

61:02-3/1376-X

МОСКОВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ им. К. И. СКРЯБИНА

На правах рукописи

ШЕРСТНЁВ ВАЛЕРИЙ ВИКТОРОВИЧ

**ВЛИЯНИЕ НА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС СВИНЕЙ
ПРЕПАРАТА НИАЦИД, ПОЛУЧАЕМОГО ПО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ
СХЕМЕ, ОРИЕНТИРОВАННОЙ НА БЕЗОТХОДНОЕ ПРОИЗВОДСТВО**

03.00.23 – биотехнология

16.00.03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, миколо-
гия с микотоксикологией и иммунология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:
доктор биологических наук
Мирзаев М. Н.
доктор биологических наук
Девришов Д. А.

Москва - 2002

| | Стр. |
|---|------|
| Введение. | 5 |
| I. Обзор литературы. | 9 |
| 1. Стрептомицеты как объекты биотехнологии. | 9 |
| 1.1 Общая характеристика стрептомицет. | 9 |
| 1.2 Практически значимые биологически активные вещества, продуцируемые стрептомицетами. | 10 |
| 1.2.1 Антибиотики. | 10 |
| 1.2.2 Витамины, аминокислоты. | 12 |
| 1.2.3 Липиды. | 13 |
| 1.2.4 Авермектины и другие противопаразитарные вещества. | 17 |
| 2. Биотехнологические процессы получения авермектинов и готовых лекарственных средств на их основе. | 19 |
| 3. Авермектинсодержащие препараты и их противопаразитарная активность: | 25 |
| 3.1 Препараты на основе ивермектина. | 25 |
| 3.2 Препараты на основе авермектинов. | 28 |
| 4. Влияние препаратов авермектинового ряда на иммунобиологический статус животных. | 29 |
| II. Собственные исследования. | 36 |
| 1. Материалы и методы исследований. | 36 |
| 2. Результаты исследований. | 46 |
| 2.1 Культивирование продуцента авермектинов <i>Streptomyces avermitilis</i> – 56 при получении биологически активных веществ. | 46 |
| 2.2 Эффективность авермектинсодержащего препарата ниацид при лечении смешанных гельминтозов свиней. | 50 |
| 2.3 Влияние ниацида на показатели иммунобиологического статуса свиней при лечении гельминтозов. | 53 |

| | |
|---|------------|
| 2.3.1 Биохимические показатели. | 54 |
| 2.3.2 Результаты иммунологических исследований. | 58 |
| 2.3.3 Гематологические показатели. | 63 |
| 2.4 Изучение биологически активных свойств липидов биомассы <i>Streptomyces avermitilis</i> -56 – продуцента авермектинов. | 65 |
| 2.4.1 Выделение и очистка. | 65 |
| 2.4.2 Определение фракционного состава. | 68 |
| 2.4.3 Влияние липидов на процессы свободнорадикального окисления. | 71 |
| 2.4.4 Действие липидов на иммунный статус лабораторных животных. | 73 |
| 2.4.5 Анаболические свойства липидов биомассы <i>S. avermitilis</i> . | 74 |
| III. Обсуждение результатов исследований. | 77 |
| IV. Выводы. | 86 |
| V. Сведения о практическом использовании результатов исследований. | 87 |
| VI. Рекомендации по использованию научных выводов. | 87 |
| VII. Библиографический список. | 89 |
| VIII. Приложения. | 105 |

Перечень условных обозначений, наименований, сокращений, используемых в тексте.

Ig G, Ig M – иммуноглобулины G, иммуноглобулины M;

m_x – ошибка;

p – уровень доверительной вероятности;

Rf – коэффициент подвижности;

\bar{X} – средняя арифметическая;

λ – длина волны;

АлАТ – аланинаминотрансфераза;

АсАТ – аспартатаминотрансфераза;

БАВ – биологически активные вещества;

ВЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

ГАМК – гаммааминомасляная кислота;

ГКА – глюкозо-картофельный агар;

ГКС – глюкозо-картофельная среда;

ДВ – действующее вещество;

ИПС – изопропиловый спирт;

ИЭ – интенсэффективность;

КЖ – культуральная жидкость;

КРС – крупный рогатый скот;

ЛД – летальная доза;

МПБ – мясопептонный бульон;

НОК – неокисленная олеиновая кислота;

НЭЖК – незтерифицированные жирные кислоты;

ОК – олеиновая кислота;

ПЭФ – петролейно-эфирная фракция;

СРО – свободнорадикальное окисление;

ТСХ – тонкослойная хроматография;

ХЛ – хемиллюминесценция;

ЭЭ – экстенсэффективность.

ВВЕДЕНИЕ.

Актуальность. Паразитозы сельскохозяйственных животных широко распространены во всем мире и вызывают тяжелые поражения различных органов и тканей, нанося тем самым значительный экономический ущерб, связанный со снижением продуктивности, ухудшением качества животноводческой продукции, а в отдельных случаях и гибелью животных. В связи с этим, одной из важных задач ветеринарной медицины и биотехнологии является создание и применение эффективных и безопасных лечебных средств широкого спектра антипаразитарного действия. Применяемые до недавнего времени методы борьбы с экто- и эндопаразитами животных, основанные на использовании химических препаратов, загрязняющих окружающую среду и являющихся зачастую высокотоксичными для животных, не всегда давали желаемый результат (Т. Г. Никулин, А. А. Шевцов, 1984; А. А. Антипов, 1993).

Новым этапом в борьбе с паразитозами животных явилось открытие авермектинов, продуцируемых микроорганизмом *Streptomyces avermitilis* и обладающих широким спектром противопаразитарной активности (W. C. Campbell, M. H. Fisher, E. G. Starley, 1983). На основе этих соединений в ряде зарубежных стран созданы препараты, содержащие в качестве действующего вещества (ДВ) ивермектин – комплекс гидрированных форм авермектинов В_{1а} и В_{1б} (ивомек, баймек, цевамек и др.). Эти препараты нашли широкое применение в ветеринарной практике во многих странах мира, в том числе и России (И. А. Архипов, 1987; В. А. Апалькин, Н. М. Корешков, 1991; Ф. А. Волков, 1993; Р. Т. Сафиуллин, 1997).

Исследования по разработке отечественной технологии биосинтеза авермектинов, начатые в НПО «Биотехнология» в конце 80-х годов, позволили создать первые образцы авермектинсодержащих препаратов аверсект-1 и ниацид (В. А. Мосин, В. А. Дриняев, М. Н. Мирзаев, 1992-1993; В. А. Дриняев, С. Н. Савченков, Т. С. Стерлина и др., 1995). В настоящее время в России известны и другие противопаразитарные средства, созданные на основе натуральных авер-

мектинов – аверсект-2, ивертин, рустомектин (Т. С. Гульчинская, 2001). Перечисленные препараты зарегистрированы в РФ, достаточно широко апробированы в ветеринарной практике, но многие вопросы, связанные с воздействием их на иммунобиологический статус животных, технологией применения с учетом вида животных и др. требуют дальнейшего изучения и уточнения. Об этом свидетельствуют, например, данные (В. А. Дриняев, В. А. Мосин, Е. Б. Кругляк, 1998) о регулирующем действии авермектинов на деление клеток макроорганизмов.

Другой важной задачей является рациональное использование биомассы продуцента авермектинов, являющейся отходом производства. Возможным путем использования отработанной биомассы *Streptomyces avermitilis* при производстве авермектинов является получение на ее основе других биологически активных веществ.

Следует отметить, что научных разработок в этом направлении очень мало, хотя в ряде стран с развитой биотехнологической промышленностью проблема рационального использования биомассы микроорганизмов решена не полностью. Таким образом, при изучении возможности использования биологически активных веществ биомассы *Streptomyces avermitilis*, важно исследовать ее биохимический состав и метаболизм самого микроорганизма.

Многочисленные данные литературы указывают на возможность использования в ветеринарной практике ряда соединений (липиды, белки, полисахариды), синтезируемых микроорганизмами и обладающих биологически активными свойствами (А. И. Журавлев, 1975; В. Д. Кузнецов, Т. П. Ефимова и др., 1975; М. И. Рецкий, 1998 и др.).

Поэтому работы по использованию биомассы, а также побочных продуктов, образующихся при производстве авермектинов, в качестве сырья для получения биологически активных веществ являются актуальными, имеющими народно-хозяйственное и экологическое значение.

Цель и задачи исследований. Целью работы является изучение воздействия на иммунобиологический статус свиней противопаразитарного препарата

ниацид, получаемого по технологической схеме, ориентированной на безотходное производство.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

- изучить биосинтез авермектинов и липидов микроорганизмом *Streptomyces avermitilis*-56 при культивировании глубинным способом;
- отработать технологию выделения, очистки и определения фракционного состава липидов биомассы продуцента авермектинов;
- определить лечебно-профилактическую эффективность ниацида, содержащего в качестве действующего вещества полный авермектиновый комплекс и абамектин;
- изучить влияние препарата на гематологические, биохимические и иммунологические показатели организма животных;
- оценить биологически активные свойства липидов биомассы *Streptomyces avermitilis*-56 на лабораторных животных и модельных системах.

Научная новизна работы. Впервые показано стимулирующее влияние противопаразитарного препарата ниацид на бактерицидную активность сыворотки крови свиней, а также отсутствие отрицательного воздействия его на факторы клеточного, гуморального иммунитета и основные биохимические показатели.

Впервые изучены фракционный состав и биологически активные свойства липидов биомассы продуцента авермектинов *S. avermitilis*-56. Показано, что петролейно-эфирная фракция обладает достаточно высокой антиокислительной активностью. Выявлена ростстимулирующая способность липидов *S. avermitilis* на микро- и макроорганизмы (*E. coli*, белые мыши).

Предложена технологическая схема выделения и очистки липидной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis*.

Практическая и теоретическая значимость. Получены экспериментальные данные для уточнения технологии применения противопаразитарного препарата ниацид при лечении гельминтозов свиней и составлены изменения к

наставлению по его применению.

Результаты исследования состава и биологически активных свойств липидной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis* могут быть использованы при разработке безотходной технологии получения авермектинов.

Апробация результатов работы. Результаты исследований доложены и обсуждены на Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 30-летию ВНИТИБП «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов», 2000 г. и на «Методической и научной конференции» Московской Государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, 2001г.

Публикация результатов исследований. Опубликовано 4 работы, в том числе 3 по теме диссертации.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Данные по эффективности препарата ниацид при лечении гельминтозов в условиях Подмосковья, Республики Беларусь, Омской области, а также воздействие его на биохимические, гематологические и иммунологические показатели животных.
2. Выделение, очистка и определение фракционного состава липидов биомассы *Streptomyces avermitilis*-56.
3. Биологически активные свойства липидной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis*-56.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 110 страницах машинописного текста. Содержит 13 таблиц и 18 рисунков. Состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, сведений о практическом использовании результатов исследований, рекомендаций по использованию научных выводов, библиографического списка и приложения. Список литературы включает 177 источников, из них 131 отечественных и 46 иностранных авторов.

I. Обзор литературы

1. Стрептомицеты как объекты биотехнологии.

1.1 Общая характеристика стрептомицет.

Стрептомицеты привлекают большое внимание ученых-биотехнологов в связи с тем, что они являются продуцентами широкого спектра биологически активных соединений (антибиотики, ферменты, витамины и другие вещества), используемых в медицине, ветеринарии, сельском хозяйстве, пищевой промышленности и других отраслях народного хозяйства.

Стрептомицетами в мировой литературе называют представителей рода *Streptomyces* группы 25 «Стрептомицеты и близкие роды» [102].

В «Определителе актиномицетов» [103] род *Streptomyces* Waksman et Henrici (1943) показан как синоним *Actinomyces*.

Описаны разнообразные питательные среды для выращивания и поддержания актиномицетов и биосинтеза с их помощью биологически активных веществ, в том числе антибиотиков [32]. Наиболее распространенные в промышленности и условно разделенные на группы по составу (в основном по доминирующему компоненту) или по назначению питательные среды приведены в работе С. М. Семенова [127].

Микроорганизмы рода *Streptomyces* образуют на плотных средах хорошо развитый мицелий, который подразделяется на субстратный и воздушный. Колонии обычно небольшие, 1-10 мм в диаметре, плотные, кожистые, врастающие в субстрат [91, 92].

Поверхность агара, как правило, покрыта мучнистым, бархатистым или пушистым воздушным мицелием, который чаще всего толще субстратного и обладает гидрофобными свойствами. Цепочки спор образуются на специальных спороносящих гифах, отходящих от стерильных гиф воздушного мицелия моноподиально или в виде пучков.

Стрептомицеты образуют различные пигменты, являющиеся продуктами вторичного метаболизма. Они обуславливают окраску воздушного и субстратного мицелия, а также субстрата [103].

1.2 Практически значимые биологически активные вещества, продуцируемые стрептомицетами.

1.2.1 Антибиотики.

Среди стрептомицет выявлено множество представителей, угнетающих рост других микробов при помощи вырабатываемых ими антибиотиков. В настоящее время известно несколько тысяч антибиотиков, а практически используется только малая часть. Объясняется это тем, что многие препараты имеют высокую химиотерапевтическую активность, но ядовиты для человека и животных. В тоже время известно значительное количество антибиотиков, пригодных для широкого применения в ветеринарии и животноводстве [18, 38, 48, 106].

Так, свойства некоторых кормовых антибиотиков позволяют не только профилактировать различные заболевания, но и стимулировать рост и развитие животных [74].

Антибиотик стрептомицин, выделенный из *Act. streptomycini*, обладает широким спектром действия, он подавляет рост грамположительных и грамотрицательных микробов, таких, как стафилококки, стрептококки, а главное - действует на возбудителя туберкулеза, который относится к кислотоустойчивым микробам. Стрептомицин наиболее активен в аэробных условиях, не подавляет рост анаэробов, грибов, риккетсий, вирусов, механизм его действия связан с ингибированием синтеза белка [3, 64].

Из культуральной жидкости *Act. kanamyceticus* выделен антибиотик канамицин. Препарат подавляет рост микробов, устойчивых к пенициллину, стрептомицину, левомицетину, тетрациклинам и другим антибиотикам. Ток-

сичность для животных такая же, как и у стрептомицина, но ниже чем у неомицина, с которым он имеет много общего. Сульфат канамицина вводят, в основном, внутримышечно [18, 3].

Неомицин - комплекс антибиотиков (колимицин, мицерин и др.), образуемый при биосинтезе *Act. fladiae* и других грибов. Применяют сульфат неомицина В, который хорошо растворим в воде и слабо - в спиртах. Сохраняется до двух лет как в кристаллическом состоянии, так и в растворах. Неомицин — антибиотик широкого спектра действия, но к нему устойчивы клостридии, грибы, некоторые штаммы синегнойной палочки. Антибиотическая активность на многие микробы выше, чем у стрептомицина, но он более токсичен. Вызывает потерю слуха и воспаление почек [18].

Микроорганизм *Streptomyces griseus* является продуцентом антибиотика кормогризина, который получают при глубинной ферментации микроба на среде, содержащей кукурузную муку, крахмал и минеральные соли. Антибиотик обладает малой токсичностью для теплокровных, угнетает развитие значительного количества видов бактерий, грибов и дрожжей. Используют и высушенную массу мицелия *S. griseus*, которую вносят в корм как ростстимулирующую добавку, оказывающую положительное влияние на обмен веществ животных. Хороший эффект дает кормогризин при откорме свиней, а также индеек, гусей и другой птицы [10, 24, 31, 48, 49, 107, 108, 8].

Антибиотик витаминин продуцируется стрептомицетом *Streptomyces aureverticillatus*. Препарат представляет собой высушенную культуральную жидкость вместе с мицелием. Установлено, что биологическая активность витаминина может компенсировать недостачу в кормах витамина А. Препарат ускоряет рост животных и позволяет экономить корма [65, 17, 50].

Культурой *S. aurigineus* вырабатывается антибиотик кормарин. Препарат готовят из смеси культуральной жидкости и мицелия-продуцента, высушенных на распылительной установке. Кормарин содержит витамины группы В, гормоноподобные вещества и другие факторы роста. Использование кормарина в рационах животных и птицы повышает приросты живой массы, улучшает обмен

веществ и усвояемость компонентов корма [18].

Флавомицин (продуцент *S. bambergiensis*) применяют как стимулятор роста свиней. Кормовой антибиотик виргиниемицин (продуцент *S. virginiae*) является хорошим стимулятором роста с длительным действием, используемым при выращивании животных. В значительных количествах применяют румензин (продуцент *S. cinnamomensis*), улучшающий переваримость корма за счет замедления скорости его прохождения по пищеварительному тракту [3].

Имеются сведения о широком использовании тилозина (продуцент *S. fradiae*), обладающего широким антимикробным спектром, но в основном действующим на грамположительные микроорганизмы. На кишечную палочку, в частности, он влияет слабо. Введение данного препарата в кормовой рацион свиней способствует большему приросту живой массы, чем введение других антибиотиков [65, 18].

1.2.2 Витамин, аминокислоты.

Немаловажным можно считать и образование стрептомицетами таких биологически активных веществ как витамин, аминокислоты и др.

В мицелии стрептомицет, являющемся главным отходом микробиологического производства, накапливается 16-17 аминокислот, микроэлементы, полисахариды и т.д. [114, 105].

Общая сумма аминокислот в мицелии колеблется от 130,19 до 325,27 мг/кг сухой биомассы. Среди них обнаружены незаменимые аминокислоты (лизин, гистидин, метионин, треонин, лейцин, изолейцин, валин, фенилаланин), частично заменимые (аргинин, глицин, тирозин), заменимые (глутаминовая, аспарагиновая кислота, аланин, серин, пролин) [17].

Стрептомицеты (*S. tyoideus*, *S. aviculastus* и др.) также используются для получения аминокислот (L-аланина и др.) [65].

Некоторые стрептомицеты (*Streptomyces aurantiaca*), культивируемые на отходах животноводческих ферм или гидролизате древесины, позволяют полу-

чать массу, содержащую не только β -каротин, но и витамины группы В и антибиотики [65, 53].

По данным Л. П. Ковальчука культуры *Act. griseus* 15, *Act. aureoverticillatus* 1306 и *Act. aurigineus* 2377 в процессе выращивания на различных средах синтезируют витамины группы В (тиамин, рибофлавин, пиридоксин, биотин, никотиновую кислоту и истинный витамин В12).

Сравнительное исследование содержания витаминов в мицелии и культуральной жидкости показывает, что разные виды актиномицетов при выращивании их в одинаковых условиях незначительно отличаются по способности синтезировать витамины группы В. Витамин В12 накапливается в основном в мицелии, а остальные изучаемые витамины (до 80%) выделяются в ферментационную среду [80, 79, 23].

1.2.3. Липиды.

Среди веществ, входящих в состав клеток микроорганизмов, особая роль принадлежит липидам. Эти соединения выполняют самые разнообразные функции - входят в состав клеточных мембран, митохондрий, являются составной частью ферментов, участвуют в процессе активного переноса электронов и различных веществ внутри клетки, оказывают влияние на биосинтез нуклеиновых кислот и белков [28, 34, 152].

Исследования ряда авторов показывают, что липиды обладают различной биологической активностью: антибактериальной, радиозащитной, иммунологической, противоопухолевой и т.д. [19, 94, 96, 88, 176].

Имеются сообщения об адьювантных свойствах отдельных липидов, видимо, за счет повышения активности макрофагов [9, 68].

Липидный состав стрептомицетов неоднороден. В него входят следующие основные классы соединений: эфиры стеринов, триглицериды, свободные жирные кислоты, диглицериды, моноглицериды, стерины и фосфолипиды. Преобладающим классом являются триглицериды [60, 71].

Результаты опытов по изучению анаболического действия стеринов *Streptomyces griseus* на цыплятах породы леггорн показали, что стерины обладают достоверным ростстимулирующим действием в дозе 1 мкг на голову в сутки. Увеличение этой дозы в 2 раза снижает эффект, что говорит о высокой биологической активности этой фракции [111, 112].

Высокий ростстимулирующий эффект обнаружен и у стеринов из мицелия *Act. canosus*. Так, в опытах на белых крысах парентеральное введение 1-2 мг стеринов в растворе вазелинового масла вызывало увеличение привесов на 40-60% [110, 111].

Установлено достоверное эстрогенное действие на половую систему самок крыс стеринов стрептомицет при семикратном внутрибрюшинном введении в дозах от 7,2-17 мг на животное в сутки [111].

Липидные фракции актиномицетов обладают не только антимикробными свойствами по отношению к ряду тест-микроорганизмов (грамположительные и грамотрицательные бактерии, дрожжи и дрожжеподобные грибы рода *Candida*), но и антиоксидантной активностью, а при внутримышечном введении повышают естественную резистентность и интенсивность роста поросят на 15-20%, что снижает затраты корма на 15-23% [35, 36, 37].

Липидные фракции разных видов актиномицетов обладают неодинаковой антиокислительной активностью. Так, в разной степени выраженными свойствами обладают фосфолипиды, стерины и свободные жирные кислоты, значительную антиокислительную активность проявляют моноглицериды. Трудно говорить о взаимосвязи антиокислительной активности с другими биологическими свойствами липидных фракций, но можно отметить, что стерины, имеющие низкую антиокислительную активность, не обладают эстрогенным действием [111].

Особое внимание было уделено фосфолипидной фракции, поскольку антибиотики этой природы (например, флавомицин), по мнению авторов, могут оказаться наиболее эффективными для применения в практике [110].

Фосфолипиды микроорганизмов представляют собой обширную группу

соединений, содержащих глицерин, остаток фосфорной кислоты, жирные кислоты и спирты. Фосфолипиды или глицерофосфаты (в микроорганизмах их не менее 10) необычайно лабильны, легко превращаются и участвуют в метаболизме клеток. Располагаются фосфолипиды, преимущественно в мембранах, причем, активность ферментов внутренних и внешних мембран митохондрий изменяется в зависимости от степени ненасыщенности входящих жирных кислот. Их биологическая роль заключается в активации молекул акцептора и образовании активных промежуточных продуктов [56, 22, 101].

Фосфолипиды оказывают существенное влияние на транспорт веществ из внешней среды в клетку, активизируют синтез большой группы ферментов, участвуют в обмене нуклеиновых кислот, т.е. являются связующими соединениями в узловых пунктах метаболизма. В некоторых случаях фосфолипиды определяют вирулентность бактерий, а иногда обладают бактерицидным и бактериостатическим действием [81, 82, 83, 111]. В мембранах клетки очевидно расположены и ферменты, воздействующие на фосфолипиды, так называемые фосфолипазы, гидролизующие эфирные связи в молекулах фосфолипидов. Следовательно, фосфолипиды могут рассматриваться как динамические компоненты биомембран, поддерживающие постоянство и стабильность мембранной организации путем тонкосбалансированных реакций распада и ресинтеза.

В настоящее время фосфолипиды привлекают к себе внимание исследователей в аспекте использования их в качестве биоантиоксидантов.

Известно, что в условиях практически полной изоляции животных от прямого воздействия факторов внешней среды они нередко оказываются в различных стрессовых ситуациях – гиподинамия, гипоксия, транспортировки на значительные расстояния, несбалансированное кормление и т.д. В таких экстремальных условиях в организме возникают реакции свободно-радикального (перекисного) окисления. Это приводит к снижению продуктивности животных, повышению расхода корма на единицу продукции, а в тяжелых условиях вызывает глубокие нарушения обмена веществ типа кетозов. Блокировать процессы перекисного окисления могут только вещества называемые антиоксидан-

тами.

По данным Т. Н. Раковой фосфолипиды стрептомицет стабилизируют систему антиоксидантной защиты организма, что свидетельствует о целесообразности их применения для нормализации роста переболевших животных, гипотрофиков, а также в целях профилактики отрицательных последствий транспортного стресса [114].

Следует отметить, что по данным того же автора, фосфолипиды стрептомицет обладают анаболическими и адьювантными свойствами [9, 11].

