пенициллиновые флаконы) и использовали для заражения лабораторных животных. Исходный титр вируса 103-104 ЛД50/мл.

Исследования выполнены на белых не инбредных мышах-самцах массой 16-18 г (350 голов) и 10-12 г (180 голов). В исследования брали

животных, в обязательном порядке выдержавших карантин в течение 1 недели.

Моделирование ВЭЛ in vivo проводили на белых беспородных мышах массой 16,0-18,0 г путем интраназального заражения вируссодержащим материалом в объеме 0,3 мл. Использовали две заражающие дозы возбудителя, вызывающие в контроле гибель 57-100% инфицированных животных. После заражения за мышами устанавливали ежедневное наблюдение в течение 21 суток с регистрацией количества живых и павших особей. Инкубационный период моделируемой инфекции составлял в среднем 5 суток. Заболевание характеризовалось следующими признаками: экспериментальные животные становились малоподвижными, отказывались от еды и питья, шерсть у них была взъерошена. В последующем развивались и нарастали явления энцефалита (нарушение координации, появление парезов и параличей) и наступала гибель инфицированных животных. Максимальная гибель мышей отмечалась, как правило, на 7-9 день после заражения.

Моделирование ОК проводили на белых беспородных мышах массой 10,0-12,0 г, предварительно проводя им эфирный рауш-наркоз и в дальнейшем проводили интраназальное заражение вирусом ОК в объеме 0,03 мл в каждую ноздрю. В эксперименте использовали две заражающие дозы возбудителя, которые различались на один порядок. После заражения за инфицированными животными устанавливали ежедневное наблюдение в течение 14 суток с регистрацией количества живых и павших особей.

Антитела к оспенным антигенам определяли в сыворотке крови иммунизированных соответствующим ИЛП животных на 21 суток после иммунизации. Наличие специфических противооспенных антител в сыворотках крови определяли с помощью общепринятых серологических реакций - реакции нейтрализации (РН), реакции пассивной гемагглютинации (РПГА), реакции торможения гемагглютинации (РТГА), реакции непрямой

гемагглютинации (РНГА). Антитела к антигенам вируса ВЭЛ определяли в сыворотке крови иммунизированных соответствующим ИЛП животных на 21 суток после иммунизации. Наличие специфических антител к вирусу ВЭЛ определяли с помощью общепринятых серологических реакций - РН, РПГА, РТГА, РНГА.

В ходе проведенных исследований иммунизацию животных осуществляли по схеме: первоначально животных иммунизировали комбинацией ИЛП (ВЭЛ+ВОЖС), а адъювант вводили одновременно с комбинацией ИЛП и далее на 3 сутки и 6 сутки после иммунизации комбинацией ИЛП внутрибрюшинно в объеме 0,5 мл в дозе 150 мкг/особь. До иммунизации и спустя 21 сутки после окончания последнего введения адьюванта Абидова у животных методом декапитации отбирали кровь, в сыворотке крови производили определение титров соответствующих специфических антител. Совокупность полученных результатов приведена в таблице 6. Как следует из представленных в таблице 6 данных, ВВЭЛ обеспечивала 70% сероконверсий, что достоверно превышало контрольные параметры, поскольку у животных контрольной группы специфические антитела к вирусу ВЭЛ в сыворотке крови не определялись.

Таблица 6 - Оценка адъювантной активности адъюванта Абидова в отношении ИЛП против ортопоксвирусной инфекции и венесуэльского энцефаломиелита лошадей при их одномоментном раздельном применении

ИЛП для иммунизации	Количество иммунизированных животных, гол.	Величины показателей иммунологической эффективности ВВЭЛ при ее определении серологическими методами					
		Реакция нейтрализации		Реакция пассивной гемагглютинации		Реакция торможения гемагглютинации	
		Сероконверсии, %	Обратная величина титра антител, Ме	Серокон версии, %	Обратная величина титра антител, Ме	Сероко иверси и, %	Обратная величина титра антител, Ме
Иммуногенность ВВЭЛ							
(ВВЭЛ+ВОЖС)+ адъювант Абидова	20	100* (83-100)	25 (25-125)	100 (83-100)*	160*)** (80-320)	100 (83-100)*	80 (40-160)
ВВЭЛ	20	70* (46-88)	25 (25-125)	70 (46-88)*	40 (40-80)	70 (46-88)*	80 (40-80)
Не вводили (контроль)	20	0 (0-17)	0 (0-0)	0 (0-17)	0 (0-0)	0 (0-17)	0 (0-0)
Иммуногенность ВОЖС							
(ВВЭЛ+ВОЖС)+ адъювант Абидова	20	100* (83-100)	25 (25-125)	100 (83-100)*	160*)** (80-160)	100 (83-100)*	80*)** (80-160)
ВОЖС	20	100* (83-100)	25 (25-125)	100* (83-100)	40 (20-40)	100* (83-100)	20 (20-80)
Не вводили (контроль)	20	0 (0-17)	0 (0-0)	0 (0-17)	0 (0-0)	0 (0-17)	0 (0-0)