Опыты, проведенные на поросятах-гипотрофиках, масса которых в возрасте 26 дней не превышала 3,6 кг, показали, что спустя месяц после применения препарата масса контрольных поросят составила $9,2 \pm 0,15$ кг, а опытных значительно больше – $10,9 \pm 0,13$ кг. Тем самым между контрольной и опытной группами выявлены достоверные различия в изменении прироста массы.

В опытах с поросятами, которым одновременно с вакцинами вводили фосфолипиды, повышение уровня иммунного ответа подтверждалось такими изменениями иммунного статуса, как увеличение фагоцитарного числа (с $2,83 \pm 0,32$ до $3,61 \pm 0,39$), увеличением количества плазматических клеток в 2,1 раза по сравнению с контролем. Количество же Т-лимфоцитов превышало показатели контрольных животных в 1,5 раза, а В-лимфоцитов в 1,4 раза.

Комплекс липидов *Str. griseus* 15, извлеченный из мицелия петролейным эфиром, имеет высокую биологическую активность, которая обусловлена содержанием веществ стериновой природы. Стерины в комплексе с полисахаридами и фосфолипидами оказывают иммуностимулирующее действие при введении животным в процессе вакцинации, что дает возможность применять их для коррекции иммунного ответа [114, 115].

Петролейно-эфирная фракция липидов *Str. griseus* повышает естественную резистентность животных, активизирует азотистый, углеводно-липидный, минеральный и витаминный обмен веществ, обеспечивает стабильный прирост живой массы по сравнению с контролем на 13-16%, не изменяя при этом веса паренхиматозных органов и химического состава мяса [114, 117].

Следует отметить существенное изменение минерального обмена под воздействием петролейно-эфирной фракции липидов. Установлено положительное действие препарата на содержание таких важнейших микроэлементов, как медь, цинк, кобальт и марганец, транспорт аминокислот через мембраны клеток и синтез белка.

Показано также, что липидные фракции актиномицетов обладают антибиотическими свойствами селективного действия по отношению к различным микроорганизмам (*St. aureus* 209, *Bac. subtilis* 6633, *E. coli* 113-3, *Cand. albicans* и др.). Антибиотическая активность обусловлена содержанием в них фосфолипидов и проявляется при определенной очистке последних [109].

1.2.4 Авермектины и другие противопаразитарные вещества.

Значительное место среди метаболитов стрептомицет, применяемых в ветеринарии и животноводстве, занимают противопаразитарные вещества широкого спектра действия.

Так, микроорганизмом *Streptomyces cyanogriseus* sp. n. *noncyanogenus* продуцируется соединение – немадектин, из которого путем химической модификации получается моксидектин, который является действующим веществом противопаразитарного препарата цидектина.

В работах отечественных и зарубежных исследователей приведены факты о его высокой эффективности при паразитозах животных. Так, Е. Т. Lyons, J. H. Drudge, I. C. Tolliver (1989) показали высокую эффективность немадектина при нематодозах пищеварительного тракта овец.

А. А. Антипов (1993) показал 100% эффективность цидектина против метастронгил. При псороптозе и гематопинидозе телят, псороптозе овец и желудочно-кишечных и легочных стронгилятозах овец и телят цидектин также показал 100% эффективность [21].

В опытах по применению цидектина на спонтанно инвазированных поро-

сятах и свиноматках показано, что эффективность препарата против аскарид составила 100%, эзофагостом – 90% [123].

Мильбемицины, выделенные из *Streptomyces hygroscopicus*, по химической природе представляют собой макроциклические лактоны, обладающие широким спектром инсектоакарицидного действия, особенно против гельминтов крупного рогатого скота [137, 172, 174].

Особое внимание исследователей привлекают такие метаболиты, как авермектины, обладающие широким спектром противопаразитарной активности и относительно безвредные для животных и окружающей среды. Эти соединения продуцируются микроорганизмом *Streptomyces avermitilis* и представляют собой по химическому строению 16-членные макролиды, в состав которых входят лактон и дисахарид, состоящий из двух остатков олеандрозы.

В настоящее время в ветеринарной практике используется много противопаразитарных средств на основе авермектинов: ивомек, аверсект, ниацид, цидектин, баймек, фармацин и др.

Механизм действия авермектинов на паразитов (W. C. Campbell, 1983) следующий:

- у нематод авермектин стимулирует образование гаммааминомаслянной кислоты (ГАМК) нервными окончаниями с усилением связывания ГАМК с постсинаптическими ГАМК-рецепторами. При этом происходит блокировка передачи нервных импульсов, вызывающая паралич нематод.

- у членистоногих (иксодовые и чесоточные клещи, вши, насекомые) паразитов авермектин блокирует передачу нервных импульсов между нервным окончанием и клеткой мышечной ткани посредством усиления ГАМК эффекта.

Ивермектин же является химически модифицированным членом семейства авермектинов. Он состоит из пары близких гомологов, отличающихся только одной метильной группой. Ивермектин содержит не менее 80% 22, 23-дигидроавермектина В1а и не более 20% 22, 23-дигидроавермектина В1б. Компонент В1а имеет молекулярный вес 874, а компонент В1б – 860 [143, 148].

2. Биотехнологические процессы получения авермектинов и готовых лекарственных средств на их основе.

Для биосинтеза авермектинов в настоящее время используются высокопродуктивные штаммы *Streptomyces avermitilis*, которые были получены из диких культур путем воздействия мутагенных факторов и селекции.

Первое описание культуры *Streptomyces avermitilis* MA 4680 (NRRL 8165) как продуцента авермектинов появилось в 1979 г. С тех пор в разных коллекциях микроорганизмов зарегистрировано несколько новых штаммов. Во Всероссийской коллекции микроорганизмов имеется типовой штамм *Streptomyces avermitilis* под номером ВКМ Ас 1301 [61].

В результате изучения морфологической изменчивости популяции *S. avermitilis* ВКМ Ас 1301 на 18 агаровых средах обнаружено, что в наибольшей степени она выражена на 2 %-ном глюкозо-картофельном агаре (ГКА). В популяции выявлено 9 разновидностей колоний, различающихся цветом воздушного и субстратного мицелия [61].

В результате многоступенчатого отбора получены моноизоляты, обладающие более высокой продуктивностью. Типичная хроматограмма одного из отобранных моноизолятов (рис. 1) показывает, что штамм продуцирует все четыре основных компонента A_1 , A_2 , B_1 и B_2 , но в разном количестве [62, 63].

В самом авермектиновом комплексе преобладают компоненты A_1 и A_2 , обладающие меньшим противопаразитарным эффектом, чем компоненты B_1 и B_2 . Штамм продуцирует значительное количество высокотоксичного олигомицинподобного компонента. Все перечисленные причины делают штамм *S. avermitilis* ВКМ Ас 1301 технологически малоприспособленным для организации производства препаратов на основе авермектинов.

В НПО «Биотехнология», МГП «Бифидум» путем отбора из штамма 1301 был получен естественный мутант, имеющий лабораторное название *S. avermitilis* - 198. Штамм депонирован во Всероссийском институте сельскохозяйственной микробиологии под номером *S. avermitilis* - 50.

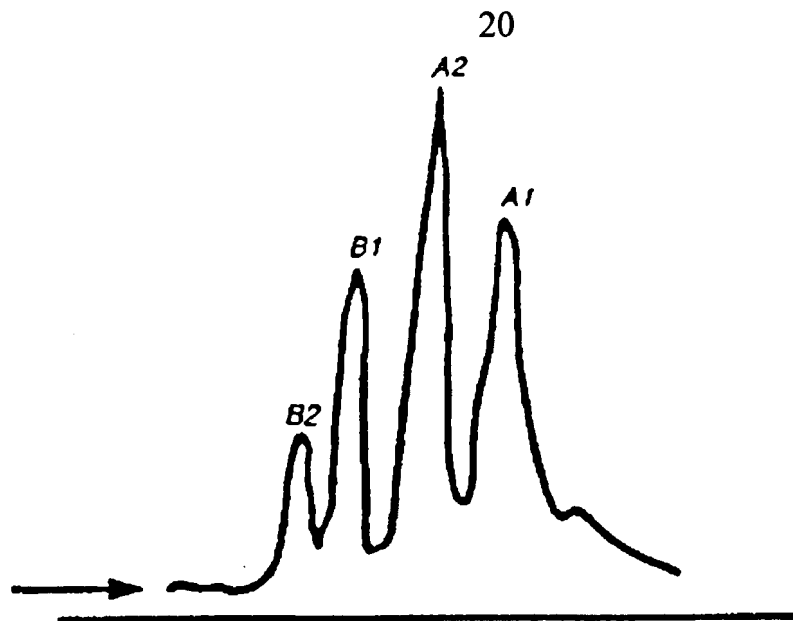


Рис. 1. Хроматограмма спиртового экстракта одного из моноизолятов *S. avermitilis* ВКМ Ас 1301: А₁, А₂, В₁, В₂ – авермектины.

Полученный штамм отличается от исходной культуры значительно меньшей морфологической гетерогенностью и при посеве на 2 %-ный ГКА дает популяцию, состоящую на 95 % из основного варианта, который образует обильно спорулирующие плотной консистенции выпуклые колонии серовато-коричневого цвета. На отдельных колониях к 10-му дню развития образуются белые бархатистые включения размером до 1 мм в диаметре. К 21-му дню развития колонии достигают в диаметре 7 - 9 мм. В процессе развития колонии меняют окраску с белого через серый и темно-серый до серовато-коричневого. Обратная сторона колонии темно-каштановая. В агар выделяется темно-каштановый пигмент.

Проверка авермектинообразующей способности полученного штамма показала, что его продуктивность почти вдвое превышает продуктивность коллекционного штамма и сохраняется после пятикратного пассирования.

Наиболее существенным отличием штамма 198 является повышение процентного содержания в авермектиновом комплексе авермектина В₁ до 31,3 %.

Содержание олигомицинподобного компонента в культуральной жидкости (КЖ) *S. avermitilis* - 50 снизилось почти в три раза по сравнению с содержа-

нием в исходной культуре.

В результате совместных исследований сотрудников Института атомной энергии им. И. В. Курчатова и МГП «Бифидум» разработан метод тормозного коротко-импульсного облучения культуры *S. avermitilis* - 50 и последующего отбора активных (по признаку авермектинообразования) вариантов (О. А. Зиновьев, В. А. Дриняев, М. Н. Мирзаев и др., 1997). С помощью этого метода получены два штамма, продуктивность которых выше продуктивности *S. avermitilis* - 50 в 2,58 (вариант 97) и 2,63 (вариант 58) раза.

Полученные штаммы зарегистрированы во Всероссийском институте сельскохозяйственной микробиологии как *S. avermitilis* - 51 (вариант 58) и *S. avermitilis* - 52 (вариант 97).

Рассмотренные штаммы синтезируют полный набор авермектинов, характерный для типовой культуры. Однако преимущественным синтезом всей группы авермектинов В (B_1+B_2) отличается только шт. *S. avermitilis* - 51, шт. *S. avermitilis* - 52 синтезирует авермектины А и В практически в равном количестве.

Принципиальная схема стадий культивирования микроорганизма *Streptomyces avermitilis*, отделения биомассы от КЖ и экстракции авермектинов приведена на рис. 2 [119].

При культивировании *Streptomyces avermitilis* используют ГКА (для хранения и посева) и глюкозо-картофельную среду (ГКС) (для глубинного культивирования).

Уровень pH = 7,2 - 7,4, температура 27 – 28 °С.

На стадии выращивания вегетативной формы микроорганизма в инокуляторах осуществляется контроль и регулирование температуры, pH, eH, парциального давления растворенного кислорода, скорости вращения мешалки, расхода воздуха на аэрацию и интенсивности пенообразования. Количество питательной среды в биореакторе не должно превышать 70% от общего объема. Инокулят вносят в количестве 3-5% от объема среды.

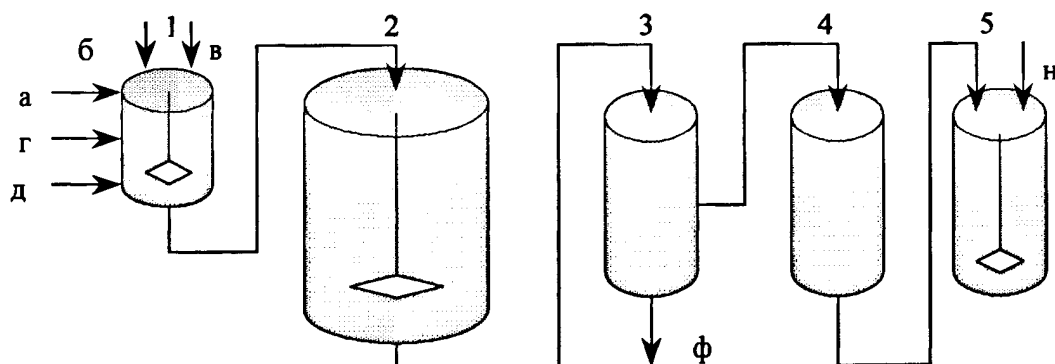


Рис. 2. Принципиальная схема получения авермектинов.

а – холодная вода,
 б – стерильный воздух,
 в – инокулят,
 г – пар,
 д – вода обратная,
 ф – фильтрат КЖ,
 н – спирт.

1 – посевной аппарат (инокулятор-
 ный реактор),
 2 – рабочий аппарат (биореактор),
 3 – фильтр,
 4 – сушилка,
 5 – экстрактор

В аппаратах для культивирования осуществляется также контроль концентрации питательных веществ в культуральной жидкости, содержания O_2 и общей биомассы микроорганизмов в культуральной жидкости. Процесс глубинного культивирования в биореакторах предусматривает применение соответствующих методов и оборудования для поддержания гомогенности (однородности), что способствует увеличению поверхности контакта системы газ-жидкость, лучшему переходу кислорода из воздуха в культуральную жидкость, а также транспорту растворенного кислорода к поверхности микроорганизмов. Данные условия достигаются механическим перемешиванием и барботажем [120].

Стандартная технологическая обвязка биореактора обеспечивает следующие операции:

- очистка и стерилизация технологического воздуха;
- обезвреживание отработанных газов;
- загрузку инокулята и добавку питательных веществ;
- отбор проб и выгрузку биомассы;
- подачу титрантов.

Стерильность воздуха, поступающего на аэрацию питательной среды, обеспечивает система сжатия и очистки технологического воздуха.

В завершении процесса выращивания биомассы *Streptomyces avermitilis* культуральную жидкость отфильтровывают, а биомассу досушивают механическим отжимом.

Следующей стадией биотехнологического процесса получения авермектинов является выделение и очистка целевого продукта. Технологическая схема очистки авермектинов приведена на рис. 3 [119].

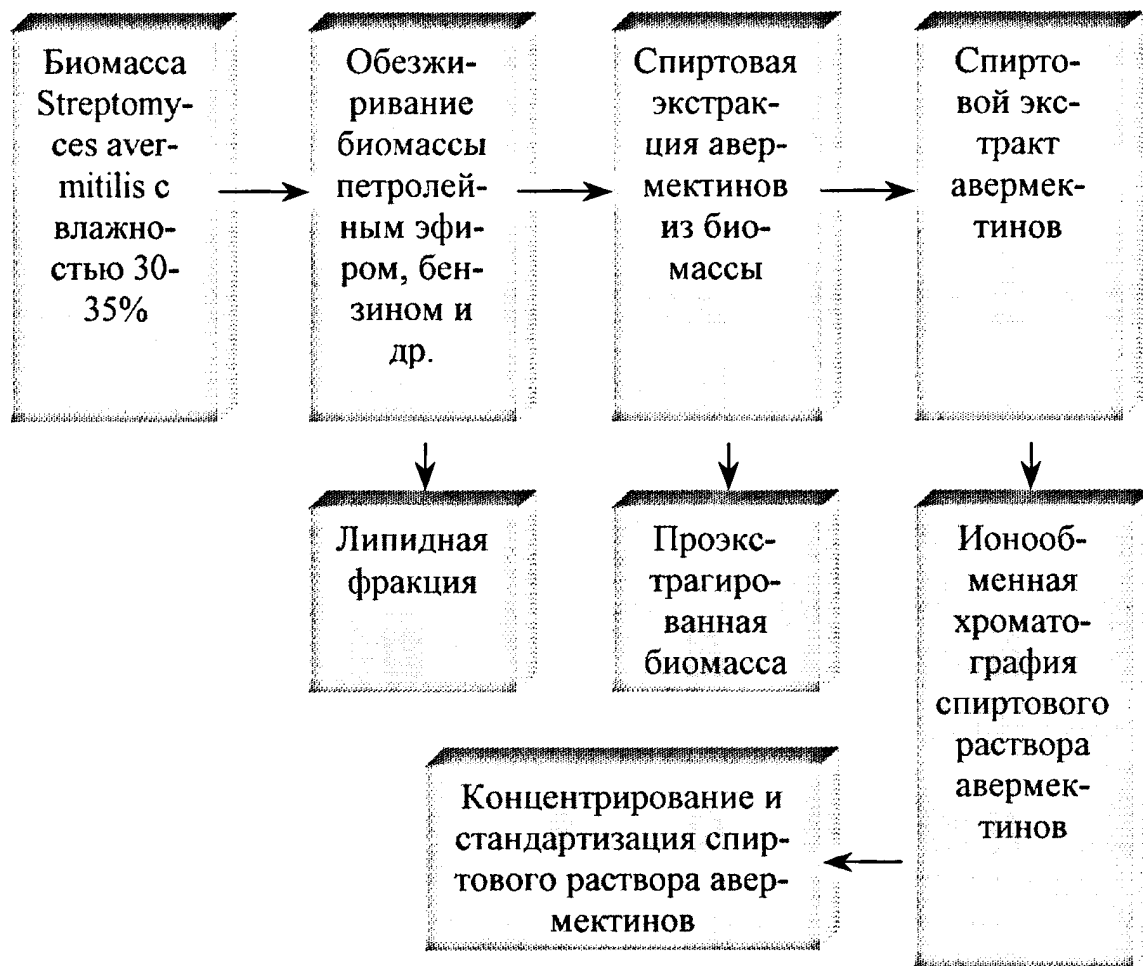


Рис. 3. Технологическая карта химической очистки авермектинов.

После подсушивания и измельчения биомассы осуществляется экстракция авермектинов с помощью избирательных растворителей-экстрагентов. Для этих целей используются этиловый или изопропиловый спирты.

Обезвоживание экстракта производится путем концентрации (выпаривании в вакуум-выпарном аппарате) и перераспределении его в хлороформе. Таким образом, происходит расслаивание раствора, и водная фаза экстракта отделяется. В дальнейшем хлороформ выпаривается, и экстракт снова растворяется в спирте.

Дальнейшая очистка авермектинов от сопутствующих компонентов осуществляется методом ионообменной хроматографии (рис. 4)

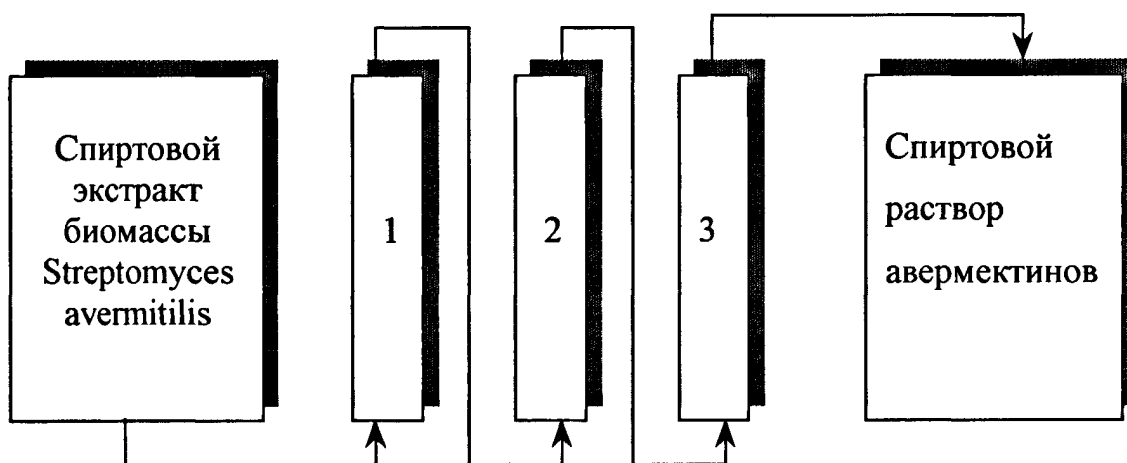


Рис. 4. Технологическая схема ионообменной хроматографии спиртового раствора авермектинов.

- 1 – колонна с фильтрующим материалом (стекловата и т.п.)
- 2 – колонна с анионитом в (ОН⁻)-форме (амберлит, дауэкс и т.п.)
- 3 – колонна с катионитом в (Н⁺)-форме (дауэкс и т.п.)

Таким образом, представленная информация показывает, что на основе общедоступных и известных в биотехнологии методов удается получать авермектины с достаточно высокой (до 98%) степенью очистки от посторонних примесей.

3. Авермектинсодержащие препараты и их противопаразитарная активность.

Антипаразитарная активность препаратов на основе авермектинов достаточно высокая и отличается широким спектром действия. В связи с этим постоянно растет число авермектинсодержащих препаратов, изготавливаемых в различных промышленно развитых странах. При этом в последнее время установилось два основных направления, базирующихся на получении препаратов на основе ивермектина и авермектинов.

3.1 Препараты на основе ивермектина.

Ивомек инъекционный. Этот препарат изучен многими исследователями на достаточно большом поголовье животных, в разных климатических зонах и при разных паразитозах.

В отечественной литературе имеется много сообщений о высокой эффективности ивомека инъекционного при гельминтозах овец [58, 131, 2, 40, 86, 5].

Испытания, проведенные на свиноматках, показали высокую эффективность баймека и ивомека при эзофагостомозе, аскаридозе и гематопинозе (ЭЭ - 100%) по сравнению с эффективностью нилверма при аскаридозе - 100, эзофагостомозе - 70, пиперазина - соответственно 100 и 40% [121, 122].

Экономический эффект обусловлен тем, что у животных, леченных баймеком и ивомеком, прирост массы тела выше, чем у обработанных нилвермом и контрольных.

И. А. Архипов (1987, 1988, 1989) показал, что ивомек обладает 90-100%-ной эффективностью против микроонхоцерк. Однако он был неактивным против взрослых онхоцерк. Ивомек проявил пролонгированное действие против личинок онхоцерк в течение 181 дня.

О высокой эффективности ивомека инъекционного при легочных (диктиокаулез, варестронгилез) и мышечных (элафостронгилез) нематодозах оленей

имеются публикации М. Corrigan (1985) (Англия), L. Sugar, P. Sarkozy (1988) (Германия), а против личинок подкожного овода - С. Д. Павлова, А. М. Окунева (1990), В. А. Апалькина, Н. М. Корешкова (1991) и других исследователей.

В Волгоградской области в опытах на 500 телятах массой по 150 кг получен 100%-ный эффект при применении ивомека против диктиокаул. Препарат применяли однократно в дозе 1 мл на 50 кг живой массы (П. А. Лемехов, 1987). Аналогичные результаты были получены в Казахстане (К. М. Ерболатов, 1988), в Кемеровской области (Ф. А. Волков, В. С. Козяков, 1992).

И. А. Архипов (1992) констатирует, что применение ивомека телятам в дозе 0,2 мг/кг перед выгоном на пастбище профилактирует заражение животных телязиями в течение всего пастбищного сезона, и позволяет за 6 мес. дополнительно получить 16,6 кг на одну голову прироста массы. При смешанной инвазии эффективность ивомека против диктиокаул составила 98,3%, остертагий - 96,2%, нематодир - 98,5% и 100% против микрофилярий онхоцерков. Автор пришел к выводу, что в условиях Брянской области ивомек целесообразно применять против телязий и онхоцерк однократно перед выгоном на пастбище, а против диктиокаул и стронгилят пищеварительного тракта 2-3-кратно в пастбищный период [16].

Р. Т. Сафиуллин в серии работ применял ивомек в разных дозах при аскаридозе, эзофагостомозе, трихоцефалезе и смешанной инвазии. Так, в Ивановской области на 260 поросятах он провел 2 опыта. В первом был введен ивомек в дозе 1 мл на 50 кг массы тела, подкожно, однократно. Эффективность препарата была при аскаридозе 100%, при эзофагостомозе - 86-100% и при трихоцефалезе - 70-100%. За 2 месяца с начала опыта поросята 2-3-месячного возраста выросли на 13,94 кг (контрольные на 11,4 кг), а 6-7-месячного возраста - на 24,87 кг (контрольные на 19,82 кг). Во втором опыте ивомек применяли в дозах - 1 мл на 50 кг однократно, 1 мл на 50 кг двукратно с интервалом 24 часа и 2 мл на 50 кг однократно. В первом случае эффективность против трихоцефал равнялась 57,1%, а против аскарид и эзофагостом - 100%. Во втором и третьем вариантах погибали все нематоды пищеварительного тракта. За два месяца поро-

сята подопытной группы выросли на 23,2 кг, а контрольные - на 14,8 кг. Замечено, что на протяжении 60 дней после применения ивомека, яиц гельминтов у поросят не было [121, 122].

При телязиозе крупного рогатого скота в Читинской области ивомек применяли подкожно однократно в дозе 0,2 мг/кг. Он показал эффективность равную 96,7% (Б. П. Дашанимаев, 1993). Против телязий и стронгилят пищеварительного тракта была получена 90-100%-ная эффективность ивомека [95, 67].

При обработке ивомеком зараженность животных гельминтами снизилась до 10%, дополнительный прирост массы тела за 3 месяца составил 15,6 кг, по сравнению с контрольными. Отмечается также, что ивомек в 2-6 раз снижал пораженность животных псороптозом и гематопидозом (С. Д. Дурдусов, 1994).

Ивомек пурон применяли при смешанных паразитозах телят [44]. Отмечена его 100%-ная эффективность при нематодозах, гиподерматозе и псороптозе. Препарат наносили на кожу спины в дозе 1мл на 10 кг живой массы животного. При производственном испытании И. А. Архиповым (1992) установлено, что ивомек пурон в дозе 0,5 мг/кг обладает 99,4%-ной эффективностью при диктиокаулезе, 100%-ной - при стронгилятозах пищеварительного тракта. Препарат, примененный в начале пастбищного сезона, полностью предотвратил проявление клинического телязиоза. Эффективность против микроонхоцерк была 99,7%. Во всех опытах не замечено никакого отрицательного влияния на организм животных. За 4 мес. в подопытной группе каждый теленок дал дополнительный прирост 10,6 кг по сравнению с контрольным.

В последнее время на основе ивермектина получают и другие препараты – баймек (фирма Байер), цевамек (Сева, Франция), иверген (Испания), пандекс (Болгария), ивертин (ВИК, Россия) и другие. Однако все эти препараты принципиально не отличаются от ивомека ни составом, ни эффективностью и в связи с этим не представляют для нас научного интереса.

3.2 Препараты на основе авермектинов.

Дуотин в России впервые применяли И.А.Архипов с соавторами (1995). Они вводили препарат крупному рогатому скоту при эндо- и эктопаразитах. Интенсэфективность (ИЭ) против диктиокаул составила 99,7%, против стронгилят пищеварительного тракта - 98,8%, против онхоцерк - 100%. Дуотин в этом опыте был эффективен при псороптозе и сифункулятозах [15].

ЛД₅₀ абамектина для мышей и крыс при пероральном введении составляет 13,6-23,8 и 10,6-11,3 мг/кг, соответственно. Он не обладает тератогенным и эмбриотоксическим действием (K. S. Khera, 1984).

Дуотин (абамектин, авермектин В1) в экспериментах зарубежных авторов [153, 169, 175] оказался высокоэффективным препаратом против нематод пищеварительного тракта (гемонхов, остертагий, трихостронгил, кооперий, хабертий, эзомагостом) и дыхательных путей (диктиокаул) у крупного рогатого скота.

Первым отечественным авермектинсодержащим препаратом является Аверсект-1, полученный в МГП «Бифидум» НПО Биотехнология. Препарат прошел широкие производственные испытания, показал высокую противопаразитарную активность и был защищен патентом РФ. На основе дальнейшего развития научно-технических данных, полученных в процессе разработки препарата Аверсект-1, были созданы другие отечественные препараты Аверсект-2, Ниацид, Рустомектин, Авертин, содержащие в качестве действующего вещества (ДВ) натуральные авермектины.

Аверсект-2. Акарицидная активность аверсекта-2 *in vitro* по отношению к клещам рода *Psoroptes* в 1,6 раза выше, чем у ивомека [55]. При псороптозе животных аверсект-2 оказался эффективным при двукратной инъекции через 8 дней в дозе 0,5-14 мл на 50 кг живой массы.

Показана высокая эффективность аверсекта-2 против стронгилят, диктиокаул, нематодир, а также против кровососок [87].

Ниацид (нематоинсектоакарицид). Препарат получают на основе спирто-

вого экстракта биомассы микроорганизма *Streptomyces avermitilis*-56 - продуцента авермектинов. Ряд последовательных химических обработок экстракта и внесение в него специальных компонентов позволили получить экологически чистый антипаразитарный препарат, не уступающий по эффективности известным аналогам. Широкие лабораторные и производственные испытания препарата показали его высокие профилактические и лечебные свойства [98, 99].

Среднесмертельная доза ЛД₅₀ ниацида составляет 12000 мг/кг массы животного, а авермектины, попадая в окружающую среду, быстро разрушаются, что свидетельствует об экологической безопасности препарата.

4. Влияние препаратов авермектинового ряда на иммунобиологический статус животных.

Наукой и практикой накоплен большой опыт по применению в животноводстве различных антигельминтных и противопаразитарных средств. Они относятся к различным классам соединений и, как правило, обладают эффективностью против узкого круга паразитов, что вынуждает владельцев животных применять для лечения и профилактики десятки препаратов, далеко не безупречных в экологическом отношении и токсичных для организма животного.

Так, в сельском хозяйстве из большого разнообразия инсектоакарицидов до сих пор часто применяют органические соединения фосфора (ФОС) и хлора (ХОС), галлоидопроизводные углеводов, эфиры карбаминовой кислоты и др. химические пестициды.

Эти препараты высокоэффективны в борьбе с паразитическими насекомыми, клещами и некоторыми гельминтами, причем концентрация веществ при обработке животных довольно незначительная (0,03 - 2%), что характеризует большую физиологическую активность по отношению к членистоногим и высокую опасность пестицидов для теплокровных животных и человека.

Как известно, при противопаразитарных обработках животных часто воз-

никают токсические явления, такие как угнетение, конвульсии, болезненность, замедление сердечного ритма, затруднение дыхания, обильное слюнотечение и др. Биохимические тесты показывают, что наблюдается резкое изменение содержания общего белка, увеличение количества эритроцитов, гемоглобина, изменение скорости оседания эритроцитов [100].

Инсектицидный диапазон пестицидов довольно широкий: они токсичны для беспозвоночных наземных, водных и почвообитающих экологических групп, вызывают массовую гибель пчел, являющихся не только продуцентами меда, но и важнейшими опылителями энтомофильных растений.

Если учесть все разнообразие применяемых теперь пестицидов, то нетрудно представить себе, насколько важной становится проблема ограждения природных экосистем от неблагоприятных факторов воздействия этих высокотоксичных препаратов.

В связи с этим актуальной задачей ветеринарной медицины и биотехнологии является создание и применение эффективных и безопасных лечебных средств широкого спектра антипаразитарного действия, в частности препаратов на основе авермектинов [12, 14].

Механизмы действия авермектинов подчеркивают широкий спектр влияния препаратов этой группы на эндо- и эктопаразитов и отсутствие действия на организм животного, так как данные соединения не проникают через гематоэнцефалический барьер.

Всасывание, выделение, распространение и метаболизм ивермектина изучены на продуктивных животных (крупный рогатый скот, овцы и свиньи) и лабораторных видах (крысы). Лекарство быстро абсорбируется посредством подкожного, интродуминального и орального введения лекарства, выделение с фекалиями является основным путем выделения препарата у всех исследованных животных. Всего 2 % введенной дозы выделяется с мочой. Самые высокие концентрации тканевых остатков зафиксированы в жировой и печеночной ткани, а самые низкие показатели обнаружены в мозге. Метаболизм радиомеченного ивермектина в печени и жире КРС, овец и крыс схож. Некоторые различия вы-

явлены у свиней. Исходное соединение (ивермектин) является главным остатком в печени у всех 4-х видов после его введения [149, 150, 142, 159].

В работе [140] при исследовании биохимических и гематологических показателей у коров через 1-7 дней после введения ивермектина (200 мкг/кг) не обнаружено никаких изменений.

У телят, которым давался ивермектин в дозе 8,0 мг/кг развивалась атаксия, они теряли подвижность в течение 24 часов после инъекции, развивалась острая сердечная недостаточность, отмечалась одышка, тремор конечностей. Один теленок умер через 3 дня после введения ивермектина, два - были умерщвлены, а четвертый выздоровел [157]. Наблюдала также изменения в содержании глюкозы в крови, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы и др. [155, 154, 161].

Острый токсический синдром на введение ивомека был менее выражен у овец. При введении 8,0 мг/кг ивермектина, наблюдали атаксию в течение 3-х часов; овцы пошатывались, теряли координацию и падали. После 24-х часов было отмечено улучшение общего физиологического состояния, а через 3 дня после введения ивермектина все клинические признаки вернулись в норму [158].

Проведены полевые эксперименты с введением ивермектина более чем 12500 овцам, при этом во многих случаях проводились сопутствующие вакцинации. Единственной реакцией был кашель, непосредственно после приема лекарства. Данные биохимических и гематологических исследований, которые проводились до и после приема ивермектинов статистически достоверных изменений не показали [151].

В. Ю. Сухина (1989) изучила влияние ивомека на органы и ткани овец. При введении ивомека в дозе 2 мл на 25-30 кг массы тела происходил токсический некроз тканей кишечника, печени и почек. Наблюдались дистрофия печени, нарушения кровообращения в печени, дистрофические изменения в клетках, изменения объема ядер гепатоцитов и эпителия слизистой кишечника, их деформация.

Признаки острой токсичности ивермектина для свиней исследовали, когда группам свиней задавали в 1, 10, 50, 100 раз больше терапевтической дозы (300 мкг/кг) ивермектина. При дозе 30 мг/кг у свиней проявилась вялость и атаксия в течение 24-х часов после приема. Прерывистое подрагивание, затрудненное дыхание, потеря координации - все это происходило при передозировке препарата.

Биохимические и гематологические изменения отражали депрессивное физиологическое состояние животных, которые затем потеряли двигательную активность, снизили потребление пищи и воды. При этом изменялась активность щелочной фосфатазы, содержание холестерина, триглицеридов, глюкозы, фосфора, калия, креатинина, общего билирубина и азота мочевины. Лейкоцитоз и нейтрофилия наблюдались у некоторых свиней, которым давали ивермектин в дозе 30 мг/кг. Значения железа сыворотки крови уменьшились на 8-14 день после приема ивермектина; эта кратковременная реакция также ассоциировалась с острым токсическим синдромом у лошадей и КРС [144, 145].

Проведены также эксперименты в полевых условиях на различных породах свиней, разных возрастов, включая свиноматок, кабанов и поросят. Свиньям давали препарат в дозе 300 – 600 мкг/кг. Эксперименты были проведены в различных условиях содержания и кормления; во многих случаях применяли сопутствующее лечение. Во время 2-х недельного периода наблюдения не обнаружено никаких негативных эффектов ни у одного животного [141].

Биологически значимые изменения в гематологических и биохимических показателях сыворотки крови не наблюдались у лошадей, которым давали ивермектин. В одном из экспериментов Herd и Kosiba [156] наблюдали небольшие, хотя статистически достоверные, изменения по 8-ми биохимическим параметрам, но эти данные не подтвердились при повторном исследовании. Asquith и Kulwich [133, 134, 132] также не обнаружили биохимических и гистологических изменений в крови в результате приема ивермектина. Раствор ивермектина задавали трехкратно в дозе 0,6 и 1,0 мкг/кг перорально, с интервалом 2 недели. У животных, которым задавали ивермектин в дозе 0,6 мкг/кг наблюда-

ли кратковременную хромоту передних конечностей, однако этот факт не связали с приемом лекарства, так как подобной хромоты не наблюдали после первого и второго приема ивермектина в этой дозе. Не наблюдали хромоты или других признаков токсикоза, когда раствор ивермектина вводили в дозе 1,0 мкг/кг [166].

Аналогичные полевые эксперименты с 434 лошадьми в возрасте от 6 недель до 25 лет были проведены на ранчо, фермах, конюшнях, чтобы проверить безопасность состава в пасте для орального применения. За исключением одной лошади, у которой проявилась скоротечная брюшная подкожная эдема, которую связывали с микрофилярией *Onchocerca* sp., никаких негативных изменений не было замечено. Также были проведены выборочные биохимические анализы крови. Статистически достоверных изменений не было отмечено [166].

В рекомендуемых дозировках ивомек не вызывает интоксикацию обрабатываемых животных (крупного рогатого скота, лошадей, овец, свиней, собак и т.д.) [118].

И. М. Гаджиев (1985) на белых мышах установил, что ивермектин относится к малотоксичным соединениям, а ЛД₅₀ почти в 400 раз превышает терапевтическую дозу [51].

Наибольший интерес представляет собой воздействие авермектинов на иммунобиологический статус организма, так как это напрямую связано с устойчивостью животных к заболеваниям как заразной, так и незаразной этиологии. Данные, приведенные разными исследователями, подчеркивают неопределенность сведений по влиянию препаратов на организм. Так, у животных, обработанных ивомеком, через 6 нед. сохраняются достоверная стимуляция синтеза гемоглобина, высокое гематокритное число, лейкоцитоз и моноцитоз; цидектином - лейкоцитоз, лимфоцитоз и эозинопения; аверсектом - только более высокий уровень гемоглобина [126, 6].

О. И. Мамыкова (1991) изучала действие ивермектина на уровень первичного иммунного ответа к эритроцитам барана у мышей. Она установила, что ивомек в терапевтической дозе ингибирует иммунную реакцию на тимусзавис-

мый антиген, а также проявляет иммуносупрессивную активность.

У животных обработанных ивомеком, спустя 6 нед. после введения сохраняется достоверная стимуляция гемоглобина, повышенное гематокритное число, лейкоцитоз и моноцитоз; аверсектом – только более высокий уровень гемоглобина.

Наиболее существенное (ингибирующее) влияние авермектинсодержащие препараты оказывают на функциональные свойства иммунокомпетентных клеток, в частности, ФГА-стимулированную пролиферацию (Т-система) и фагоцитоз. Это можно расценивать как проявление иммуноактивных (иммунотоксических) свойств этих препаратов [126].

В эксперименте на овцах установлено, что ивомек в течение 5-7 дней вызывает угнетение Т- и В- систем иммунитета. По этой причине, как утверждают исследователи, сразу после дегельминтизации происходит сильная реинвазия [86].

Аналогичные исследования проводили Г. С. Сивков и В. В. Яковлева (1998). В результате экспериментов выявлено, что антипаразитарные препараты на основе ивермектина снижают относительное и абсолютное содержание Т- и В-лимфоцитов, рост внутриклеточной миелопероксидазы нейтрофилов, циркулирующих иммунных комплексов на фоне умеренного лейкоцитоза и лимфоцитоза. Это можно расценивать как проявление иммунотоксических свойств этих препаратов [124].

Вместе с тем пролиферативная реакция со стороны селезенки (увеличение массы органа, числа ядросодержащих клеток), отсутствие существенного влияния препаратов на гуморальный и иммунный ответ, модуляция клеточного иммунного ответа позволяет связать действие ивермектинсодержащих препаратов не с иммунотоксическими свойствами, а с возможной индукцией супрессоров [126].

В связи с тем, что ингибирующее действие ивомека и других аналогов на иммунокомпетентную систему сохраняется до 6 нед., планом противоэпизоотических мероприятий должен предусматриваться 1,5-2 мес. интервал между их

применением и диагностическими исследованиями, тем более плановыми вакцинациями.

Поэтому особой заботой научных лабораторий по изучению и исследованию препаратов является изыскание новых, менее токсичных и более безвредных форм противопаразитарных средств из группы авермектинов.

Таким образом, представленная информация показывает, что микроорганизмы рода *Streptomyces* представляют собой весьма интересную и перспективную в биотехнологическом аспекте группу микроорганизмов.

Широкий круг веществ, синтезируемых стрептомицетами, представляет большой интерес для медицины, ветеринарии, растениеводства и других отраслей народного хозяйства.

Особого внимания заслуживают открытые в последнее время метаболиты *Streptomyces avermitilis* – авермектины. Обладая широким спектром антипаразитарной активности, эти вещества стали основой препаратов, применяемых для борьбы с экто- и эндопаразитами животных. Препараты, содержащие в качестве действующего вещества натуральные и химически модифицированные авермектины, выпускаются многими фирмами, изучается их эффективность, действие на иммунобиологический статус организма животных. Однако как отмечалось выше, опубликованная информация, даже о давно известных авермектинсодержащих препаратах, не полностью освещает ряд вопросов. Неоднозначны данные о влиянии этих препаратов на гуморальный и клеточный иммунитет, гематологические показатели животных. До конца не изучены также вопросы, связанные с применением и действием авермектинсодержащего препарата иакид на организм животных, т.е. влияние на иммунобиологический статус организма, оптимизация доз и технологии применения препарата и др.

II. Собственные исследования.

1. Материалы и методы исследований.

Работа выполнялась в 1999 – 2002 гг в научно-исследовательской лаборатории инфекционной патологии и биотехнологии МГАВМиБ им. К. И. Скрябина. Оценка эффективности и воздействия на иммунобиологический статус организма животных препарата ниацид проводилась на свиньях различных половозрастных групп в хозяйствах Омской обл., Республики Беларусь, ЗАО Агрофирма «Белая дача». В исследованиях были использованы также лабораторные животные - белые мыши, кролики, морские свинки.

Для определения эффективности различных доз ниацита при лечении и профилактике гельминтозов свиней, оценки влияния препарата на гематологические, биохимические и иммунобиологические показатели организма животных, а также для изучения биосинтеза, выделения и использования биологически активных веществ, синтезируемых микроорганизмом *Streptomyces avermitilis*, в работе использованы следующие методы исследований:

- клинические, гельминтологические;
- иммунологические;
- биохимические;
- микробиологические и биотехнологические;
- биофизические и др.

Клинический осмотр животных проводили ежедневно, эпизоотологическую ситуацию оценивали по данным ветеринарных отчетов и актов, имеющих в хозяйствах и на основе личных наблюдений.

При определении эффективности препарата ниацид против гельминтозов свиней проводились исследования проб кала на наличие яиц гельминтов методом флотации в насыщенном растворе поваренной соли. На основании результатов устанавливали зараженность свиней различными видами кишечных пара-

зитов до и после лечение [89, 90].

Метод основан на принципе флотации яиц гельминтов в поверхностный слой взвеси при обработке пробы растворами солей или других веществ, плотность которых выше чем плотность (удельный вес) яиц. В результате флотации поверхностный слой взвеси обогащается яйцами гельминтов. С целью обнаружения яиц гельминтов проводят микроскопию нескольких капель поверхностного слоя.

Для гематологических, иммунологических и биохимических исследований использовали гепаринизированную венозную кровь, взятую из краевой вены уха свиней, а также сыворотку крови, полученную общепринятым методом.

В гепаринизированной крови определяли содержание эритроцитов и лейкоцитов, процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов, и фагоцитарную активность нейтрофилов.

В сыворотке крови исследовали активность лизоцима, количество иммуноглобулинов G и M классов, бактерицидную активность.

Количество эритроцитов и лейкоцитов подсчитывали в камере Горяева. Процентное соотношение отдельных видов лейкоцитов выводили из 100 подсчитанных клеток в мазке крови, фиксированным метиловым спиртом и окрашенным по Романовскому-Гимзе [76].

Уровень фагоцитоза определяли модифицированным методом Лейрира с использованием взвеси суточной культуры *E. coli* шт. O111. Экспозиция смеси крови (0,5 мл) и взвеси культуры 500 млн/мл (0,5 мл) в термостате (37°C) составляла 30 мин. По результатам микроскопирования мазков крови, приготовленных после экспозиции в термостате, фагоцитарную активность нейтрофилов выражали следующими показателями: процент фагоцитоза – отношением числа фагоцитов, захвативших тест-микробы к общему числу подсчитанных; фагоцитарным индексом – средним количеством бактерий, захваченных одним нейтрофилом; процентом переваривания – отношением числа переваривающихся микробов к числу всех фагоцитированных.

Для определения концентрации лизоцима в сыворотке крови предвари-

тельно готовили смесь 1%-ного раствора агара «Дифко» и ацетонового порошка *Micrococcus lysodecticus* в соотношении – 20 мг порошка на 10 мл агара, который разливали на органическом стекле, где толщина слоя составляла 4 мм. После застывания агара в нем вырезали луночки диаметром 5 мм, куда вносили 5-кратное разведение исследуемой сыворотки в объеме 0,05 мл. Параллельно в лунки вносили растворы стандартного кристаллического лизоцима в концентрации от 0,5 до 100 мкг/мл.

После 48-часовой инкубации во влажной камере при температуре 22-24°C измеряли зоны лизиса вокруг лунок, вызванные сывороткой и различными концентрациями стандартного лизоцима. Сопоставляя полученные данные, определяли концентрацию лизоцима, которую умножали на степень разведения и выражали в мкг/мл.

Количественное определение иммуноглобулинов G и M классов в сыворотке крови свиней проводили в реакции простой радиальной иммунодиффузии по методу Манчини. Сущность реакции состоит в том, что иммуноглобулины радиально диффундируют в агар, содержащий моноспецифическую антисыворотку, образуя кольцо преципитации, диаметр которого прямо пропорционален концентрации иммуноглобулинов.

Предварительно приготовленную смесь из равных частей 3%-ного раствора агара «Дифко» и иммунной сыворотки разливали на стекле для получения ровной горизонтальной пластинки. После застывания геля в нем вырезали лунки диаметром 2 мм на расстоянии 1,5 см друг от друга, куда вносили исследуемую сыворотку в разведении: для определения концентрации иммуноглобулина G – 20 раз, иммуноглобулина M – 5 раз. Параллельно с опытными пробами на каждом стекле в лунки разливали стандартный препарат определенного иммуноглобулина в различной концентрации от 0,1 до 5,0 мг белка. Стекла с заполненными лунками помещали в эксикатор с водой и выдерживали при температуре 22-24°C в течение 24 часов – при определении Ig G, и 48 ч при определении Ig M. После экспозиции замеряли зоны преципитации вокруг лунок, вызванные сывороткой и стандартными препаратами. Сравнивая полученные

результаты с калибровочной кривой, построенной по данным стандартных препаратов, определяли концентрацию иммуноглобулинов, которые умножали на степень разведения и выражали в мг/мл.

Для определения бактерицидной активности сыворотки крови, в ряд откалиброванных по светопропусканию пробирок, вносили по 1,8 мл мясопептонного бульона (МПБ), куда доливали по 0,4 мл исследуемой сыворотки. Для контроля в 4 пробирках объем МПБ доводили до 2,2 мл. Во все пробирки добавляли 0,04 мл 2,5 млрд. взвеси суточной культуры *E. coli*, шт. O111. На фотоэлектроколориметре при зеленом светофильтре против дистиллированной воды определяли оптическую плотность содержимого опытных и контрольных пробирок (D_1). После чего все пробирки инкубировали в термостате в течение 2,5 ч при температуре 37°C. После инкубации повторно определяли оптическую плотность (D_2) содержимого всех пробирок.

Бактерицидную активность исследуемых проб сыворотки крови выражали в процентах, вычисляя по формуле:

$$100 - ((D_2 \text{ опыт.} - D_1 \text{ опыт.}) / (D_2 \text{ контр.} - D_1 \text{ контр.})) \times 100$$

Во избежание технических ошибок при проведении исследований, определение всех показателей сыворотки крови опытных и контрольных животных, взятых в различные сроки, проводили одновременно на одних и тех же ингредиентах и растворах. Сыворотки хранили в пластиковых пробирках и подвергали размораживанию непосредственно перед исследованиями.