* - различия с контролем достоверны при $p<0,05$; ** - различия с привитыми ВОЖС достоверны при $p<0,05$.

В случае, когда на фоне применения ИЛП животным вводили адъювант Абидова, то иммуногенные свойства вакцины возрастали. Это проявлялось как увеличением уровня положительных сероконверсий (на 30% по сравнению с показателями у привитых только ВВЭЛ), так и титров специфических сывороточных антител, что наиболее отчетливо проявлялось при титровании иммунных сывороток в РПГА ($p<0,05$). Сравнение полученных результатов с аналогичными по защитной эффективности (таблица 2) позволяет заключить, что выявленные более высокие показатели

выживаемости животных, инфицированных вирусом ВЭЛ, предварительно иммунизированных и получавших совместно с вакциной адъювант Абидова, могут быть обусловлены более выраженным антителогенезом под влиянием препарата.

Применительно к иммунизации ВОЖС в составе ассоциации ВЭЛ+ВОЖС оказалось, что оспенная вакцина обеспечивала формирование противооспенного иммунитета у всех 20 иммунизированных животных к 21 сутки поствакцинального периода как при самостоятельном применении, так и в ассоциации с ВВЭЛ. Уровень сероконверсий составил 100%, что достоверно отличалось от контрольного уровня. При этом в зависимости от метода выявления специфических противооспенных антител в сыворотке крови титры колебались от 1:25 (в реакции нейтрализации) до 1:40 (в реакции пассивной гемагглютинации). Поскольку среди контрольных животных ни у одной особи специфических противооспенных антител в сыворотке крови не выявлено, то различия в титрах между иммунизированными ВОЖС и контрольными мышами достоверны при $p<0,05$. Эти данные согласуются с исследованиями по оценке напряженности поствакцинального иммунитета, проведенными на модели ОК, вызванной одноименным вирусом, штамм Пуменок. При этом также не было зарегистрировано ощутимого вклада препарата в повышение иммуногенности ИЛП, однако и не было выявлено отрицательного влияния адъюванта Абидова на иммунологическую эффективность ВОЖС. Нельзя, однако, не признать, что под его влиянием происходила интенсификация процессов противооспенного антителогенеза, что проявлялось в увеличении титра специфических противооспенных антител в сыворотке крови иммунизированных комбинацией препаратов животных в 4 раза по сравнению с аналогичными показателями у привитых только ВОЖС, причем различия были статистически достоверными ($p<0,05$).

Суммируя результаты проведенных исследований, можно заключить, что:

- адъювант Абидова - перспективный иммунотропный препарат с адъювантной активностью в отношении ИЛП различной природы против инфекционных агентов, вызывающих опасные и особо опасные инфекции бактериальной, вирусной и токсинной природы;

- адъювант Абидова проявляет адъювантные свойства при использовании в дозе 150 мкг/особь, введении однократно, внутримышечно как одновременно раздельно с ИЛП, так и на фоне уже текущего иммунизационного процесса либо за 3-1 суток до предполагаемого заражения, либо одновременно с ИЛП и далее спустя 3 суток, 6 суток после введения ИЛП;

- адъювантые свойства адъюванта Абидова, заключаются в стимуляции специфического антителогенеза как минимум на 30% по сравнению с таковым под влиянием только ИЛП, причем подобный эффект наиболее отчетливо проявляется при использовании адъюванта в сочетании с инактивированными и химическими вакцинами, а также полианатоксинами;

- адъювант Абидова, при сочетанном применении с живыми вакцинами, на примере ВОЖС, не приводит к повышению иммуногенных свойств подобных препаратов, однако и не оказывает и отрицательного иммунотропного действия. Учитывая наличие у адъюванта Абидова противовоспалительного действия, его применение с живыми вакцинами оправдано в плане снижения их реактогенности, обусловленной провоспалительными эффектами подобных ИЛП в начале поствакцинального периода, особенно на этапе первичного IgM ответа;