Полученные результаты обрабатывали статистически и сравнивали между собой, а также с соответствующими показателями клинически здоровых животных, находящихся в адекватных условиях содержания и одного возраста с исследуемыми животными.

Определение общего белка в сыворотке крови проводили по биуретовой реакции, принцип которой заключается в том, что белки реагируют в щелочной среде с сернокислой медью с образованием соединений фиолетового цвета [29]. К 1 мл сыворотки крови прибавляют 5 мл рабочего реактива и смешивают. Через 30 мин измеряют оптическую плотность на спектрофотометре или фото-

электроколориметре в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 540 – 560 нм (зеленый светофильтр) против контроля, в котором сыворотку заменяют 0,1 мл 0,9% раствора NaCl. Расчеты результатов производят по калибровочному графику.

Определение активности аспаргатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в сыворотке крови проводилось динитрофенилгидразиновым методом (по Райтману, Френкелю) [29].

Метод основан на определении суммарной экстинкции динитрофенилгидразона пировиноградной кислоты, являющейся продуктом реакции, и α -кетоглутаровой кислоты, служащей исходным веществом при реакции переаминирования. Оптическая плотность этих двух гидразонов при определенной длине волны значительно различается. По мере увеличения содержания пировиноградной кислоты и соответствующего уменьшения содержания α -кетоглутаровой кислоты оптическая плотность смеси гидразонов возрастает. Пировиноградная кислота является непосредственным продуктом реакции при действии аланин-аминотрансферазы. Образующаяся под влиянием аспаргатаминотрансферазы щавелевоуксусная кислота переводится в пировиноградную кислоту с помощью анилин-цитрата. Последняя, соединяясь с 2,4-динитрофенилгидразином, в щелочной среде образует окрашенный в красный цвет динитрофенилгидразон пировиноградной кислоты. Фотометрирование осуществляют с помощью микрокювет и оптических приставок к фотоэлектроколориметру.

Активность аминотрансфераз выражают количеством микромолей субстрата, расщепленного 1 мл сыворотки за 1 минуту. Расчет ведут по формуле:

$$X = C \cdot 10 - \text{для аспаргатаминотрансферазы;}$$

$$X = C \cdot 2 \cdot 10 - \text{для аланинаминотрансферазы.}$$

где 10 – коэффициент для пересчета на 1 мл сыворотки; C – пировиноградная кислота, в мкг, найденная по калибровочному графику; 2 – коэффициент пересчета на 1 ч инкубации.

Определение содержания билирубина в сыворотке крови по Ендрашику,

Клеггорну и Грофу основано на том, что при добавлении к сыворотке крови кофеинового реактива билирубин переходит в растворимое диссоциированное состояние и со смесью diazo-реактивов дает розово-фиолетовое окрашивание. По интенсивности последнего фотоколориметрически (536 нм, 0,5 см кювета) определяют концентрацию билирубина.

Из показателей, полученных при колориметрировании общего и прямого билирубина, вычитают показатель контроля.

Расчет производят по калибровочному графику. Содержание общего и прямого билирубина выражается в миллиграмм-процентах. Для определения уровня непрямого билирубина из общего его содержания вычитают показатель прямого билирубина.

Содержание мочевины в сыворотке крови определяли по цветной реакции с диацетилмонооксимом. Принцип реакции состоит в том, что мочевина образует с диацетилмонооксимом в присутствии тиосемикарбазида и солей железа в кислой среде окрашенное соединение. Интенсивность окраски прямопропорционально содержанию мочевины в сыворотке крови.

Измерение проводили на фотоэлектроколориметре при длине волны 500 - 600 нм (зеленый светофильтр) против контроля в кювете с толщиной слоя 1 см.

Расчет концентрации мочевины в сыворотке крови свиней проводят по формуле:

$$X = E_{\text{оп}}/E_{\text{ст}} \times 25$$

где: X - концентрация мочевины, мг%;

E_{оп} - экстинкция опытной пробы;

E_{ст} - экстинкция стандартной пробы;

25 - концентрация мочевины в стандартном растворе, мг%.

Культивирование микроорганизма Streptomyces avermitilis-56.

Для культивирования микроорганизма *Streptomyces avermitilis-56* использовались глюкозо-картофельные среды: глюкозо-картофельный агар и жидкую

глюкозо-картофельную среду.

Приготовление ГКС. Картофельный отвар (400-500 г очищенного картофеля вываривают 40 мин., отфильтровывают) доводят до 1000 мл дистиллированной водой и добавляют в него до 3% глюкозы (≈ 30 г). В качестве источника азота используют нитрат натрия (NaNO_3) - 0,4г на 1000 мл среды. Затем среду разливают в качалочные колбы по 100-150 мл и автоклавируют при 1,2 атм, 110-120°C, 30 мин.

Для приготовления 2% ГКА к 200 мл ГКС добавляют 4 г агара, расплавляют на водяной бане и разливают по пробиркам. После автоклавирования ГКА скашивают.

При культивировании микроорганизма в глубинных условиях предварительно получают вегетативный посевной материал культуры. Микроорганизм культивируют в течение 36-48 часов глубинным способом в колбах, после чего пересевают на ГКС в количестве 3-5% от объема среды.

Для соблюдения оптимальных условий культивирования колбы помещают на качалку при 200-220 об/мин при 27-28°C на 5-7 суток. В течение этого времени осуществляется контроль за чистотой и качеством роста культуры микроскопированием, определением биомассы по сухому весу и регистрацией рН культуральной жидкости в динамике роста.

Для экстракции липидов из биомассы микроорганизма нами применялись общепринятые методы выделения липидов из биологических объектов. Так, наиболее часто для выделения липидов употребляют петролейный и диэтиловый эфиры, хлороформ, метанол, этанол, изопропанол и ацетон. Нами были выбраны такие растворители, как петролейный эфир (фракция 40-70) и изопропанол (ИПС).

Перед экстракцией высушенная биомасса измельчалась. Для экстракции липидной фракции из биомассы использовался модифицированный метод Фолча (Folch et al., 1957), имеющий в основе следующую процедуру: биомассу смешивают с 10-30 объемами растворителя (петролейного эфира или ИПС) и гомогенизируют, после гомогенизации суспензию фильтруют на вакуумном

нуч-филтре.

При получении липидной фракции из биомассы *S. avermitilis* одним из важнейших вопросов является контроль содержания авермектинов в данной фракции.

В настоящее время наиболее известным биохимическим методом определения авермектинов в различных материалах является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Этот метод обладает высокой чувствительностью и позволяет определять даже незначительные количества веществ.

Достаточно точным методом определения количественного содержания авермектинов можно считать также предложенный нами спектрофотометрический экспресс-метод (М. Н. Мирзаев, В. В. Шерстнев и др.). Показано, что оптическая плотность растворов авермектинов в изопропаноле при длине волны 243 нм коррелирует с их концентрацией в пределах 1-30 мкг/мл (рис. 5).

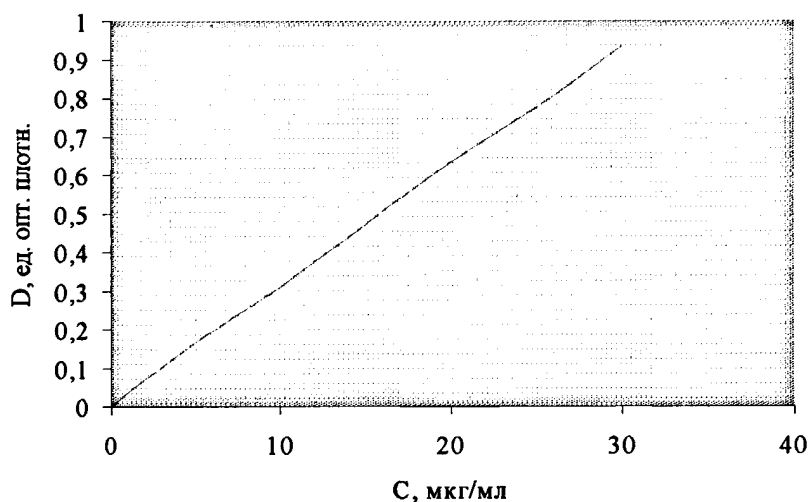


Рис. 5. Калибровочный график для спектрофотометрического определения авермектинов ($\lambda=243$ нм).

Определение антиоксидантной активности петролейно-эфирной фракции *Streptomyces avermitilis* проводилось методом регистрации хемилюминесценции (ХЛ) на установке, собранной на кафедре биофизики МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, работающей в квантометрическом режиме и предназначенной для

регистрации сверхслабых световых потоков [69, 70].

В основе данного высокочувствительного метода лежит измерение интенсивности хемилюминесценции электронно-возбужденных молекулярных продуктов рекомбинации липидных алкидперекисных радикалов в образце.

Изучение динамики хемилюминесценции проводилось на модели олеиновой кислоты при добавлении в нее петролейно-эфирной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis*-56.*

Спонтанная хемилюминесценция ($I_{хл}$) объекта регистрируется квантометрической установкой в импульс/сек*см³.

$$I_{хл} = \omega \cdot \rho_{возб} \cdot \rho_{изл} \cdot K \cdot \rho_{фк}$$

ω - скорость реакции синтеза активных соединений (перекисей);

$\rho_{возб}$ - квантовый выход возбуждения, то есть эффективность синтеза электронных возбужденных состояний (ЭВС) $\approx 10^{-3}$;

$\rho_{изл}$ - квантовый выход излучения, $\approx 10^{-4}$;

K - коэффициент попадания квантов из образца на фотокатод, $\approx 4\%$;

$\rho_{фк}$ - квантовый выход фотокатода, $\approx 10\%$.

Разделение полученной липидной фракции проводилось методом тонкослойной хроматографии на пластинках «Силуфол» [1]. В основе метода лежит адсорбционная хроматография, основанная на сорбции растворенного вещества твердой фазой - активным сорбентом. Подвижная фаза (растворитель с разделяемой смесью веществ) движется по неподвижной фазе (сорбенту), и при этом разделяемые компоненты перемещаются с различной скоростью в направлении движения растворителя. Метод ТСХ позволяет разделить сложные смеси липидов на классы: фосфолипиды, моно- ди- и триглицериды, незтерифицирован-

* - автор выражает свою благодарность зав. кафедрой биофизики М Г А В М и Б А. И. Журавлеву, доценту В. Э. Новикову и аспиранту И. В. Добреле за консультацию и * помощь при проведении этой части работы.

ные жирные кислоты (НЭЖК), холестерин свободный и этерифицированный, тем самым упрощая и повышая точность количественного определения отдельных классов липидов. Подвижная фаза: петролейный эфир – диэтиловый эфир – уксусная кислота (85:15:1).

Количественное определение классов липидов проводилось методом денситометрии, который основан на фотометрии плотности окраски отдельных классов, разделенных методом ТСХ, в отраженном свете с последующим умножением на поправочный коэффициент. Поправочные коэффициенты, найденные для данного прибора и режима исследований следующие: фосфолипиды – 5,92, холестерин свободный – 0,25, НЭЖК – 0,86, триглицериды – 0,89, холестерин этерифицированный – 0,72.

Результаты исследований обрабатывали методами вариационной статистики, определяя среднюю арифметическую (\bar{X}) и ее ошибку, а также методом сравнения средних величин различных опытных групп, ее ошибку и степень достоверности по таблице Стьюдента. Отличия считались достоверными при значениях $p < 0,05$.

2. Результаты исследований.

2.1 Культивирование продуцента авермектинов *Streptomyces avermitilis-56* при получении биологически активных веществ.

Культивирование микроорганизма *Streptomyces avermitilis-56* проводилось в глубинных условиях на ГКС.

Как видно из рис.6, кинетика роста биомассы *S. avermitilis* выражается характерной S-образной (сигмоидной) кривой. В период 0-30 часов после посева микроорганизма наблюдается лаг-фаза (индукционный период). В этот период накопления биомассы не наблюдается, но происходит перестройка клеточного метаболизма и приспособление культуры к условиям питательной среды.

В течение 30-56 часов наблюдается фаза экспоненциального роста (лог-фаза), происходит быстрое накопление биомассы, культура оптимально приспособилась к питательной среде.

Фаза линейного роста (56-72 ч) характеризуется постоянной сбалансированной скоростью роста биомассы и накоплением продуктов метаболизма микроорганизма.

Фаза линейного роста сменяется периодом замедления роста (72-90 ч), в течение которого скорость роста биомассы снижается до нуля. В конце данного этапа накопление целевого продукта (авермектинов) наиболее максимальное.

Далее рост культуры переходит в стационарную фазу, характеризующуюся уравниванием процессов прироста и гибели микроорганизмов.

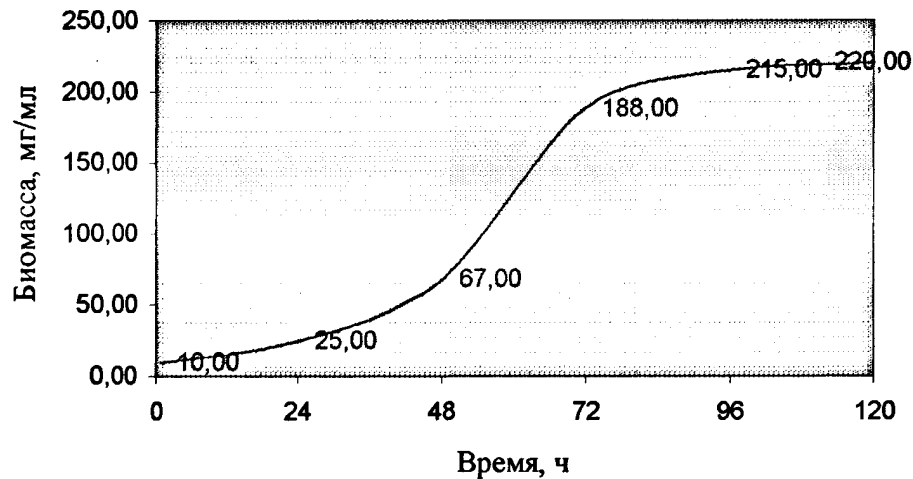


Рис. 6. Динамика роста биомассы *S. avermitilis*.

Характеристика роста микроорганизма *S. avermitilis*-56 на ГКС:

- культуральная жидкость прозрачная с темной пигментацией;
- запах прелый, специфический для продуцента авермектинов;
- биомасса представляет собой мелкие шарики, хорошо оседает.

Динамика изменения рН является характерным признаком для данной культуры. В начальной стадии роста, совпадающей с лаг-фазой, наблюдается подкисление среды (7,20 - 7,07), что свидетельствует о том, что культура проходит период перестройки и адаптации к новым параметрам окружающей среды.

С момента начала экспоненциального роста рН культуральной жидкости начинает постепенно возрастать и к окончанию процесса культивирования составляет 7,55.

Динамика изменения рН приведена на рис. 7.

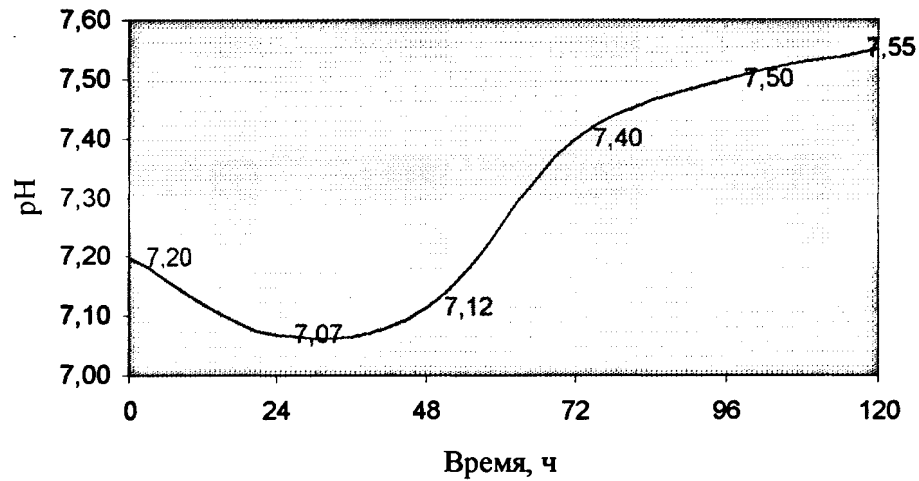


Рис. 7. Динамика изменения pH культуральной жидкости.

Биосинтез авермектинов, являющихся вторичными метаболитами *S. avermitilis*, начинается после 48 часов роста культуры и продолжается до конца ферментации (рис. 8).

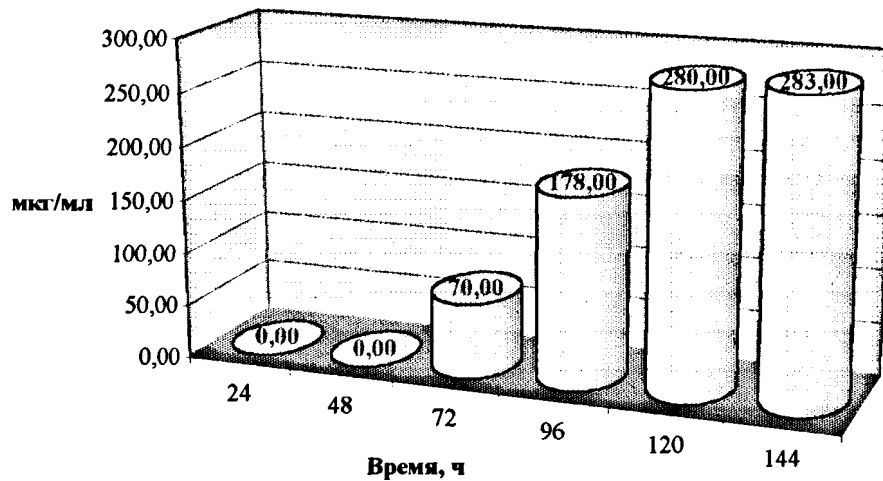


Рис. 8. Динамика биосинтеза авермектинов в процессе развития *S. avermitilis*-56.

Биотехнологическим приемом продления биосинтеза целевого продукта может быть дробная добавка компонентов среды (например, глюкозы). Для получения образцов препарата ниацид биомассу продуцента отфильтровывали, промывали подкисленной водой и экстрагировали органическими растворите-

лями (этиловый или изопропиловый спирт, петролейный эфир). Операцию выделения, очистки и получения препарата осуществляли по технологии, описанной ранее [119]. Опытные образцы препарата использовали для дальнейших исследований.

Таким образом, нами установлено, что развитие продуцента авермектинов при ферментации на глюкозо-картофельных средах и образование им биологически активных веществ происходит по классической сигмоидной кривой. Наибольшая активность и накопление метаболитов наблюдается к 70-96 часам после начала культивирования, а биосинтез авермектинов продолжается до 5-6 суток.

Из представленных материалов становится понятным также то, что задача технологов при получении целевых биологически активных продуктов заключается в продлении периода биосинтеза. Однако в процессе получения таких продуктов, как авермектины и клеточные липиды, следует иметь ввиду возможность лизиса клеток и выхода биологически активных веществ в культуральную жидкость. При этом потери целевых продуктов могут быть значительными и поэтому строгий контроль за процессом биосинтеза и состоянием биомассы продуцента является важнейшим этапом культивирования *S. avermitilis*. Своевременное установление сроков завершения ферментации по физиолого-биохимическим показателям мицелия позволяет сократить потери биомассы продуцента, из которой получают авермектины.

После экстракции авермектинов в биомассе остается значительное количество других биологически активных веществ (БАВ), в том числе липидов, которые представляют интерес для научных и практических целей. В нашем случае изучение липидов *Streptomyces avermitilis* важно также в связи с тем, что при обнаружении положительных свойств эти вещества могут найти прикладное значение, а проэкстрагированная биомасса продуцента авермектинов становится практически безвредна для окружающей среды, т.к. уже не содержит БАВ.

2.2 Эффективность авермектинсодержащего препарата ниацид при лечении смешанных гельминтозов свиней.

В результате проведенных гельминтоовоскопических исследований методом флотации, нами была выявлена достаточно высокая зараженность поголовья свиней в филиале ЗАО Агрофирма «Белая дача» различными видами гельминтов. Среди паразитов, обнаруженных у животных, преобладают следующие виды:

- эзофагостомы (*Oesophagostomum dentatum*);
- аскариды (*Ascaris suum*);
- трихоцефалы (*Trichocephalus suis*).

Следует отметить, что у многих животных была обнаружена смешанная инвазия разными видами гельминтов.

Процент зараженности животных до начала опыта и спустя 3 недели после применения препарата ниацид в дозировке 1мл/50кг массы животного приведен в табл. 1.

Таблица 1

Результаты гельминтоовоскопических исследований, проведенные в опытах на свиньях (% зараженности животных).

| Группа свиней | Количество голов | Процент зараженности свиней до опыта, % | Процент зараженности свиней через 3 нед. после введения препарата, % |
|---|------------------|---|--|
| Контроль (ниацид не вводили) | 12 | 83,3 | 91,6 |
| Опытная (ниацид вводили однократно в дозе 1мл/50кг массы) | 15 | 86,6 | 13,3 |

Как видно из таблицы, в группе без применения ниацида зараженность

свиней гельминтами не уменьшилась, а наоборот увеличилась с 83,3% до 91,6%, что доказывает постоянную инвазированность поголовья свиней различными видами гельминтов. В группе же где применялся ниацид, процент зараженности поголовья животных значительно уменьшился с 86,6% до 13,3%, т.е. из 13 взятых в опыт свиней 11 освободились от гельминтов. У 2 оставшихся зараженными животных интенсивность инвазии значительно снизилась.

Таким образом, можно сделать вывод, что экстенсэфективность применения ниацида, т.е. процент животных полностью освободившихся от гельминтов, составляет 84,6%.

Лечебно-профилактическая эффективность препарата ниацид проверена также в Гродненской области Республики Беларусь: колхоз «Большевик» Волковысского р-на, свиноводческий комплекс «Василисики» Щучинского р-на, колхоз им. Воронежского, СТК «Ренутьевцы» Берестовецкого р-на. Всего ниацидом обработано более 1000 голов свиней.

До обработки препаратом проведено копроскопическое обследование животных и установлено, что средняя степень поражения гельминтами (аскаридоз, трихоцефалез, стронгилоидоз) составляет 78,6%. Данные зараженности гельминтами поголовья свиней в колхозе «Большевик» приведены в табл. 2.

Таблица 2

Пораженность свиней гельминтозами в колхозе «Большевик».

| Наименования хозяйств, принадлежащих к-зу «Большевик» | Вид поголовья свиней | Количество пораженных, % |
|---|-----------------------|--------------------------|
| Ферма «Бакеевшино» | Свиноматки | 84,6 |
| | Хряки | 100 |
| | Свиньи ремонтные | 46,2 |
| | Поросята 2-4 мес. | 100 |
| Ферма «Мочулино» | Свиньи группы откорма | 85,7 |

После обработки ниацидом (на фермах Мочулино и Бакеевшино обрабо-

тано 443 и 549 голов, соответственно) в 55 пробах фекалий от ремонтных свинок яиц гельминтов не обнаружено; в 100 пробах фекалий от супоросных свиноматок в одной пробе выделены яйца аскарид; при исследовании 100 проб фекалий поросят 2-4 месячного возраста яиц гельминтов не обнаружено.

Таким образом, показано, что в условиях Гродненской обл. Республики Беларусь ниацид проявил высокую антигельминтную эффективность (97-100%). Результаты представлены в виде «Экспертного заключения» и подписаны ведущими специалистами в области ветеринарии. В «Экспертном заключении» отмечается, что комиссия рекомендует применять препарат в ветеринарной практике против смешанных гельминтозов свиней.

Широкие производственные испытания противопаразитарного препарата ниацид в России, Республике Беларусь и Омской области показали высокую эффективность препарата при лечении гельминтозов свиней как при дозировке 1мл/33кг, так и 1мл/50кг массы животного. Данные проведенных исследований приведены в табл. 3.

Таблица 3

Сравнительные данные по оценке эффективности препарата ниацид при смешанных гельминтозах свиней, %.

| Действующее вещество | Хозяйство | Эффективность ниацида | |
|--|---|------------------------|------------------------|
| | | Доза 1мл/33кг | Доза 1мл/50кг |
| Авермектиновый комплекс S. avermectilis-56 | Хоз-ва Гродненской обл. Республики Беларусь | 97-100 | препарат не применялся |
| то же | ЗАО Агрофирма «Белая дача» | препарат не применялся | 84,6 |
| Авермектин (абамектин) | Хоз-ва Омской обл. | 90-95 | 85-96 |
| Авермектиновый комплекс S. avermectilis-56 | Хоз-ва Омской обл. | 97-100 | 90-94 |

Данные табл.3 показывают также, что антгельминтная активность препарата практически одна и та же при содержании в нем в качестве ДВ как всего комплекса натуральных авермектинов, так и натуральных компонентов В_{1a} и В_{1b} (абамектин).

Данные таблицы представляют определенный интерес в связи с часто повторяемым мнением о наиболее высокой антипаразитарной активности авермектинов группы В. Как видно, представленные данные подтверждают высокую активность всего авермектинового комплекса, содержащего авермектины А и В.

Кроме того, важно отметить, что в процессе проведения работ по проверке эффективности препарата ниацид, полученного разными технологическими путями отмечалась хорошая переносимость препарата животными.

2.3 Влияние ниацида на показатели иммунобиологического статуса свиней при лечении гельминтозов.

Изучение действия лекарственных средств на иммунобиологические показатели организма животных является обязательным условием широкого внедрения их в ветеринарную практику. В отношении авермектинсодержащих препаратов можно отметить, что несмотря на множество опубликованных работ, до настоящего времени многие вопросы их действия на биохимические и иммунологические показатели организма животного не изучены.

В соответствии с программой исследования противопаразитарного препарата ниацид, нами проводилось изучение воздействия препарата на биохимические, гематологические и иммунологические показатели организма свиней.

Как было сказано выше, на основании гельминтологических исследований были сформированы группы животных, у которых для исследования брали кровь по следующей схеме:

- до введения препарата;
- спустя 7 дней после введения препарата;

- спустя 21 день после введения препарата;
- спустя 35 дней после введения препарата.

2.3.1 Биохимические показатели.

Результаты исследований по установлению влияния препарата ниацид на основные биохимические показатели сыворотки крови свиней приведены в табл. 4, а также на рис. 9.

К важнейшим показателям белкового обмена, имеющим значение в диагностике физиологического состояния животного, относится содержание общего белка сыворотки крови. В клинической практике определение общего белка сыворотки крови часто используется как важный диагностический тест.

Гипопротеинемический синдром свидетельствует либо о белковом голодании, либо о значительных потерях белка организмом, либо об угнетении процессов биосинтеза белков крови в результате развития хронических заболеваний, воспалительных процессов, интоксикаций.

Гиперпротеинемии встречаются сравнительно редко. Данный процесс наблюдается в стадии выздоровления от гепатитов, при миеломах и кратковременно при тяжелых формах диарей, рвоте, диабете и др.

Принимая во внимание данные табл.4, можно сказать, что вышеописанные явления не наблюдаются ни в контрольной, ни в опытной группах. Также следует отметить, что все показатели находятся в пределах физиологических норм клинически здоровых животных (76–91 г/л).

Не менее важное диагностическое значение при нарушениях белкового обмена имеет определение содержания в крови мочевины. Снижение концентрации мочевины с одновременным повышением уровня аминокислот и аммиака может расцениваться как важный признак подавления мочевинообразовательной функции печени, что часто наблюдается при циррозах, отравлениях и т.п.

Увеличение данного вещества в сыворотке крови наблюдается при патологиях мочевыводящей системы (нефрите, пиелонефрите, анурии), а также при

сердечной недостаточности.

Таблица 4

Результаты исследований биохимических показателей сыворотки крови свиней после введения ниацида ($\bar{X} \pm m_x$).

| Группа животных | До опыта | Сроки исследования, сут. | | |
|---------------------------------|--------------|--------------------------|--------------|--------------|
| | | 7 | 21 | 35 |
| Общий белок, г/л | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 76,70 ± 1,38 | 77,68 ± 1,36 | 78,77 ± 1,27 | 77,93 ± 1,29 |
| Опытная (1мл/50кг) | 78,54 ± 1,02 | 79,81 ± 1,52 | 79,26 ± 1,65 | 78,76 ± 1,36 |
| Биллирубин общий, мкмоль/л | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 9,05 ± 0,56 | 8,25 ± 0,53 | 9,25 ± 0,53 | 9,37 ± 0,58 |
| Опытная (1мл/50кг) | 8,38 ± 0,34 | 6,31 ± 0,57 | 10,33 ± 0,77 | 9,48 ± 0,56 |
| Биллирубин прямой, мкмоль/л | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 3,30 ± 0,61 | 1,78 ± 0,35 | 2,53 ± 0,50 | 2,67 ± 0,53 |
| Опытная (1мл/50кг) | 1,88 ± 0,36 | 1,60 ± 0,16 | 2,46 ± 0,39 | 2,47 ± 0,37 |
| Аланинаминотрансфераза, ед/мл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 17,72 ± 1,30 | 17,78 ± 2,25 | 16,82 ± 1,43 | 16,76 ± 1,56 |
| Опытная (1мл/50кг) | 17,23 ± 0,49 | 16,09 ± 1,24 | 11,09 ± 1,17 | 17,07 ± 1,12 |
| Аспаратаминотрансфераза, ед/мл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 9,92 ± 0,52 | 8,78 ± 1,27 | 8,22 ± 0,81 | 8,68 ± 0,92 |
| Опытная (1мл/50кг) | 10,39 ± 1,04 | 9,63 ± 0,49 | 8,12 ± 0,89 | 9,02 ± 0,87 |
| Мочевина, мкмоль/л | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 6,65 ± 0,16 | 5,93 ± 0,25 | 6,08 ± 0,17 | 6,03 ± 0,19 |
| Опытная (1мл/50кг) | 6,40 ± 0,26 | 6,04 ± 0,17 | 5,24 ± 0,20 | 5,97 ± 0,17 |

Примечание. Количество животных в опытной и контрольной группах по 30 голов.

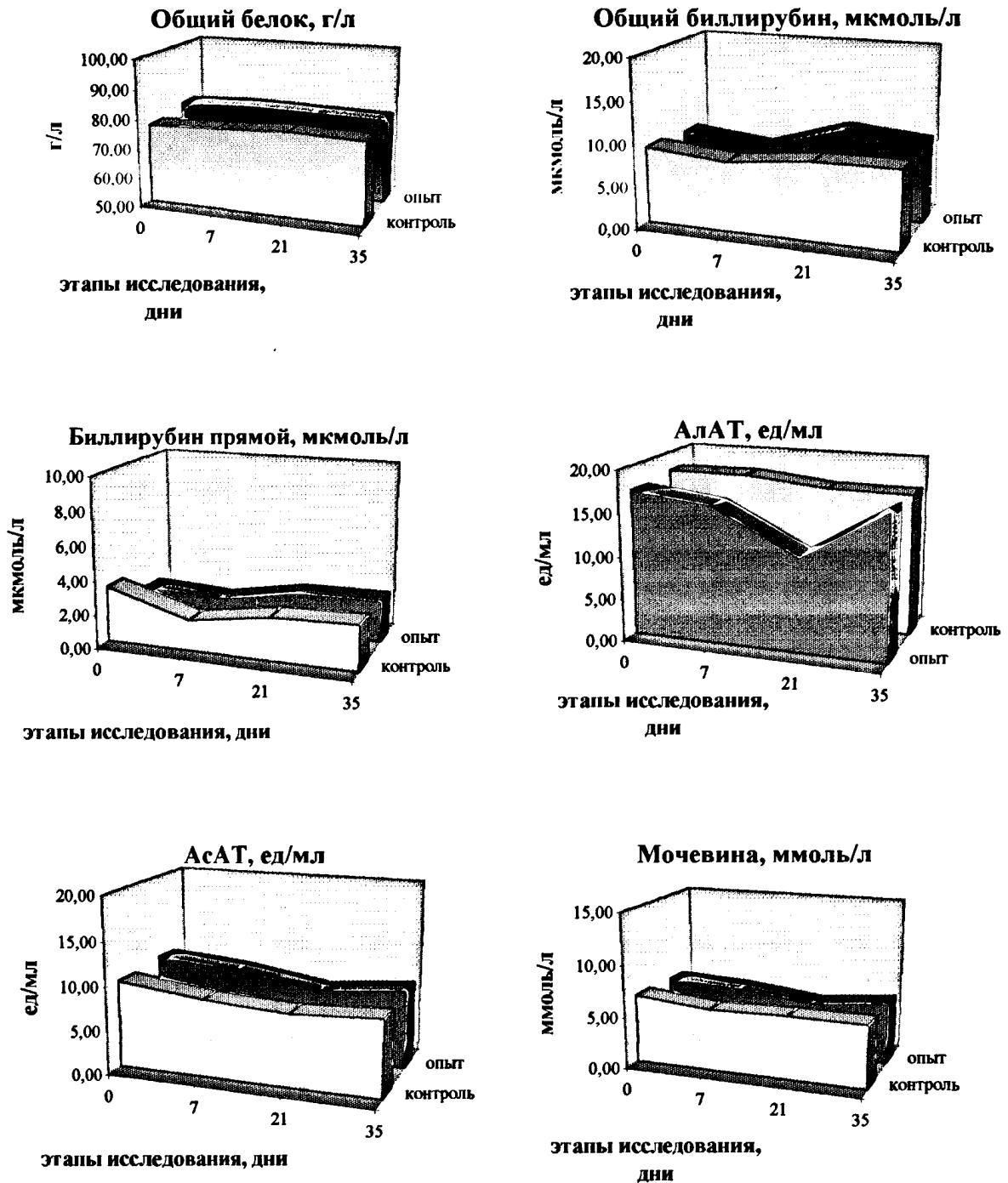


Рис. 9. Результаты биохимического исследования сыворотки крови свиней.

В исследованной нами сыворотке крови уровень мочевины находится приблизительно на одном уровне, как в контрольной, так и в опытной группе. Незначительное снижение показателей содержания мочевины к 21 дню исследования ($5,24 \pm 0,20$ мкмоль/л) статистически недостоверно ($p > 0,05$) и находится

в пределах норм.

Исследование в крови продуктов биосинтеза и распада хромопротеидов, в частности билирубина, позволяет считать этот показатель одним из основных при определении функционального состояния печени. Характерным признаком большинства заболеваний печени, в том числе токсических гепатитов, является резкое возрастание концентрации прямого билирубина.

Уровень общего билирубина в крови свиней в группе с применением ниацида на протяжении всего опыта имеет непостоянные значения, которые изменяются от $6,34 \pm 0,57$ до $10,33 \pm 0,77$ мкмоль/л, показатели же контрольной группы более постоянны: $8,25 \pm 0,53$; $9,37 \pm 0,58$ мкмоль/л. Тем не менее данную разницу не является достоверной ($p > 0,05$).

В опытной группе прямой билирубин, изначально имевший низкое значение ($1,88 \pm 0,36$; $1,60 \pm 0,16$ мкмоль/л), к 35 дню исследования достиг показателей контрольной группы ($2,47 \pm 0,37$ мкмоль/л), что также не имеет достоверных отличий.

Существенное значение для определения влияния противопаразитарного препарата ниацид на функции печени, а также на состояние азотного обмена в организме животных, в частности на перенос аминогруппы между аминокислотами и кетокислотами, имеет определение активности аминотрансфераз. Нами проводились исследования основных представителей этого класса энзимов: аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ).

Как свидетельствуют результаты биохимических исследований сыворотки крови свиней, у животных опытной группы (с применением препарата ниацид) в начале опыта наблюдалось достоверное уменьшение уровня аланинаминотрансферазы, по сравнению с контрольной группой ($11,09 \pm 1,17$ относительно $16,82 \pm 1,43$ ед/л; $p < 0,05$). В дальнейшем уровень данного показателя опытной группы выравнивается с контролем.

Уменьшение активности фермента может свидетельствовать о незначительном замедлении процессов аминирования и дезаминирования аминокислот, что влечет за собой нарушение содержания этих кислот в крови и, со-

ответственно, в организме.

Динамика содержания в сыворотке крови АсАТ не имеет явно выраженных изменений, показатели находятся в пределах физиологических норм взрослых свиней.

Биохимические показатели сыворотки крови свиней, обработанных препаратом ниацид, содержащим в качестве ДВ авермектин (абамектин), т.е. натуральные авермектины В1а и В1b, существенно не отличаются от вышеприведенных данных.

Содержание белка, мочевины и билирубина в сыворотке крови колеблется в пределах $77,5 \pm 1,94$ - $80,1 \pm 2,16$ г/л, $5,1 \pm 0,31$ - $6,55 \pm 0,39$ мкмоль/л и $6,63 \pm 0,51$ - $9,86 \pm 0,57$ мкмоль/л соответственно.

Активность аминотрансферазных энзимов также находится в пределах физиологических норм и свидетельствует о безвредности препарата в терапевтической дозе. Активность АлАТ в процессе опыта колеблется в пределах $10,71 \pm 0,85$ - $17,1 \pm 0,70$ ед/мл, те же показатели АсАТ составляют $8,31 \pm 0,93$ - $10,65 \pm 1,22$ ед/мл.

Таким образом, основные биохимические показатели сыворотки крови свиней при обработке препаратом ниацид, содержащим в качестве ДВ натуральные авермектины (абамектин, полный авермектиновый комплекс) в первые дни опыта могут отличаться от физиологической нормы, но через 3-4 недели указанные параметры приходят в норму. Эти данные свидетельствуют о том, что препарат ниацид, основанный на натуральных авермектинах, отрицательно не действует на метаболизм свиней.

2.3.2 Результаты иммунологических исследований.

Данные иммунологических исследований (содержание в сыворотке крови иммуноглобулинов G и M, лизоцима, бактерицидная активность сыворотки крови) приведены в табл. 5.

Результаты иммунологических исследований сыворотки крови свиней после введения ниацита ($\bar{X} \pm m_x$).

| Группа животных | До опыта | Сроки исследования, сут. | | |
|---|--------------|--------------------------|---------------|--------------|
| | | 7 | 21 | 35 |
| Иммуноглобулины G, мг/мл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 16,00 ± 0,97 | 16,00 ± 0,97 | 15,25 ± 0,68 | 15,37 ± 0,85 |
| Опытная (1мл/50кг) | 16,89 ± 0,87 | 14,50 ± 1,24 | 13,39 ± 0,74 | 15,08 ± 0,93 |
| Иммуноглобулины M, мг/мл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 6,36 ± 0,75 | 7,46 ± 0,40 | 7,83 ± 0,55 | 7,77 ± 0,63 |
| Опытная (1мл/50кг) | 8,00 ± 0,60 | 7,65 ± 0,65 | 7,40 ± 0,32 | 7,68 ± 0,48 |
| Лизоцим, мкг/мл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 18,58 ± 4,96 | 13,17 ± 2,29 | 15,50 ± 2,97 | 15,56 ± 2,75 |
| Опытная (1мл/50кг) | 14,67 ± 2,67 | 16,50 ± 2,73 | 13,44 ± 2,52 | 16,07 ± 2,43 |
| Бактерицидная активность сыворотки крови, % | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 44,70 ± 4,75 | 47,25 ± 3,55 | 52,12 ± 5,96 | 49,12 ± 3,76 |
| Опытная (1мл/50кг) | 44,86 ± 5,50 | 75,05 ± 11,08 | 87,15 ± 14,95 | 88,37 ± 7,08 |

Примечание. Количество животных в опытной и контрольной группах по 30 голов.

Графическая интерпретация показателей, приведенных в таблице, представлена ниже (рис.10).

Введение препарата ниацид свиньям опытной группы вызвало незначительное понижение такого показателя, как содержание иммуноглобулинов класса G с $16,89 \pm 0,87$ до $13,39 \pm 0,74$ мг/мл, по сравнению с контрольной: с $16,00 \pm 0,97$ до $15,25 \pm 0,68$ мг/мл), но эти изменения оказались недостоверными ($p > 0,05$).

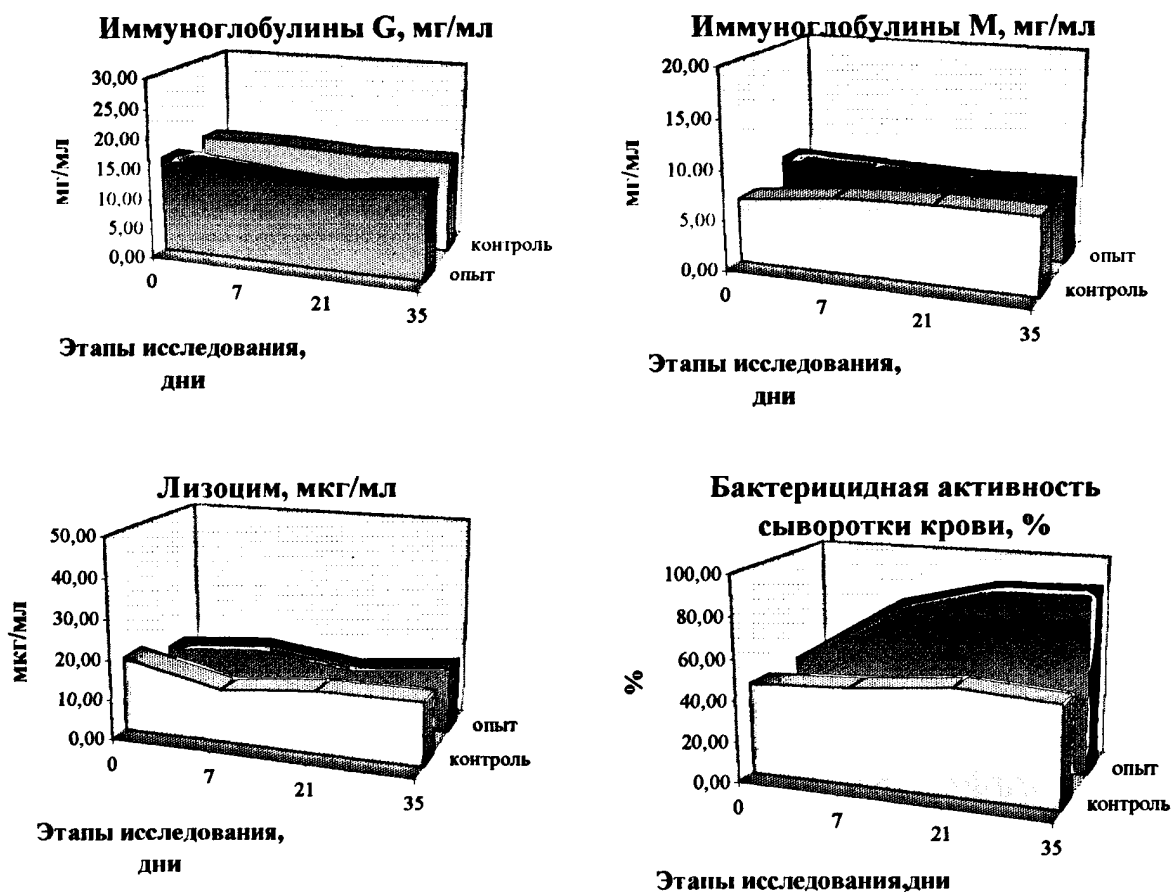


Рис. 10. Результаты иммунологических исследований сыворотки свиней.

Представленные данные свидетельствуют, что бактерицидная активность сыворотки крови зараженных животных, которым вводился ниацид, после лечения достоверно повышается с $44,86 \pm 5,50\%$ до $87,15 \pm 14,95\%$, $p < 0,05$, что нельзя сказать о показателях группы без применения препарата: с $44,7 \pm 4,75$ до $52,12 \pm 5,96\%$.

Такие показатели, как концентрация иммуноглобулинов класса G и лизоцима, не проявили в процессе опыта выраженных изменений. Отклонений иммунологических показателей у животных, участвующих в опыте, от физиологических норм не наблюдалось.

Не менее важным показателем при оценке иммунологического статуса животных является фагоцитарная активность нейтрофилов крови. Результаты изучения данного показателя в динамике опыта по применению противопарази-

тарного препарата ниацид приведены в табл. 6.

Таблица 6

Фагоцитарная активность нейтрофилов крови свиней
после введения ниацида ($\bar{X} \pm m_x$).

| Группа животных | До опыта | Сроки исследования, сут. | | |
|---------------------------------|---------------|--------------------------|---------------|---------------|
| | | 7 | 21 | 35 |
| Процент фагоцитоза, % | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 28,00 ± 6,32 | 45,33 ± 14,35 | 48,00 ± 15,21 | 49,00 ± 14,97 |
| Опытная (1мл/50кг) | 24,00 ± 6,43 | 55,11 ± 6,92 | 52,00 ± 11,94 | 56,13 ± 11,67 |
| Индекс фагоцитоза | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 2,06 ± 0,58 | 5,12 ± 1,67 | 3,16 ± 0,73 | 3,28 ± 0,89 |
| Опытная (1мл/50кг) | 1,75 ± 0,37 | 4,48 ± 0,85 | 2,96 ± 0,72 | 3,34 ± 0,81 |
| Процент переваривания, % | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 44,13 ± 10,14 | 34,99 ± 9,36 | 37,20 ± 12,71 | 37,22 ± 8,42 |
| Опытная (1мл/50кг) | 37,59 ± 11,45 | 38,29 ± 7,53 | 45,69 ± 11,74 | 39,39 ± 8,12 |

Примечание. Количество животных в опытной и контрольной группах по 30 голов.

Данные таблицы характеризуются нижеприведенными диаграммами (рис.11).

Как свидетельствуют данные вышеприведенной таблицы и диаграмм, в опытной и контрольной группах наблюдалось повышение процента фагоцитоза, но в группе свиней с применением ниацида это явление протекало наиболее активно (24,00±6,43; 55,11±6,92). Уровень фагоцитоза опытной группы, относительно контрольной, на последнем этапе эксперимента оказался выше (52,00±11,94; 48,00±15,21), но данные изменения не являются статистически достоверными ($p > 0,05$).

В отличие от процента фагоцитоза, индекс фагоцитоза не показал выраженных различий между уровнями контроля и опыта.