- адъювант Абидова обладает положительным иммунотропным действие не только в отношении моновакцин, но и вакцинных препаратов или иммуноантигенов в составе ассоциированных препаратов (ТА) и

комплексных вакцинальных систем (ассоциация ВЭЛ+ВОЖС). Причем, повышение иммуногенности практически в одинаковой степени имеет место в отношении каждого из антигенов, входящих в ассоциацию или комплекс, за исключением живых вакцин. Применительно к последним использование адъюванта не столько направлено на повышение их иммуногенности, сколько на снижение реактогенности прививки и, как следствие, повышение Безопасности подобной иммунизации;

- механизм адъювантного действия адъюванта Абидова обусловлен одновременным запуском под его влиянием систем неспецифической иммунологической резистентности, цитокинов и хемокинов, повышению интенсивности перерабатывания антигеннов до иммуногенных форм и, как следствие, более выраженной стимуляции специфического антителогенеза. Более того, попадая в организм вместе с ИЛП, адьювант Абидова обладает способностью не только выступать в роли иммунологического адъюванта, но и, возможно, препятствует развитию патологического процесса инфекций на уровне иммунной системы. В частности, последний, как известно, сопряжен с иммунными дисфункциями, которые развиваются под влиянием либо самих возбудителей инфекций, либо продуктов их жизнедеятельности. При этом имеет место дисбаланс в функционировании как иммунокомпетентных клеток и клеток системы неспецифической иммунологической резистентости, так и нарушение их секреторной активности, приводящее в конечном итоге к дисбалансу медиаторной составляющей иммунной системы;

- учитывая полученные результаты, доказывающие принадлежность адъюванта Абидова к иммунологическим адъювантам, проявляющим подобное действие в отношении ИЛП различной природы и направленности, предполагаются следующие приоритетные области его применения в иммунологии и вакцинологии:

● в составе схем иммунопрофилактики инфекционных заболеваний бактериальной, вирусной и другой природы, включающих использование существующих ИЛП или их ассоциаций и комплексов на основе инактивированных, химических рекомбинантных препаратов вследствие недостаточной иммуногенности подобных препаратов;

● в составе иммунобиологических лекарственных препаратов на основе слабоиммуногенных антигенов (антигенных детерминант, протективных антигенов, компонентов наружных мембран бактерий и вирусов, отвечающих за их патогенные и вирулентные свойства и др.) в качестве одного из компонентов структуры ИЛП;

● в качестве препарата, повышающего безопасность без снижения иммуногенности препарата в схемах иммунопрофилактики инфекций различной природы с использование живых вакцин (при иммунизации против чумы, туляремии, сибирской язвы, бруцеллеза, желтой лихорадки и др-);

● в качестве препарата замены традиционным сорбирующим субстанциями (гидрат окиси алюминия и др.) при производстве сорбированных моно или полианатоксинов, инактивированных вакцин и др.

Полученные результаты следует рассматривать в качестве обоснования использования адъюванта Абидова при проведении, как взрослым, так и детям, иммунопрофилактики инфекционных заболеваний различной природы, в том числе герпеса простого, венесуэльского энцефаломиелита лошадей, ортопоксвирусных инфекций, ботулизм, столбняк, брюшной тиф, дизентерия Зонне и др.

Из приведенных сравнительных примеров следует:

1. На модели острого летального КЭ у мышей применение циклоферона предотвращало летальность 35% инфицированных животных, тамерита - 25%, рибавирина и реаферона-ЕС - 5-10% животных.

2. Сочетанное применение тамерита с официнальными препаратами (рибавирином, циклофероном) более эффективно, чем терапия отдельными препаратами. Наиболее эффектиным оказалось комбинированное применение тамерита и циклоферона, которое защищало от гибели 60% инфицированных животных.

ВЫВОДЫ: Разработан универсальный метод одновременного этиологического воздействия на вирусы, микробы и другие любые патогены, антигены и патогенетического воздействия на главную эффекторную клетку иммунной системы организма - макрофаг.

Суммируя результаты оценки защитной эффективности Тамерита (Tameritum) в отношении опасных инфекционных заболеваний, необходимо отметить, что благодаря своим универсальным механизмам активирующего влияния на компоненты неспецифической иммунологической резистентности, он обеспечивает формирование невосприимчивости организма как к инфекциям бактериальной, вирусной природы, так и к патогенам другой инфекционной природы.