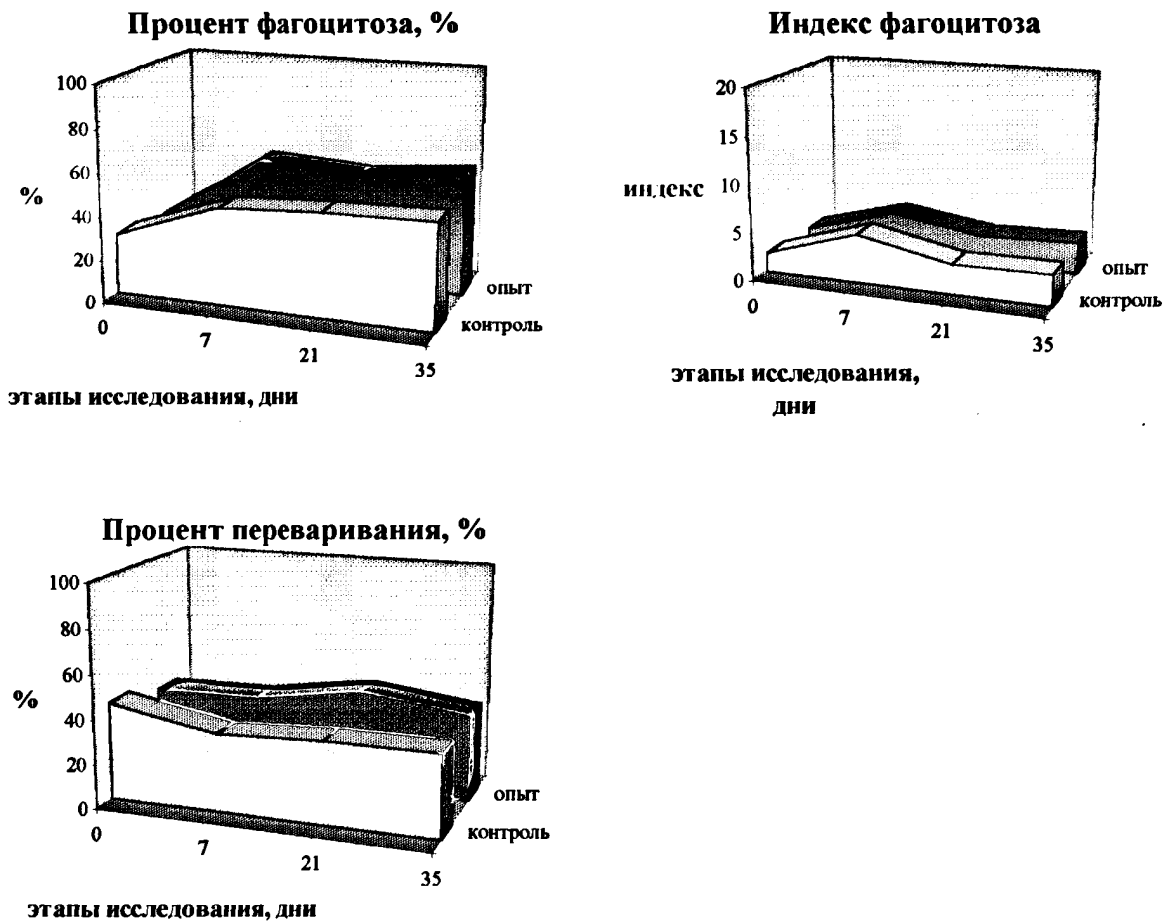


Рис. 11. Фагоцитарная активность нейтрофилов крови свиней.

В группе с применением препарата наблюдалось увеличение процента переваривания захваченных клеток к концу периода исследований ($37,59 \pm 11,45$ - $45,69 \pm 11,74$ %), у контрольных животных выявился обратный эффект ($44,13 \pm 10,14$ - $37,20 \pm 12,71$ %). Отмеченное увеличение показателя в опытной группе животных статистически недостоверно ($p > 0,05$).

Показатели клеточного и гуморального иммунитета свиней, обработанных препаратом ниаид, содержащим в качестве ДВ авермектин (абамектин), т.е. натуральные авермектины В1а и В1b, существенно не отличаются от выше-приведенных данных.

Содержание Ig G находится в пределах от $15,13 \pm 0,87$ до $16,43 \pm 0,92$ мг/мл, Ig M – от $6,74 \pm 0,41$ до $8,22 \pm 0,56$ мг/мл, лизоцима – от $13,86 \pm 2,71$ до $17,12 \pm 2,82$ мкг/мл, бактерицидная активность сыворотки крови – от $47,25 \pm 6,08$ до

69,26±9,23 %. Фагоцитарная активность нейтрофилов так же не проявила выраженных различий. Так, процент фагоцитоза составил 32,11±6,24 – 49,00±12,24%, индекс фагоцитоза 2,36±0,38 – 3,32±0,46, процент переваривания 36,25±2,37 – 42,36±4,23 %.

Таким образом, основные иммунологические показатели сыворотки крови свиней при обработке животных ниацидом, содержащим в качестве ДВ натуральные авермектины (абамектин, полный авермектиновый комплекс), свидетельствуют об отсутствии отрицательного действия препарата на обмен веществ свиней.

2.3.3 Гематологические показатели.

Важнейшую функцию в организме животного выполняют форменные элементы крови, основную часть которых составляют эритроциты и лейкоциты.

Благодаря значительной поверхности клеток эритроциты способны захватывать и переносить достаточное количество кислорода и углекислого газа, обеспечивающее полноценную жизнедеятельность всех органов и тканей. Помимо этого эритроциты также принимают участие в транспорте аминокислот, адсорбции токсинов и вирусов. Изменения концентрации эритроцитов ведет к нарушению вышеприведенных функций.

Функция лейкоцитов – фагоцитирование бактерий и инородных тел, активное участие в свертывании крови и обмене веществ, поэтому изучение данного показателя является одним из основных моментов различных исследований.

Изменения этих показателей в динамике опыта представлены в табл.7.

Как видно из приведенной таблицы и диаграмм уровень эритроцитов в контрольной группе изменялся в течение всего опыта незначительно с 6,07±0,22 до 6,54±0,18 млн/мкл ($p>0,05$). Обнаружено повышение уровня этого показателя к 35 дню исследования (6,54±0,18 млн/мкл). Тем не менее, все данные по содержанию эритроцитов в крови свиней находились в пределах физио-

логических норм здоровых животных.

Таблица 7

Содержание в крови свиней эритроцитов и лейкоцитов после введения ниацида

$$(\bar{X} \pm m_x).$$

| Группа животных | До опыта | Сроки исследования, сут. | | |
|---------------------------------|------------|--------------------------|------------|------------|
| | | 7 | 21 | 35 |
| Эритроциты, млн/мкл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 6,38±0,29 | 6,13±0,30 | 6,53±0,23 | 6,35±0,37 |
| Опытная (1мл/50кг) | 6,07±0,22 | 6,23±0,30 | 6,09±0,19 | 6,54±0,18 |
| Лейкоциты, тыс/мкл | | | | |
| Контрольная (ниацид не вводили) | 16,03±0,89 | 17,82±0,92 | 16,88±0,88 | 15,63±0,83 |
| Опытная (1мл/50кг) | 15,93±0,62 | 13,98±0,76 | 15,73±0,64 | 15,95±0,68 |

Примечание. Количество животных в опытной и контрольной группах по 30 голов.

Графическое изображение данных таблицы приведено на рис. 12.

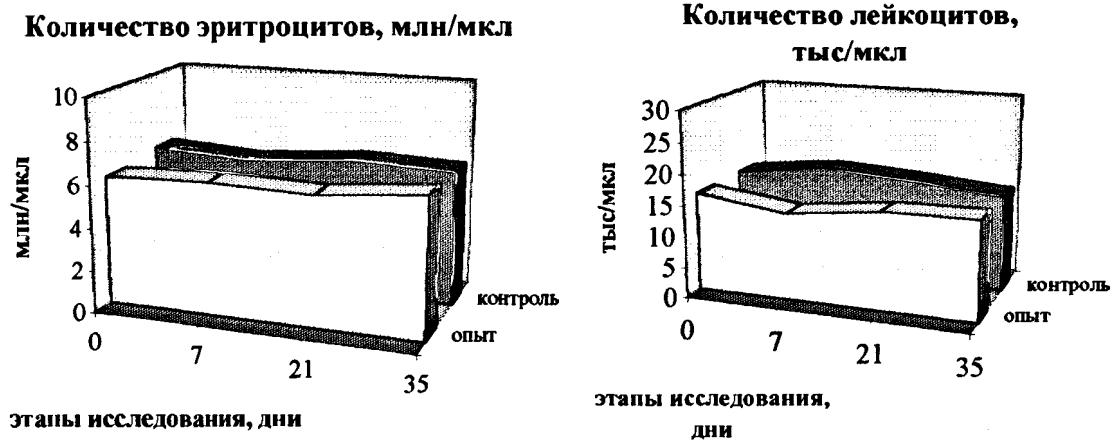


Рис. 12. Содержание эритроцитов и лейкоцитов в крови свиней.

Содержание лейкоцитов не претерпевало никаких изменений в течение всего опыта. Все показатели находились в пределах физиологических норм.

Учитывая вышеприведенные материалы, можно сделать вывод, что про-

тивопаразитарный препарат ниацид проявляет высокую экстенсивность и не оказывает существенного влияния на иммунобиологические показатели свиней при лечении гельминтозов.

2.4 Изучение биологически активных свойств липидов биомассы *Streptomyces avermitilis*-56 – продуцента авермектинов.

2.4.1 Выделение и очистка.

Технологический процесс получения липидной фракции *Streptomyces avermitilis* состоит из следующих этапов:

- измельчение мицелия;
- экстракция;
- фильтрование;
- вакуум-перегонка фильтрата.

Воздушно-сухой мицелий измельчают таким образом, чтобы размер частиц составлял не более 0,5 мм.

Экстракция. Измельченную биомассу помещают в экстрактор и добавляют растворитель в соотношении 20:1. Экстракцию производят в течение 24 часов при температуре $\approx 37^{\circ}\text{C}$ при постоянном перемешивании, экстракт фильтруют на вакуумном нуч-фильтре. На сетку фильтра укладывают двойной слой фильтровальной бумаги, которую смачивают небольшим количеством растворителя, включают насос, после чего из экстрактора постепенно подают смесь.

Удаление растворителей. Упаривание липидных экстрактов проводится в вакууме на роторном испарителе при температуре, близкой к комнатной.

Хранение липидных препаратов. Очищенные липидные вещества при хранении подвержены разложению, однако при соблюдении необходимых мер предосторожности (хранение на холоду, в темноте, защита от кислорода) многие препараты удается хранить в течение более или менее длительного времени. В своей работе мы хранили липиды в низкотемпературном холодильнике

Sauyo при температуре -30°C в плотно закрытых сосудах. Липиды обычно хранят в виде растворов, так как при хранении в нерастворенном состоянии поверхность стекла может катализировать процессы разложения, поэтому для хранения мы использовали такие растворители, как изопропиловый спирт и петролейный эфир.

В связи с тем, что в процессе выделения липидов из биомассы не удается на 100% избавиться от сопутствующих остаточных количеств авермектинов, представлялось важным установить количественное содержание авермектинов в исследуемых пробах. Для этого был проведен хроматографический анализ проб методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Результаты этих опытов представлены на рис. 13 и 14.

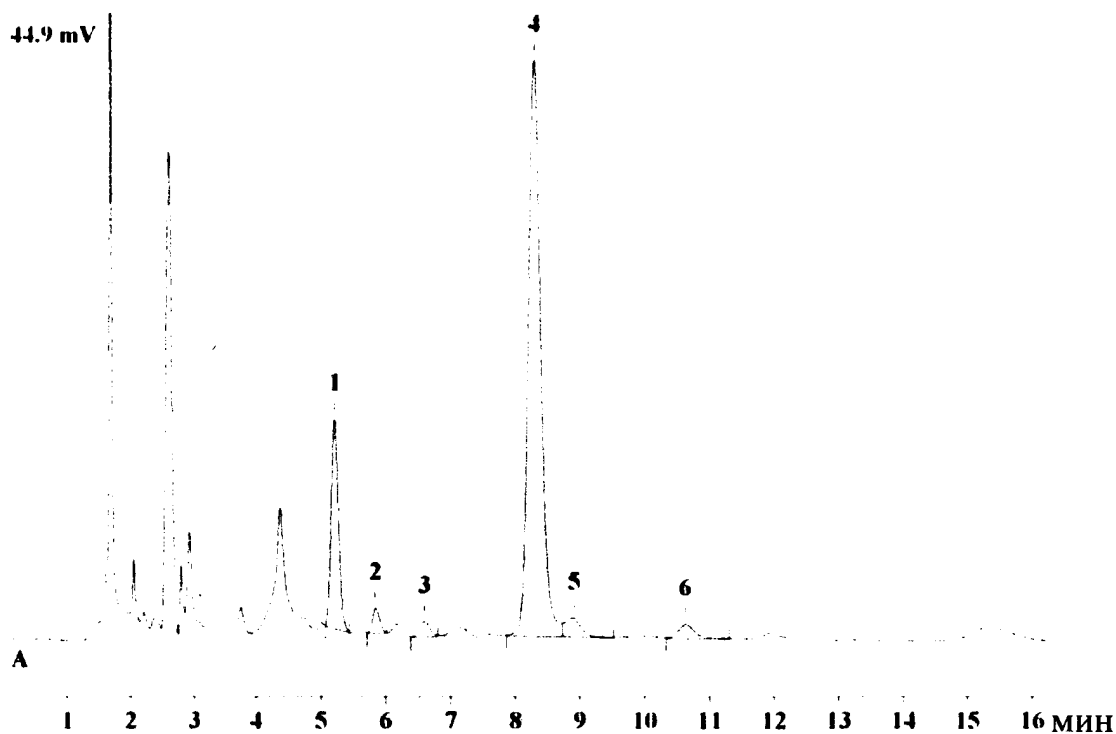


Рис. 13. Хроматограмма спиртовой фракции биомассы *S. avermitilis*.

Как видно из приведенной хроматограммы спиртовой экстракт биомассы микроорганизма *S. avermitilis* содержит 6 групп авермектинов. Суммарная площадь пиков хроматограммы (1-6) составила 747,414 мВ/с. Предварительные

исследования показывают, что суммарная площадь стандарта авермектинов 900,226 мВ/с соответствует концентрации авермектинов 94,864 мкг/мл. Таким образом, концентрация авермектинов в пробе составляет 78,76 мкг/мл. С учетом того, что пробу спиртового экстракта для исследования развели в 5 раз, исходная концентрация авермектинов в спиртовом экстракте из биомассы *S. avermitilis* составила 393,80 мкг/мл.

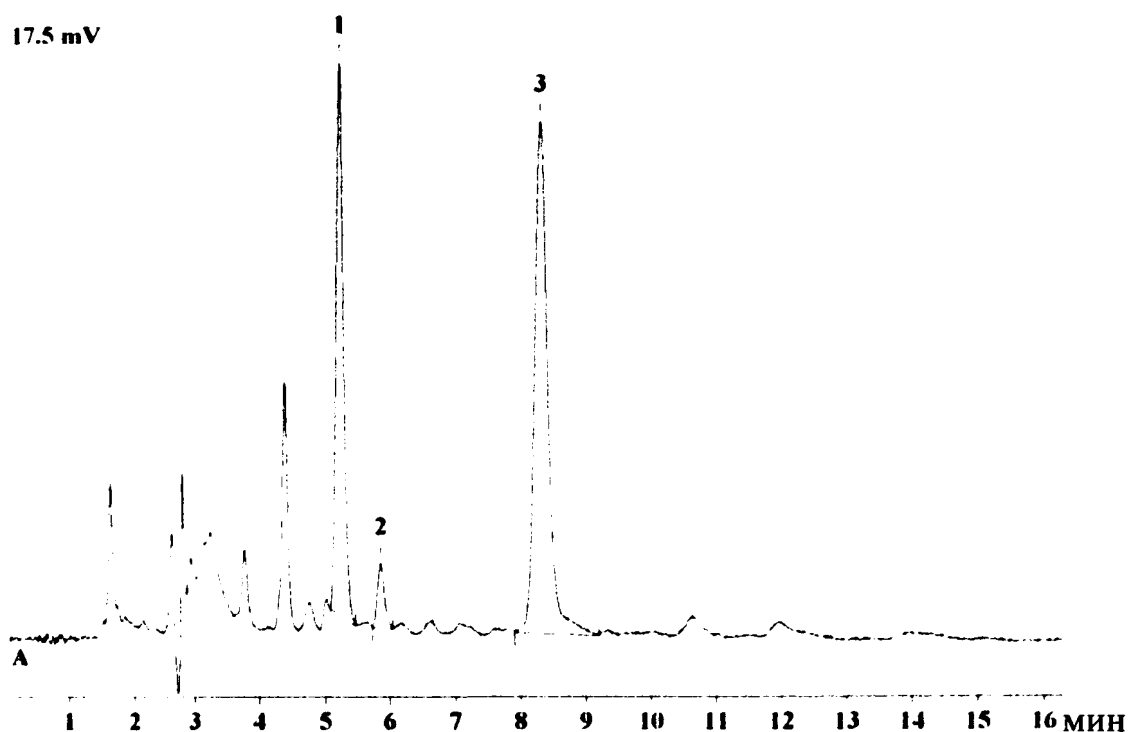


Рис.14. Хроматограмма петролейно-эфирной фракции биомассы *S. avermitilis*.

Расчет концентрации авермектинов в петролейно-эфирной фракции из биомассы проводился по тому же принципу. Содержание авермектинов в этой фракции составило 176,25 мкг/мл.

Как видно из приведенных расчетов, содержание авермектинов в петролейно-эфирном экстракте в 2,2 раза ниже, чем в спиртовом, что доказывает невысокую способность петролейного эфира (40-70°) растворять и соответственно выделять из биомассы, авермектины, тем самым, уменьшая побочное действие этих веществ при биологическом действии липидной фракции данного экс-

тракта.

Учитывая вышесказанное, нами отдано предпочтение исследованию петролейно-эфирной фракции микроорганизма *S. avermitilis*.

2.4.2 Определение фракционного состава.

Методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) (подвижная фаза: петролейный эфир (40-60°) – 85%, диэтиловый эфир (36-37°) – 14-15%, уксусная кислота – 1%) нами проведено изучение петролейно-эфирной фракции, полученной из биомассы микроорганизма. Как показывает хроматограмма (рис. 15), в данной фракции присутствуют следующие классы липидов: стерины, свободные жирные кислоты, триглицериды. Фосфолипиды, моно, диглицериды или совсем отсутствуют, или имеют значительно низкий уровень.

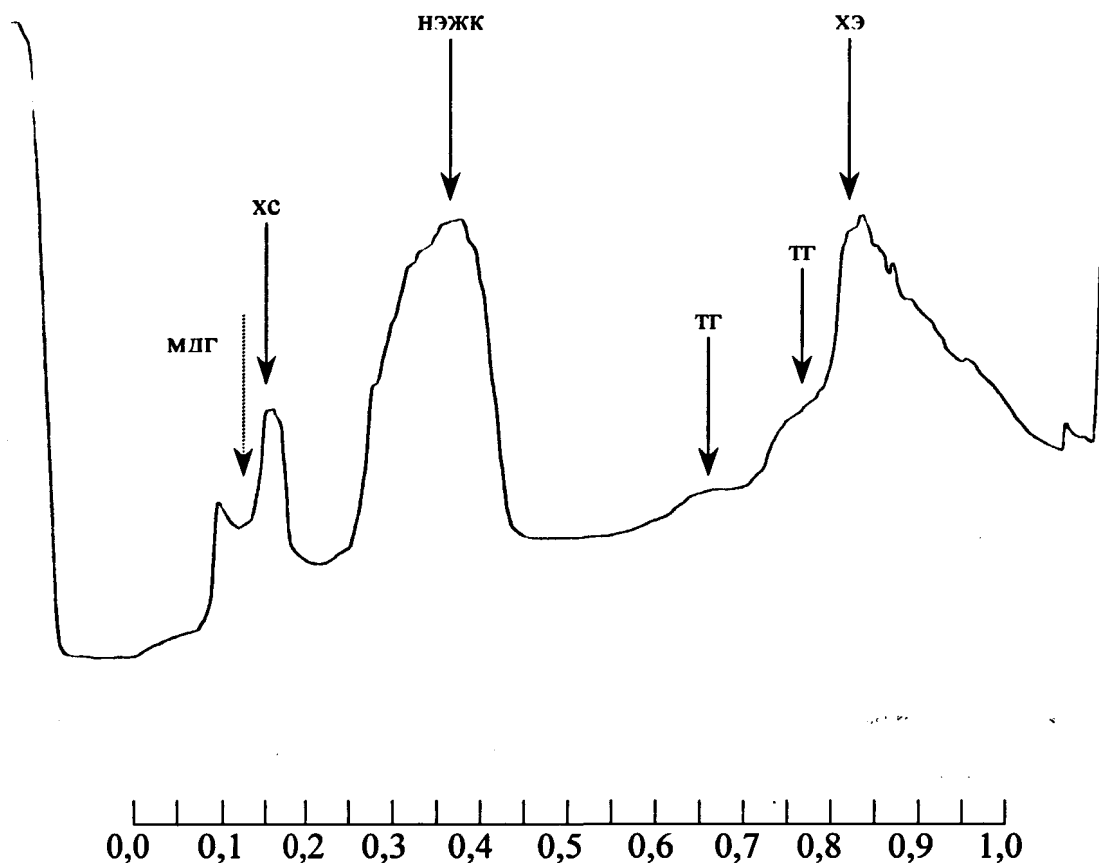


Рис. 15. Хроматограмма петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis*.
Условные обозначения: мдг – моно- и диглицериды; хс – холестерин свободный; нэжк – неэтерифицированные жирные кислоты; тг – триглицериды; хэ – холестерин этерифицированный.

Учитывая поправочные коэффициенты и площадь полученных пиков можно рассчитать относительное содержание отдельных классов липидов. Результаты расчетов приведены в табл. 8.

Следует отметить, что коэффициент подвижности отдельных классов липидов (R_f) в проведенном эксперименте не совпадает с литературными данными (табл. 9). Для расчета R_f отдельных классов липидов измеряют общую длину разгонки на пластине, которую принимают за 100%, а затем местоположение отдельных классов (по центру пятна) и рассчитывают их прохождение относительно всей длины разгонки.

Содержание отдельных классов липидов в петролейно-эфирной фракции биомассы *S. avermitilis*.

| Класс липидов | Содержание, % |
|---------------------|---------------|
| Фосфолипиды | отсутствуют |
| Моно- и диглицериды | 1,24 |
| Стерины свободные | 3,48 |
| НЭЖК | 64,10 |
| Триглицериды | 2,24 |
| Эфиры стеринов | 28,94 |

Таблица 9

Значение Rf для отдельных классов липидов.

| Класс липидов | Rf по литературным данным | Rf собственных исследований |
|------------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Фосфолипиды | 0,00 | - |
| Моноглицериды | 0,04 | 0,08 |
| Диглицериды | 0,08 | 0,10 |
| Холестерин свободный | 0,11 | 0,15 |
| НЭЖК | 0,20 | 0,36 |
| Триглицериды | 0,44 | 0,65(0,76) |
| Холестерин этерифицированный | 0,70 | 0,85 |

Таким образом, нами отмечено наличие в петролейно-эфирной фракции веществ стериновой природы, свободных жирных кислот, триглицеридов, следовых количеств моно- и диглицеридов и отсутствие фосфолипидов, что характерно для экстрактов петролейного эфира как неполярного растворителя.

2.4.3 Влияние липидов на процессы свободнорадикального окисления.

Изучение влияния петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis* на процессы свободнорадикального окисления (СРО) или антиокислительная активность проводилась на такой модели, как неокисленная олеиновая кислота (НОК). Результаты торможения окисления олеиновой кислоты петролейно-эфирной фракцией представлены в табл.10.

Таблица 10

Результаты исследования антиокислительной активности петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis* ($\bar{X} \pm m_x$).

| Пробы | До введения проб | Срок исследования | | | |
|---|------------------|-------------------|--------------|--------------|--------------|
| | | После введения | Через 1,5 ч | Через 3 ч | Через 5 сут. |
| Спонтанная хемилюминесценция, имп/сек·см ³ | | | | | |
| Олеиновая к-та (ОК) | 105,20± 3,28 | 105,20± 3,28 | 131,10± 3,34 | 157,00± 5,24 | 90,10 ± 3,64 |
| ОК + Липидная фракция в петролейном эфире (1 мг/мл) | 104,60± 2,27 | 92,30 ± 3,11 | 94,10 ± 3,27 | 91,30 ± 2,00 | 47,80 ± 2,84 |
| ОК + Петролейный эфир | 103,7 ± 2,82 | 199,20± 3,78 | 149,90± 5,81 | 152,90± 5,39 | 89,40 ± 4,39 |
| Скорость реакции синтеза перекисей, моль/см ³ ·10 ⁻¹³ | | | | | |
| Олеиновая к-та (ОК) | 4,37±0,07 | 4,37±0,07 | 5,44±0,06 | 6,52±0,13 | 3,74±0,09 |
| ОК + Липидная фракция в петролейном эфире (1 мг/мл) | 4,34±0,08 | 3,83±0,10 | 3,91±0,11 | 3,79±0,08 | 1,99±0,09 |
| ОК + Петролейный эфир | 4,31±0,09 | 8,27±0,09 | 6,23±0,18 | 6,35±0,13 | 3,71±0,10 |

По результатам эксперимента отмечено угнетение скорости образования перекисей при добавлении в субстрат (НОК) липидной фракции *S. avermitilis* в количестве 0,1% от объема окисляемой олеиновой кислоты. Более наглядно торможение хемилюминесценции показано на рис. 16.