При этом широта действия препарата распространяется как на инфекции с внутриклеточным типом паразитирования (например, туляремия), так и на инфекции вирусной природы, вызванные вирусами, относящимися к различным таксономическим группам, что позволяет рассматривать препарат в качестве универсального противо инфекционного средства при всех видах инфекций.

В целом, анализируя защитную эффективность тамерита на моделях опасных инфекционных заболеваний бактериальной природы следует отметить, что состояние иммунной системы, прежде всего системы

фагоцитоза и неспецифической иммунологической резистентности, играет важную роль в плане защиты организма от этих инфекций, а его выраженный защитный эффект как раз и может быть обусловлен влиянием на эти системы.

В целом, анализируя специфическую активность и защитную эффективность комбинации тамерита и левофлоксацина на моделях ООИ бактериальной природы следует отметить, что тамерит в ряде случае на 20% увеличивал эффективность антибактериальной терапии при сибиреязвенной инфекции, что свидетельствует о перспективности включения тамерита в схемы антибактериальной терапии этих ООИ.

Данные исследований позволяют заключить, что в условиях возникновения различных инфекций Тамерит (Tameritum) можно использовать как препарат выбора для экстренной профилактики (монотерапия) в любой лекарственной и нелекарственной форме в дозировке от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг, используемые в биологии, медицине и ветеринарии в независимости от путей введения (применения), (как например: инъекции внутривенно, внутримышечно, субкутанно, растворы, смеси, суспензии, свечи, клизмы, присыпки, мази, гели, спреи, таблетки, капсулы и т.д.) до установления ее истинной причины, подключая в дальнейшем иные противо инфекционные препараты, такие как противомикробные, противовирусные, противогрибковые, антипаразитарные и др. При идентификации патогена можно назначать лечение Тамеритом в изученных комбинациях с противомикробными, противовирусными, и другими препаратами.

Наши исследования Тамерита по лечению широкого спектра инфекционных заболеваний подтвердили следующие положения:

- Тамерит снижает обратимо до нормы гиперактивность макрофагов (тем самым, не допуская запуска избыточной воспалительной реакции в

организме), при этом не подавляя функцию макрофагов в случае их нормальной (физиологической) активности. В этом кардинальное отличие Тамерита от цитостатиков, моноклональных антител и других противовоспалительных средств, которые угнетают иммунитет и используются при аутоиммунных заболеваниях для уменьшения аутоагрессии;

- усиливает фагоцитоз и повышает микробицидную (уничтожение микробов) активность нейтрофилов и других гранулоцитов (против всех видов бактерий, паразитов, простейших и других патогенных микроорганизмов); повышает активность NK-клеток;

- оказывает антиоксидантное действие (борьба со свободными радикалами);

- противовирусное действие (стимулирует синтез эндогенного интерферона).

Характеристики изобретения в совокупности делают его исключительным:

● безопасен и не имеет побочных эффектов (важно для детей и пожилых пациентов, людей с аллергическими и сопутствующими заболеваниями);

● совместим с любой другой терапией;

● эффективен при бактериальных и вирусных инфекциях (актуально, когда растет антибиотико-устойчивость бактерий);

● снижает уровень аутоагрессии;

● допускается прием здоровыми людьми, как например, для профилактики в эпидемический период;

● возможно назначение без предварительной иммунограммы при контакте с инфицированными людьми;

● разнообразие лекарственных форм, как моно- так и готовых комбинированных средств с препаратом (пример: любой антибиотик + Тамерит в одной таблетке, Тамерит + любой противовирусный препарат в одной капсуле, Тамерит + любой противогрибковый препарат в растворе и т.д.). Возможно создание любых форм и сочетаний Тамерита с другими лекарственными и нелекарственными средствами.

Изобретение может быть использовано в терапии широкого спектра болезней комбинацию препарата Тамерит (Tameritum) с другими противоинфекционными лекарственными и нелекарственными средствами, со всеми антибактериальными, бактерицидными, антисептическими, бактериостатическими, противовирусными, противогрибковыми, противопаразитарными и другими. Препарат Тамерит (Tameritum) может быть представлен в любой форме. Также возможно создание комбинированных готовых лекарственных и нелекарственных форм, биологически активных форм всех видов, используемых в биологии, медицине и ветеринарии вне зависимости от путей введения (применения): орально, перорально, инфузии, инъекции, растворы, таблетки, капсулы, суспензии, свечи, мази, гели, спреи, присыпки и другие. В готовых комбинациях Тамерита (Tameritum) с другими лекарственными и не лекарственными средствами.