Из рисунка видно, что после введения в субстрат (НОК) петролейного эфира произошла вспышка хемилюминесценции, что характерно для такого

вещества как петролейный эфир. При введении в субстрат раствора липидов в петролейном эфире вспышки не наблюдалось, а наоборот произошло угнетение хемилюминесценции. Соответственно этому проявилось выраженное торможение скорости образования перекисей, что указывает на высокий антиокислительный эффект петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis*.

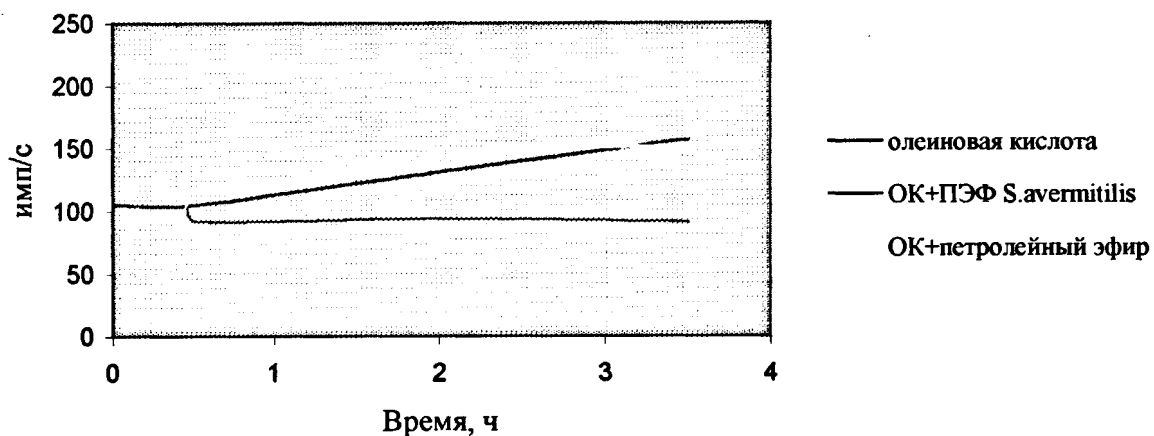


Рис. 16. Показатели хемилюминесценции при окислении олеиновой кислоты.

Как видно из рис. 17, приведенного ниже, показатель угнетения процессов СРО достиг 46,9 % на 5 сутки.

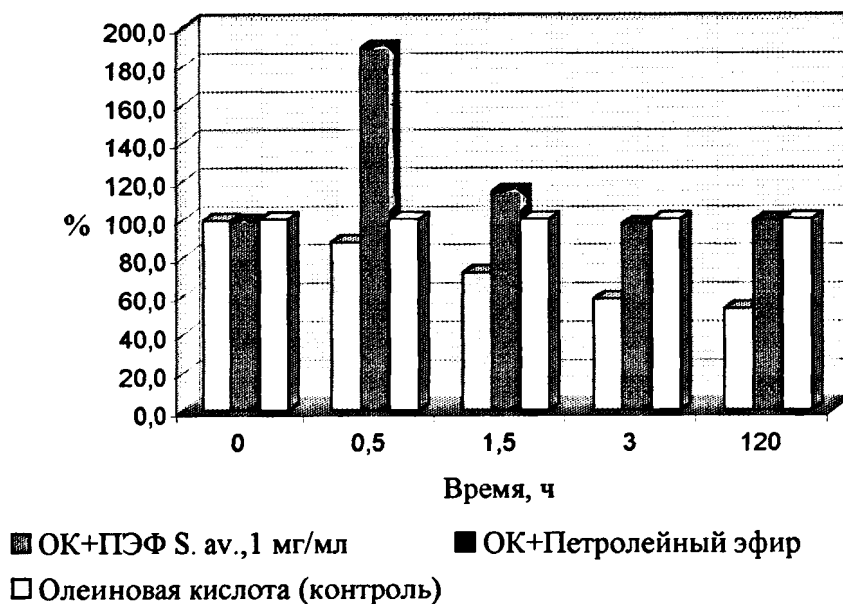


Рис. 17. Процентное соотношение процессов СРО в окисляемых объектах.

Таким образом, можно сделать вывод, что данная липидная фракция обладает сильно выраженным антиоксидантным эффектом.

2.4.4 Действие липидов на иммунный статус лабораторных животных.

Изучение влияния на иммунный статус лабораторных животных петролейно-эфирной фракции микроорганизма *S. avermitilis* проводилось на белых мышах, которым вводились различные дозы данного вещества. Как видно из табл. 11, наибольший эффект оказала концентрация препарата 1 мг/кг массы, при этом уровень лизоцима увеличился до $661,11 \pm 12,30$ мкг/мл (контроль – $430,00 \pm 20,00$ мкг/мл), бактерицидная активность сыворотки крови увеличилась до $44,45 \pm 1,34$ % (контроль - $4,12 \pm 0,35$ %).

Таблица 11

Уровень показателей резистентности мышей до и после введения липидов петролейно-эфирной фракции биомассы *S. avermitilis* ($\bar{X} \pm m_x$).

| Группа животных | До опыта | Срок исследования, сут. | |
|---|--------------------|-------------------------|--------------------|
| | | 14 | 28 |
| Лизоцим сыворотки крови мышей, мкг/мл | | | |
| Контрольная (препарат не вводили) | $430,00 \pm 20,00$ | $410,00 \pm 25,30$ | $430,00 \pm 20,00$ |
| Опытная 1 мг/кг | $410,00 \pm 20,00$ | $605,56 \pm 31,01$ | $661,11 \pm 12,30$ |
| Опытная 10 мг/кг | $423,33 \pm 17,64$ | $350,56 \pm 31,19$ | $311,11 \pm 43,08$ |
| Бактерицидная активность сыворотки крови мышей, % | | | |
| Контрольная (препарат не вводили) | $3,12 \pm 0,65$ | $3,15 \pm 0,45$ | $4,12 \pm 0,35$ |
| Опытная 1 мг/кг | $2,78 \pm 0,47$ | $32,13 \pm 1,97$ | $44,45 \pm 1,34$ |
| Опытная 10 мг/кг | $3,24 \pm 0,58$ | $3,65 \pm 0,67$ | $3,12 \pm 0,53$ |

Дальнейшее увеличение концентрации препарата не приводит к увеличе-

нию исследуемых показателей, что свидетельствует о высокой биологической активности липидной фракции.

2.4.5 Анаболические свойства липидов биомассы *S. avermitilis*.

При испытании воздействия петролейно-эфирной фракции из мицелия *Streptomyces avermitilis* на микро- и макроорганизмы был получен положительный ростовой эффект.

Установлено, что данная фракция оказывает существенное влияние на прирост массы лабораторных животных (мышей) в концентрации 10 мг/кг массы (+12,5%) относительно массы мышей контрольной группы (табл. 12). Доза 1 мг/кг в наших исследованиях не вызвала стимуляцию роста живой массы мышей.

Таблица 12

Прирост массы мышей при введении липидов петролейно-эфирной фракции $(\bar{X} \pm m_x)$.

| Группа животных | До опыта | Срок исследования, сут. | | |
|-----------------------------------|--------------|-------------------------|--------------|--------------|
| | | 7 | 21 | 35 |
| Контрольная (препарат не вводили) | 14,58 ± 0,25 | 15,13 ± 0,22 | 16,50 ± 0,40 | 16,73 ± 0,42 |
| Опытная 1 мг/кг | 14,75 ± 0,25 | 15,35 ± 0,30 | 16,30 ± 0,21 | 16,52 ± 0,36 |
| Опытная 10 мг/кг | 14,57 ± 0,25 | 17,94 ± 0,21 | 18,57 ± 0,24 | 18,62 ± 0,32 |

Примечание. Масса животных указана в граммах.

Следует отметить, что наиболее высокая интенсивность роста животных наблюдается в начальном периоде после введения препарата, в дальнейшем прирост массы тела уменьшается. Данную картину можно наглядно увидеть на ниже приведенной диаграмме.

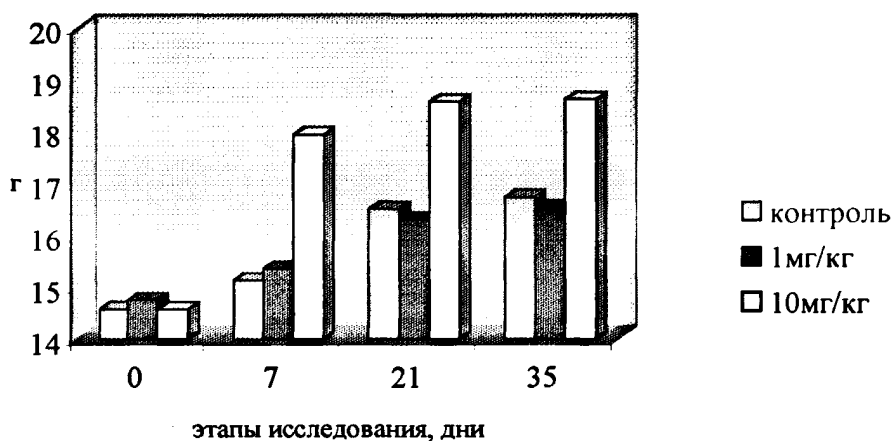


Рис. 18. Прирост массы мышей.

Таким образом, петролейно-эфирная липидная фракция, вероятно за счет входящих в нее стероидов, оказывает ростстимулирующий эффект на организм теплокровных животных, что также подтверждается многочисленными литературными данными.

Нами также изучено воздействие липидной фракции биомассы *S. avermitilis* на рост таких микроорганизмов, как *E. coli*.

Изменение оптической плотности МПБ при росте культуры *E. coli* O20 при добавлении петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis* приведено в табл. 13.

Таблица 13

Изменения оптической плотности МПБ при добавлении петролейно-эфирной фракции *S. avermitilis*.

| Проба | Изменение оптической плотности ΔD | |
|--|---|--------------------|
| | Длина волны 400 нм | Длина волны 600 нм |
| МПБ + культура <i>E. coli</i> | 0,433 | 0,307 |
| МПБ + культура <i>E. coli</i> + ПЭФ <i>S. avermitilis</i> | 0,544 | 0,718 |

Учитывая то, что наиболее достоверные результаты измерения оптической плотности МПБ при росте *E. coli* наблюдаются при длине волны 400 нм

[76], добавление петролейно-эфирной фракции в количестве 10 % от общего объема КЖ вызвало стимуляцию роста микроорганизма (+25,63%). Это доказывает, что липидная фракция микроорганизма *S. avermitilis* содержит вещества с высокой биологической активностью, способные повысить ростовой эффект микроорганизмов.

Отсутствие антимикробного действия на *E. coli* возможно связано с отсутствием в испытуемой фракции таких биологически активных веществ, как фосфолипиды, которые по данным литературы обладают антибиотическими свойствами селективного действия по отношению к различным микроорганизмам.

Изучение петролейно-эфирной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis* показало, что липиды, входящие в ее состав обладают ярко выраженными биологически активными свойствами по отношению не только к макроорганизмам, но и к бактериям. В связи с этим появляется возможность использования данных веществ в биологической промышленности и ветеринарии.

III. Обсуждение результатов.

Болезни свиней, вызываемые различными паразитами, имеют широкое распространение и наносят народному хозяйству значительный экономический и социальный ущерб. Как видно из проведенных нами гельминтологических исследований, на территории России повсеместно диагностируются гельминтозы пищеварительного тракта - аскаридоз, эзофагостомоз, трихоцефалез, стронгилоидоз и др. Они в той или иной степени поражают свиней во всех зонах и в различных типах хозяйств. Как правило, у одного и того же животного в разных органах паразитируют несколько видов паразитов, что усугубляет болезнь, а продуктивность снижается до 70 и более процентов по сравнению со здоровыми животными.

Применяемые групповым методом антгельминтики при воздействии на возбудителя, не обеспечивают достаточный лечебный эффект. Особенно страдают наиболее сильно зараженные, ослабевшие животные, так как лечебное средство при групповой дегельминтизации достается им в меньшей степени или они его вовсе не получают. Поэтому в этих группах источник инвазии присутствует постоянно, тем более что многие препараты обладают узким спектром действия.

Для управления эпизоотическим процессом наиболее эффективными являются препараты из группы макроциклических лактонов, в т.ч. ниацид, максимально обеспечивая оптимизацию противопаразитарных мероприятий. Одна инъекция ниацида в дозе 1 мл на 33-50 кг массы тела решает проблему гельминтозов, сводя тем самым до минимума материальные затраты и повышая продуктивность животных. Немаловажным условием является назначение его в определенные сроки, определяемые технологией отрасли, физиологическим состоянием животных и специализацией фермы.

Для достижения желаемых результатов в борьбе с нематодозами пищеварительного тракта и органов дыхания свиней предлагаются разные дозы авермектинсодержащих препаратов. Получены высокие результаты применения

ивомека в дозе 1 мл на 20 кг массы тела (М. А. Петрухин, 1990), 1 мл на 33 кг (Ю. Ю. Семенов, Б. Л. Гаркави, С. Н. Забашта, 1993), а также 1 мл на 50 кг (Р. Т. Сафиуллин, 1986). Спустя неделю после введения препарата в указанных дозировках наблюдалась 83-100 % эффективность.

Данные об эффективности ниацида в дозе 1 мл на 50 кг массы тела свиней, полученные при исследованиях в хозяйствах Подмосковья, Республики Беларусь и Омской области, подтверждают данные литературы о высокой эффективности препаратов авермектинового ряда при смешанных гельминтозах свиней. Показатели экстенсивности препарата в дозе 1 мл на 50 кг массы тела достигают 94-96%, тогда как при дозировке 1 мл на 33 кг – 95-100%. Учитывая высокую эффективность препарата при лечении гельминтозов свиней в дозировке 1 мл на 50 кг массы животного, незначительно отличающуюся от эффективности при 1 мл на 33 кг, можно с уверенностью говорить о целесообразности внедрения в практику технологической схемы, учитывающей данную дозировку.

Говоря об эффективности авермектинсодержащих препаратов, в частности ниацида, следует отметить, что этот препарат имеет свою уникальную композицию, обеспечивающую высокую антипаразитарную активность при концентрации ДВ около 0,4%. Препарат находится на стадии широкого внедрения в ветеринарную практику и ряд вопросов, связанных с действием его на организм животных требовал дальнейшего уточнения.

Исходя из вышесказанного, в нашей работе уделено внимание основным биохимическим показателям сыворотки крови свиней, характеризующим изменения в белковом обмене, нарушения функции печени и почек – общий белок, непрямой и прямой билирубин, аланинаминотрансфераза, аспаратаминотрансфераза, мочевины.

Среди методов функционального исследования печени наиболее эффективны энзимологические методы, так как по изменению активности гепатоспецифических и неспецифических ферментных спектров можно не только судить об остроте и характере патологического процесса, но и говорить о повре-

ждении определенных субклинических структур - митохондрий, мембран и т.д., что тем самым позволяет выявить глубину повреждения гепатоцитов. Морфологические изменения печени находятся в прямой зависимости от результатов микрохимических изменений активности ферментов. По мере развития дистрофических и инфильтративных изменений в печени ферментативная активность снижается [129].

Наиболее часто при диагностике поражений печени контролируют аминотрансферазы - АсАТ и АлАТ. Активность аминотрансфераз часто повышается у больных с повреждением клеток печени, вызванными лекарствами и гепатотоксическими веществами, а также при сердечной недостаточности, остром панкреатите, гемолитических состояниях, различных инфекциях [130, 85, 54].

Учитывая данные нашей работы, можно с уверенностью сказать, что противопаразитарный препарат ниацид не оказывает отрицательного влияния на показатели активности таких ферментов, как аланинаминотрансфераза и аспаратаминотрансфераза. Уменьшение активности АлАТ к 21 дню исследований не может являться показателем развития устойчивого патологического процесса в печени, т.к. через 30-35 дней с начала опыта наблюдается стабилизация уровня АлАТ относительно показателей контрольной группы свиней.

Тем не менее, нельзя отрицать и то, что изменение уровня АлАТ в сторону уменьшения, т.е. замедление процесса переноса аминокислоты между аминокислотой и кетокислотой, может служить показателем определенного нарушения белкового обмена животных в первые недели после введения им препарата.

Не менее важным для определения функционального состояния печени является изменение уровня непрямого и прямого билирубина. Например, возрастание концентрации прямого билирубина в сыворотке крови связано с нарушением при гепатитах нормальных процессов экскреции желчи и частичным поступлением его вместо кишечника в кровь. Достаточно постоянные показатели как прямого, так и непрямого билирубина в течение всего эксперимента еще раз доказывают безвредность препарата ниацид и отсутствие отрицательного действия на физиологические функции печени.

Белковый обмен у животных неразрывно связан с метаболизмом азота в организме. Подавляющая часть поступающих с пищей атомов азота в конечном итоге выводится из организма в виде мочевины, на долю которой приходится около половины азота низкомолекулярных веществ в крови и 80-90 % в моче. Увеличение содержания мочевины в крови наступает в результате усиленного распада тканей, при травме, лихорадочных состояниях или при большом поступлении белков с пищей и является одним из главных признаков нарушения функции почек [29]. Повышение уровня мочевины сыворотки крови может носить и внепочечный характер: при потере жидкости (обезвоживание, рвота, понос), при усиленном распаде белков (острая желтая атрофия печени, тяжелые заболевания). Уменьшение содержания мочевины в сыворотке крови может наблюдаться при заболеваниях печени (паренхиматозная желтуха, цирроз печени) из-за нарушения синтеза мочевины в печени [85].

Проведенные нами исследования, показывают, что изменений в содержании мочевины в сыворотке крови в течение всего срока эксперимента не наблюдалось, следовательно, препарат не проявил свойств, вызывающих нарушение функционального состояния почек.

Наибольший интерес представляет собой воздействие авермектинов на иммунологический статус организма, так как это напрямую связано с устойчивостью животных к заболеваниям как заразной, так и незаразной этиологии. Имеющаяся в литературе информация показывает неопределенность сведений по влиянию авермектинсодержащих препаратов на организм. Так у животных обработанных ивомеком, через 6 недель отмечается достоверная стимуляция синтеза гемоглобина, высокое гематокритное число, лейкоцитоз и моноцитоз; цидектином - лейкоцитоз, лимфоцитоз и эозинопения; аверсектом - более высокий уровень гемоглобина [126].

Наиболее существенное (ингибирующее) влияние препараты авермектинового ряда оказывают на функциональные свойства иммунокомпетентных клеток, в частности, ФГА-стимулированную пролиферацию (Т-система) и фагоцитоз [126].

Установлено, что под действием антипаразитарных препаратов (ивомек, фармацин) снижается относительное и абсолютное содержание компонентов Т- и В-клеточного звена иммунной системы, рост внутриклеточной миелопероксидазы нейтрофилов, циркулирующих иммунных комплексов на фоне умеренного лейкоцитоза и лимфоцитоза [124].

По данным некоторых авторов [41], ингибирующее действие препаратов на иммунокомпетентную систему сохраняется до 6 нед., соответственно этому наблюдаются многие из вышеперечисленных признаков.

В нашей работе не было обнаружено значимых отклонений от физиологических норм после введения ниацита свиньям в течение 5 нед. после инъекции. Это дает основание сделать вывод о том, что данный препарат не оказывает иммунотоксического действия на организм животных. Более того, увеличение уровня бактерицидной активности сыворотки крови предполагает наличие иммуностимулирующего эффекта после введения препарата. Действительно, в связи с тем, что бактерицидная активность сыворотки крови является отображением финальных противомикробных процессов, вызванных гуморальными факторами естественной резистентности, включающими кроме лизоцима такие факторы как комплемент, пропердин, естественные антитела, иммуноглобулины, простогландины, лейкотриены, интерферон и множество других литических факторов, можно отметить положительное влияние препарата на некоторые компоненты иммунной системы животных.

При исследовании липидного состава петролейно-эфирной фракции *S. avegmitilis* установлено, что основными классами липидов являются свободные жирные кислоты (64,10%) и эфиры стеринов (28,94%). Другие фракции (моно-, ди-, триглицериды, свободные стерины и фосфолипиды) находятся в низких концентрациях или совсем отсутствуют.

Данные по изучению липидного состава разных видов стрептомицетов [83, 82, 81] показывают, что они различаются по качественному и количественному составу. Эти различия зависят также от состава питательной среды и соотношения в ней различных компонентов, но тем не менее, преобладающим

классом являются стерины и триглицериды.

Исследования по изучению действия микробных метаболитов как биоантиоксидантов [84, 35, 36, 25, 39, 57] объясняют этот эффект снижением уровня свободнорадикальных процессов, повышением энергетических возможностей организма и др.

Согласно современным представлениям процессы окисления липидов протекают в организме по свободнорадикальному и ферментативному типу, причем эти два вида окисления находятся в конкурентных отношениях [26]. Продукты, свободнорадикального окисления (СРО) липидов образуются в норме в небольшом количестве и являются регуляторами нормальных метаболических процессов [27]. Промежуточные продукты СРО (липидные гидроперекиси) нетоксичны и оказывают физиологическое действие: участвуют в регулировании проницаемости мембран, их липидного состава, скорости роста клеток и т.д. Конечные продукты СРО (альдегиды, кетоны, окисленные жирные кислоты и т.д.) оказывают токсическое действие за счет связывания биополимеров, необратимой инактивации ферментов, необратимых повреждений мембран, нарушений митозов и т.д. [39].

Если механизм окисления сдвигается в сторону преобладания свободнорадикальных процессов, что наблюдается в экстремальных условиях, стрессе, старении и т.д., то отмечается токсическое действие конечных продуктов СРО. Уровень свободных радикалов увеличивается, они окисляют все новые субстраты и процесс становится неуправляемым [84].

Губительное действие продуктов СРО заключается в инактивации сульфгидрильных групп белков, подавлении в клетках окислительного фосфорилирования, деформации и разрушении митохондрий и т.д. Происходит неспецифическое нарушение целостности и функционирования биологических мембран и, как следствие, нарушения метаболизма и деления клеток [84].

На уровне целого организма наблюдается уменьшение массы тела, расстройство функции желудочно-кишечного тракта, дистрофические процессы, снижение продуктивности, воспроизводительной функции и т.д.

Регуляторами процессов окисления в организме и смещения их в сторону ферментативных реакций являются биоокислители или биоантиоксиданты. Это соединения способны в малых концентрациях тормозить свободнорадикальное окисление энергетических субстратов, в первую очередь ненасыщенных жирных кислот, углеводов, некоторых аминокислот и т.д. Иными словами, физиологическая роль антиоксидантов заключается в осуществлении реакций ферментативного окисления [57, 25].

Работами ряда ученых установлено, что скорость деления клеток существенно зависит от структуры клеточных мембран на которые, в свою очередь оказывает влияние интенсивность перекисного окисления липидного биослоя. Поэтому многие авторы [33, 34, 57, 69] высказывают мысль, что канцерогенное действие различных агентов связано с образованием в организме свободных радикалов, которые нарушают процессы клеточного деления. Экспериментально доказано, что, например, при облучении, возникают свободные радикалы, которые вызывают реакции, несвойственные организму в норме. При этом нарушается целостность клеточных структур, что, в конечном счете, приводит к возникновению опухолей [33]. Поэтому вещества, способные оказать влияние на скорость свободнорадикальных процессов, проявляют определенный противоопухолевый эффект.

Учитывая вышесказанное и принимая во внимание результаты наших исследований по изучению антиокислительной активности липидной фракции *Streptomyces avermitilis*, можно с определенной уверенностью говорить, что данные метаболиты обладают значительной антиоксидантной активностью и могут служить основой для изготовления препаратов, уменьшающих СРО и, следовательно, восстанавливающих гомеостаз организма в критических ситуациях (стресс, заболевания, гипотрофия и т.д.).

Заслуживает особого внимания также впервые обнаруженный нами анаболический эффект при испытании воздействия липидов (петролейно-эфирная фракция из мицелия) *Streptomyces avermitilis* на микро- и макроорганизмы.