Нами доказано собственное бактерицидное и противовирусное действие дериватов аминофталгидразида, что позволяет использовать препарат Тамерит как универсальный препарат выбора для экстренной профилактики при всех случаях заражения любыми инфекционными заболеваниями до установления этиологии возбудителя. А после определения возбудителя заболевания препарат Тамерит может быть использован для проведения эффективной патогенетической терапии в комбинации с любым

другим лекарственным препаратом (любой химической природы и формы). Выявлен дозо-зависимый эффект препарата, что позволяет использовать его от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг в медицине, ветеринарии и биологии.

Изучены все дериваты 5-амино-2,3,-дигидрофталазин-1,4-дион натриевая соль и других щелочных и щелочноземельных металлов (моногидрат, дигидрат, безводная форма), в любой лекарственной и нелекарственной форме, как например инъекции, ингаляции, спреи, свечи, растворы, суспензии, мази, таблетированные формы (как например нормальные, гастрорезистентные, двухслойные, трехслойные и четырехслойные), капсульные, сублингвальные и другие формы применения, а также аминофталгидразид в виде дигидрата, моногидрата, безводной формы, в виде кристаллического, лиофилизированного, смешанного порошков и другой формы лекарственного и нелекарственного применения, в виде разных солей аминофталгидразида с щелочными и щелочноземельными металлами и другими, в дозировке от 0,01 мг/кг до 4000 мг/кг.

Из результатов проведенной работы можно предположить, что воздействие на организм вирусов, микробов и других патогенных микроорганизмов являются пусковым механизмом, а дальше исход патологического процесса зависит от ответной реакции универсального защитного звена организма (иммунитета), а точнее от реакции главной эффекторной клетки - макрофага. Выявлен универсальный механизм противостояния организма против любой инфекции и любой локализации поражения независимо от вида патогена. Найден лекарственный препарат для его регуляции, что может усилить выживаемость человека и животных при различных эпидемиях, вызванных опасными и особо опасными инфекциями. Разработан метод одновременного воздействия на патоген (любой) и на главную эффекторную клетку иммунной системы -макрофаг, с целью снижения тяжести (возможности) развития патологического процесса,

что открывает большие перспективы в борьбе с инфекционными заболеваниями.

Изобретение может быть использовано в научно-исследовательских лабораториях, химико-фармацевтической и парафармацевтической промышленности, лечебных учреждениях, а также в ветеринарии.

Список использованных источников:

1. Абидов М.Т., Материалы диссертации на звание доктора медицинских наук 1994 г.,

2. Абидов М.Т. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2000 г.

3. Лебедев В.В. Абидов М.Т. Профилактика и лечения тяжелых форм лептоспироза 2006 г.

Формула

1. Применение препарата Тамерит (Tameritum) для повышения устойчивости организма к особо опасным инфекционным заболеваниям бактериальной и вирусной природы, исключая острые кишечные инфекции, туберкулез легких, бруцеллеза, гепатит С, риккетсикозы, ВИЧ-инфекцию.

2. Применение по п. 1, где применение тамерита осуществляют в форме инъекции, ингаляции, спрея, свечей, раствора, суспензии, мази, таблетированной формы, капсульной, сублингвальной формы, в виде кристаллической, лиофилизированной, смешанной и другой формы.

3. Способ повышения устойчивости организма к особо опасным инфекционным заболеваниям бактериальной и вирусной природы, исключая острые кишечные инфекции, туберкулез легких, бруцеллез, гепатит С, риккетсикоз, ВИЧ-инфекцию, включающий использование препарата Тамерит (Tameritum), в дозе от 3 мг/кг до 14 мг/кг или использование комбинации препарата Тамерит в разовой дозе 400 мг и суточной 800 мг и препарата, выбранного из антибактериального, кроме доксициклина, противовирусного.

4. Способ по п.3, отличающийся тем, что препарат Тамерит (Tameritum) применяют в составе комплексной терапии.

5. Способ по п.4, где препарат Тамерит (Tameritum), применяют в комплексной терапии совместно с противовирусными препаратами, включая Триазавирин, интерферон.

6. Способ по п.4, где препарат Тамерит (Tameritum), применяют в сочетании с указанными препаратами совместно с антибактериальными препаратами, кроме доксициклина.

7. Способ по п.3-6, где препарат Тамерит (Tameritum) воздействует на макрофаг, предотвращая его гиперактивность.