Показано, что данная фракция в дозе 10 мг/кг массы животных оказывает

существенное влияние на прирост массы мышей – на 12,5% больше массы мышей контрольной группы, доза 1 мг/кг не вызывает стимуляцию роста живой массы мышей.

Эти данные согласуются с имеющейся информацией, свидетельствующей о том, что среднесуточный прирост свиней, получавших липидные фракции различных микроорганизмов, был значительно выше, чем в контроле [114].

Основываясь на полученных данных можно говорить о повышении интенсивности белкового обмена под влиянием липидной фракции *Streptomyces avermitilis*. Высокая энергия роста опытных животных не сопровождается снижением иммунобиологической реактивности организма, о чем свидетельствует увеличение уровня лизоцима и бактерицидной активности сыворотки крови свиней.

Анализируя данные литературы по результатам применения микробных метаболитов для коррекции иммунного ответа у животных, можно отметить, что препараты оказывают определенное стимулирующее влияние на факторы неспецифической защиты и иммунологическую реактивность организма [47, 68, 78]. Так, в группах с использованием липидов, наблюдается более интенсивный по сравнению с контролем прирост живой массы, что коррелирует с высоким уровнем альбуминов в сыворотке крови. О повышении неспецифической резистентности организма свидетельствует также увеличение уровня гамма-глобулинов, лизоцима, бактерицидной активности сыворотки крови.

В нашем эксперименте, как было сказано выше, наблюдалось увеличение уровня лизоцима и бактерицидной активности сыворотки крови мышей, что можно связать с иммуноактивными свойствами липидной фракции *S. avermitilis*. Наибольшие изменения наблюдаются в группе, которой вводились липиды в концентрации 1 мг/кг. Дальнейшее увеличение концентрации препарата (10 мг/кг) не вызывает пропорционального возрастания эффекта, что говорит о высокой биологической активности липидной фракции. Подобный эффект отмечен Т. Н. Раковой при испытании липидной фракции микроорганизма *Streptomyces griseus*.

Таким образом, в результате проведенной работы показано, что противопаразитарный препарат ниацид, содержащий в качестве ДВ натуральные авермектины, обладает высокой противопаразитарной активностью против гельминтозов свиней в дозе 1мл/50 кг массы животных. Препарат практически не влияет на физиологическое состояние организма свиней. Это подтверждено экспериментальными данными, полученными при изучении влияния препарата на гематологические, биохимические и иммунологические показатели опытных и контрольных животных.

Значительный интерес для дальнейшего исследования представляют липиды биомассы продуцента авермектинов. Обладая выраженной биологической активностью, эти соединения могут найти практическое применение в качестве основы соответствующих препаратов.

Кроме того, последовательное извлечение авермектинов и липидов из биомассы *Streptomyces avermitilis* в процессе получения авермектинсодержащих противопаразитарных препаратов позволит резко уменьшить вредное воздействие на окружающую среду.

IV. ВЫВОДЫ.

1. В результате проведенных нами исследований установлено, что препарат ниацид хорошо переносится животными, не оказывает местнораздражающего действия. Биохимические, гематологические и иммунологические показатели сыворотки крови свиней находятся в пределах физиологической нормы. В то же время отмечено, что бактерицидная активность сыворотки крови зараженных животных после обработки ниацидом достоверно повышается с $44,86 \pm 5,50\%$ до $87,15 \pm 14,95\%$.

2. Противопаразитарный препарат ниацид, содержащий в качестве действующего вещества натуральные авермектины в концентрации 0,35-0,4 %, обладает высокой антгельминтной активностью. Экстенсивность препарата при лечении смешанных гельминтозов свиней (эзофагостомоз, аскаридоз, трихоцефалез, стронгилоидоз) в дозе 1 мл на 50 кг массы животного составляет 84,6-100%.

3. Развитие продуцента авермектинов *Streptomyces avermitilis* в глубинных условиях происходит по классической сигмоидной кривой, наибольшая активность биосинтеза биологически активных веществ (авермектинов, липидов) наблюдается к 72-120 часам после начала культивирования. Концентрация авермектинов в спиртовом и петролейно-эфирном экстрактах из биомассы *S. avermitilis* составляет 393,80 мкг/мл и 176,25 мкг/мл, соответственно.

4. Петролейно-эфирный экстракт биомассы *Streptomyces avermitilis* содержит следующие классы липидов: свободные жирные кислоты (64,10%), эфиры стеринов (28,94%), свободные стерины (3,48%), триглицериды (2,24%). Фосфолипиды, моно- и диглицериды отсутствуют или содержатся в низких количествах.

5. Липиды биомассы *Streptomyces avermitilis*, экстрагируемые петролейным эфиром (40-70°), обладают значительной антиоксидантной активностью, степень подавления процессов свободнорадикального окисления в модельных системах с олеиновой кислотой достигает 46,9%.

6. Показано ростстимулирующее действие липидной фракции биомассы *Streptomyces avermitilis* на макро- и микроорганизмы. Скорость роста опытных лабораторных животных (мышей), обработанных липидами, на 12,5% выше по сравнению с контролем. Скорость развития микроорганизма *E. coli* на МПБ с добавлением липидов повышается на 25,63% по сравнению с контролем.

7. Петролейно-эфирная фракция биомассы микроорганизма *S. avermitilis* в дозе 1 мг/кг массы животного оказывает стимулирующее влияние на иммунный статус лабораторных животных (мышей). Уровень лизоцима увеличивается до $661,11 \pm 12,30$ мкг/мл (контроль - $430,00 \pm 20,00$ мкг/мл), бактерицидная активность сыворотки крови увеличивается до $44,45 \pm 1,34\%$ (контроль - $4,12 \pm 0,35\%$).

8. Выделение липидов из биомассы микроорганизма *Streptomyces avermitilis* в процессе биосинтеза авермектинов позволяет не только получить новые биологически активные компоненты, но и резко уменьшить вредное воздействие отработанного мицелия на окружающую среду.

V. Сведения о практическом использовании результатов исследований.

1. Результаты, полученные при оценке эффективности разных доз противопаразитарного препарата ниацид при лечении гельминтозов свиней, использованы для внесения изменений в наставление № ПВР-2-1.9/00039 от 06 мая 1999г по применению препарата.

2. Результаты исследований по изучению безвредности и эффективности препарата ниацид в качестве антипаразитарного средства при лечении гельминтозов свиней внедрены в ветеринарную практику ЗАО Агрофирма «Белая дача» и других хозяйств.

VI. Рекомендации по использованию научных выводов.

Для более полного извлечения биологически активных веществ из биомассы *Streptomyces avermitilis*, являющейся отходом при получении авермекти-

нов, и соответствующего уменьшения вредного воздействия на окружающую среду, извлекают липиды, которые рекомендуются для использования в ветеринарии в качестве ростстимулирующего и иммуномодулирующего средства.

VII. Библиографический список.

1. Айзина А. Ф. Хроматографическое изучение биологически активных фракций актиномицетов и грибов: Автореф. дис. канд. биол. наук. - КИШИНЕВ, 1974. - 23 с.
2. Акильжанов Р. Р. Эффективность ивомека при буностомозе и эймериозе овец//Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных. -Иваново, 1991. - С.6-8
3. Антибиотики и антибиоз в сельском хозяйстве. Пер. с англ. - М.: Колос, 1981. - 360 с.
4. Антипов А. А. Сравнительная эффективность некоторых антгельминтиков при метастронгилезе свиней//Материалы научн. конф. «Легочные и желудочно-кишечные нематодозы человека и животных и меры борьбы с ними». - М., 1993. - С.8
5. Апалькин В. А., Пономарев Н. М. Лечебная и экономическая эффективность ивомека в животноводстве Горного Алтая//Профилактика гельминтозов животных. - Новосибирск, 1991. - Вып.2. - С. 26-31
6. Апалькин В. А., Корешков Н. М. Эффективность Ивомека при гиподерматозе // Профилактика паразитарных болезней животных ивермектином. - Новосибирск, 1991. - С. 15-16
7. Апалькин В. А., Пономарев Н. М. Эффективность Ивомека при паразитозах жвачных животных//Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с инфекционными болезнями животных. - Новосибирск, 1992. - С. 111-112
8. Апухтин Г. И., Царенко А. Ф., Петряков Ю. Н. О лечебной и профилактической эффективности кормогризина//Ветеринария. - 1971. - №10. - С. 88
9. Артемов Б. Т., Ракова Т. Н., Ефанова Л. И. Использование адьювантов в системе специфической профилактики болезней молодняка свиней//Тез. докл. Всесоюз. конф. "Профилактика болезней молодняка в животноводческих

комплексах". - Воронеж, 1981. - С.90-91

10. Артемов Б. Т., Ракова Т. Н., Ефанова Л. И., Кузьмин А. В., Жмуров Н. Г., Ляпина Т. Е. Новые перспективы использования культуры *Str. griseus* в животноводстве//Тез. 7-го съезда Всесоюзн. микр. об-ва. - Алма-Ата, 1985. - С.8

11. Артемов Б. Т., Ракова Т. Н., Ковальчук Л. П., Ефанова Л. И., Бурцева С. А. Влияние микробных метаболитов *Str. griseus* 15 на иммунологическую реактивность свиней при комплексной вакцинации//Микробные препараты и их применение в сельском хозяйстве. - Кишинев, 1981. - С.30-39

12. Архипов И. А. Определение терапевтической эффективности антгельминтиков//Бюл. ВИГИС. - М., 1991. - Вып.55. - С. 3-6

13. Архипов И. А. Пролонгированное действие ивомека против микроонхоцерк крупного рогатого скота//Бюл. ВИГИС. - М., 1987. - Вып.47. - С. 5-8

14. Архипов И. А. Пути снижения экологического риска при применении антигельминтиков в ветеринарии//Тезисы докл. Объединенной сессии центрального совета ВОГ и секции "Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных" отделения ветеринарной медицины РАСХН. - М., 1992. - С. 3-4

15. Архипов И. А., Аксенова И. Н., Земелов В. А. Эффективность дуотина против эндо- и эктопаразитов крупного рогатого скота//Ветеринария. - 1995. - №2. - С. 38-39

16. Архипов И. А., Архипова Д. Р. Эффективность ивомека при гельминтозах крупного рогатого скота//Бюл. ВИГИС. - М., 1990.- Вып.54. - С. 3-8

17. Асеев И. В., Широков А. Г. Аминокислотный состав кормогризина, витаминина и актиномицетов - продуцентов этих препаратов//Тез. докл. науч. конф. по применению микробных метаболитов в животноводстве. - Кишинев, 1963. - С.69-71

18. Асонов Н. Р. Микробиология. - 4-е изд. - М.: Колос, 2001. - 352с.

19. Ахрем Л. А., Титов Ю. А. Стероиды и микроорганизмы. - М., 1970. - 526 с.

20. Баев А. А. Биотехнология. - М.: Наука, 1984. - 353с.

21. Багамаев В. М., Водянов А. А. Эффективность цидектина при психо-

роптозах животных//Актуальные проблемы медицинской и ветеринарной паразитологии. - Витебск, 1993. - С. 103

22. Баджинян С. А. Роль липидов в процессах взаимодействия мембранных структур с эндогенными физиологически активными веществами: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. - М., 1985. - 40 с.

23. Бережная П. П., Степурин Г. Ф., Степурина З. К. и др. Эффективность скармливания витамина В₁₂ и кормогризина молодняку свиней//Использование микроорганизмов в народном хозяйстве. - Кишинев, 1965. - С.39-44

24. Бережная П. П., Степурин Г. Ф., Степурина З. К. Эффективное применение кормового гризина при откорме свиней//Науч. тр./Кишиневский с.-х. ин-т. - 1964. - Т.35. - С.169-172

25. Биоантиокислители и регуляция окислительных процессов в клетке. - М.: Изд-во МГУ, 1972. - 98 с.

26. Биоантиокислители. - М.: Наука, 1975. - 266 с.

27. Биоантиокислители. - М.: Наука, 1982. - 240 с.

28. Биосинтез и метаболизм липидов у микроорганизмов//Тез. докл. II-й Всесоюз. конф. - М., 1982. - 267 с.

29. Биохимические методы исследования в клинике/Под ред. А. А. Покровского. - М.: Медицина, 1969. - 652 с.

30. Богуславский В. М., Разумовский П. Н., Семанин Г. С. О биологической активности химических фракций из мицелия актиномицетов//Использование микробных метаболитов в народном хозяйстве. - Кишинев, 1966. - С.39-40

31. Божко В. И., Шевченко А. К. О механизме действия кормогризина на организм поросят-сосунов//Использование микробных метаболитов в народном хозяйстве. - Кишинев, 1966. - С.51-52

32. Бородина Р. А. Некоторые физиолого-биохимические особенности актиномицетов и грибов при развитии на средах с углеводородами // Физиология микроорганизмов. - Ташкент, 1970. - С.145-147

33. Бурлакова Е. Б. Исследование физико-химических свойств липидов при некоторых патологических состояниях: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. - М., 1969. - 44 с.
34. Бурлакова Е. Б., Архипова Г. В., Голошапов А. Н., Молочкина Е. М., Хохлов А. П. Мембранные липиды как переносчики информации//Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. - М., 1982. - С.74-83.
35. Бурцева С. А. Микробные биоантиоксиданты липидной природы: Автореф. канд. биол. наук - М., 1986. - 14 с.
36. Бурцева С. А., Ковальчук Л. П. Антиоксидантные свойства биологически активных липидов актиномицетов//Тез. Всес. совещ. "Биоантиоксидант". - Черногоровка, 1983. - С.190
37. Бурцева С. А., Ракова Т. Н. Итоги и перспективы применения некоторых микробных препаратов в условиях специализированных хозяйств//Тез. докл. респуб. конф. "Задачи молодых ученых Молдавии по повышению эффективности науки в условиях специализации и концентрации сельского хозяйства." - Кишинев, 1978. - С.38-39
38. Василевская И. А. Актиномицеты - продуценты биологически активных веществ. - Киев, 1979. - 35 с.
39. Владимиров Ю. А., Арчаков А. М. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука, 1972. - 252 с.
40. Волков Ф. А., Апалькин В. А., Козяков В. С. Эффективность ивомека при паразитозах телят//Профилактика паразитарных болезней животных ивермектином. - Новосибирск, 1991. - С. 8-14
41. Волков Ф. А., Апалькин В. А. Ивермектин в ветеринарии. - Новосибирск, 1995. - 43с.
42. Волков Ф. А., Димов С. К., Апалькин В. А. Эффективность применения ивомека при паразитарных болезнях крупного рогатого скота//Ветеринария. - 1994. - №4. - С. 32-34
43. Волков Ф. А., Козяков В. С. Эффективность ивомека при диктио-

каулезе телят//Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с инфекционными болезнями животных. – Новосибирск, 1992. – С. 90-94

44. Волков Ф. А., Тарасов В. В., Шевченко С. В., Апалькин В. А. Эффективность пурона при паразитозах телят//Профилактика паразитарных болезней животных ивермектином. - Новосибирск, 1991. - С. 22-26

45. Волков Ф.А. Экологическая безопасность применения ивомека в свиноводческих хозяйствах//Ветеринария. - 1993.- №7. - С. 35-35

46. Волкова Г. Н. Эффективность универма при аскаридозе свиней//Ветеринария. - №9. - С. 38

47. Воробьев А. А., Васильев Н. Н. Адьюванты (неспецифические стимуляторы) иммуногенеза. - М.: Медицина, 1969. - 206 с.

48. Гаврилова О. А. Изучение эффективности кормогризина в птицеводстве//Антибиотики в животноводстве и ветеринарии. - М., 1963. - С.58-61

49. Гаврилова О.А. Гризин при откорме цыплят и утят//Птицеводство. - 1962. - №12. - С.17-18

50. Гаврилова О. А. Повышение продуктивности животных при использовании отечественных препаратов микробиологического синтеза (кормогризин, витаминин, кормарин): Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. с.-х. наук. - Горки, 1971. - 35 с.

51. Гаджиев И. М. Влияние антгельминтиков ивермектина, албендазола и фенотиазина на эмбриогенез и генетическую структуру животных: Автореферат кандидатской диссертации. - М., 1985. - 22 с.

52. Гаркавенко А. И., Ковальчук Л. П. Образование витамина В₁₂ культурой *Act. griseus* 15//изв. АН МССР. Серия биол. и хим. наук. - 1962. - №7. - С.2-7

53. Гаркавенко А. И., Ковальчук Л. П., Духовная А. М. Образование витаминов группы В культурами *Act. rimosus* 118, *Act. griseus* 15 и *Act. aureoverticillat.* 1306//Тез. докл. науч. конф. по применению микробных метаболитов в животноводстве. - Кишинев, 1963. - С.69-71

54. Гладских Л. В. Динамика изменений активности некоторых фер-

ментов в крови при острой печеночной недостаточности//Вопросы ветеринарной биологии. - М., 1994. - С. 107-108

55. Головкина Л. П. Применение фармацина (аверсекта) против *Psoroptes ovis*//Ветеринария. - 1996. - №7. - С. 38

56. Грибанов Г. А. Структура и биологическое значение фосфолипидов//Успехи современной биологии. - 1975. - Т.80. - Вып.3(6). - С. 382-398

57. Губский Ю. И. Регуляция перекисного окисления липидов в биологических мембранах//Биохимия животных и человека. - 1972. - №2. - С.72-85

58. Даугалиева Э. Х., Абрамов В. Е. Эффективность ивомека при трихоцефалезе овец//Бюл. ВИГИС. - М., 1994. - Вып. 38. - С. 5-7

59. Даугалиева Э. Х., Филиппов В. В. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных. - М.: Агропромиздат, 1991. - С. 137-139

60. Донец А.Т. Изучение биосинтеза липидов у некоторых сопрофитных микробактерий: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. - Саратов, 1971. - 23 с.

61. Дриняев В. А., Стерлина Т. С. Авермектины: естественная изменчивость штамма – продуцента *Streptomyces avermitilis* ВКМ Ас 1301//Биотехнология. – 1993. - №11-12. – С.21-25

62. Дриняев В. А., Стерлина Т. С., Березкина Н. Е. Авермектины: селекция штамма – продуцента *Streptomyces avermitilis* ВКМ Ас 1301. Получение естественного мутанта//Биотехнология. – 1994. - №2. – С.16-18

63. Дриняев В. А., Стерлина Т. С. Авермектины: получение индуцированных мутантных штаммов *Streptomyces avermitilis* и их свойства//Биотехнология. – 1994. - №4. - С.17-20

64. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках. - М.: Высшая школа, 1986. - 437 с.

65. Емцев В. Т., Мишустин Е. Н. Микробиология. – 4-е изд. – М.: Колос, 1993. – 383с.

66. Ермольева З. В. Экспериментальное изучение и клиническое при-

менение лизоцима//Антибиотики. – М., 1963. - №1. - С.39-45

67. Ерхан Д. К. Эпизоотология стронгилоидоза крупного рогатого скота в Молдавии и меры борьбы//Возбудители и переносчики паразитов и меры борьбы с ними. - Алма-Ата, 1988. - С. 73

68. Жмуров Н. Г. Влияние адьювантов на содержание Т- и В-лимфоцитов в крови поросят при комплексной вакцинации//Диагностика и профилактика инфекционных болезней сельскохозяйственных животных. - Воронеж, 1986. - С.27-32

69. Журавлев А. И. Биоантиокислители в животном организме // Биоантиокислители. - М., 1975. - С.15-29

70. Журавлев А. И., Новиков В. Э. Методические указания к лабораторному практикуму по общей биофизике. Свободнорадикальное окисление липидов. – М., 1982. - Ч.3. – С.47-51

71. Залашко М. В. Биосинтез липидов дрожжами. - Минск, 1971. - 216 с.

72. Златоуст М. А. Влияние продуктов метаболизма *Act. griseus* 15 и *Act. aurigineus* 2377 на рост и развитие некоторых микроорганизмов: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. - Кишинев, 1970. - 23с.

73. Златоуст М. А., Разумовский П. Н., Чебан Е. Г. Стимулирующее действие микробных метаболитов на молочнокислые микроорганизмы//Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. - 1965. - №10. - С.36-48

74. Зотова В. С. Применение кормовых антибиотиков при выращивании кроликов//Химизация животноводства. - Минск, 1965. - С.99-102

75. Карпуть И. М. Иммунная реактивность свиней. - Минск: Ураджай, 1981. - 142 с.

76. Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии/И. П. Кондрахин, Н. В. Курилов и др.; - М.: Агропромиздат, 1985. - 286 с.

77. Ковальчук Л. П. Биологически активные вещества *Act. griseus* 15, *Act. aureovercillatus* 1306, *Act. aurigineus* 2377: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. – Саратов, 1970. - 24 с.

78. Ковальчук Л. П., Бурцева С. А., Артемов Б. Т., Ракова Т. Н., Ефанова Л. И. Получение микробных метаболитов и использование их в качестве стимуляторов иммуногенеза//Тез. докл. Пятого Всесоюз. симпозиума по целенаправленному изысканию физиологически активных веществ. - Рига, 1983. - С.105-106

79. Ковальчук Л. П., Гаркавенко А. И., Духовная А. М. Динамика накопления витаминов в *Act. griseus* 15 и *Act. aurigineus* 2377//Биологически активные вещества микроорганизмов. - Кишинев, 1970. - С.3-8

80. Ковальчук Л. П., Гаркавенко А. И., Духовная А. М. Сравнительное изучение биосинтеза витаминов группы В культурами *Act. griseus* 15, *Act. aureoverticillatus* 1306, *Act. aurigineus* 2377//Использование микроорганизмов в народном хозяйстве. - Кишинев, 1968. - С.23-27

81. Ковальчук Л. П., Гаркавенко А. И., Духовная А. М., Савченко Л. Ф. Образование липидов некоторыми актиномицетами//Изв. АН МССР Сер. биол. и хим. наук. - 1968. - №5. - С.3-7

82. Ковальчук Л. П., Гаркавенко А. И., Савченко Л. Ф., Разумовский П. И. Состав суммарных липидов некоторых актиномицетов в зависимости от питательной среды//Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. - 1971. - №3. - С.43-48

83. Ковальчук Л. П., Донец А. Т., Бурцева С. А. Липиды актиномицетов. - Кишинев: Штиинца, 1979. - 103 с.

84. Козлов Ю. П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и при патологии//Биоантиокислители. - М., 1975. - С.5-14

85. Колб В. Г., Камышников В. С. Биохимические показатели и их интерпретация при заболеваниях печени//Здравоохранение Белоруссии. -1985. - №2. - С. 63-68

86. Колесников В. И., Вашкатов Г. А., Ремез В. И., Терехова Е. А. Эффективность ивомека при некоторых гельминтозах и арахноэнтомозах//Болезни овец в Ставропольском крае. - Ставрополь, 1991. - С. 133-141.

87. Колесников В. И., Оробец В. А. Эффективность аверсекта при гельминтозах овец//Материалы докл. научн. конф. "Легочные и желудочно-

кишечные нематодозы человека и животных и меры борьбы с ними". -М., 1993.
- С. 39

88. Коронелли Т. В. Липиды микробактерий и родственных микроорганизмов. - М.: Изд-во МГУ, 1984. - 156 с.

89. Котельников Г. А. Диагностика гельминтозов животных. - М.: Колос, 1974. - 240 с.

90. Котельников Г. А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: Справочник. - М.: Колос, 1983. - 208с.

91. Красильников Н. А. Лучистые грибки. Высшие формы. - М.: Наука, 1970. - 535 с.

92. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. - М.: Изд-во АН СССР, 1949. - 830 с.

93. Кузнецов А. Ф. Лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови у свиней в промышленных комплексах//Науч. тр. / Ленинградский вет. ин-т. - 1975. - Вып. 45. - С.91-96

94. Липиды в организме животных и человека. - М.: Наука, 1974. -144 с.

95. Липицкий С. С. Производственное испытание ивомека//Вет. наука - производству. - Минск, 1990. - Вып. 28. - С. 136-138

96. Липиды: Структура, биосинтез, превращения и функция. - М.: Наука, 1987. - 182 с.

97. Мамаев Н. Х., Голин П. И., Омарова М. В. Ивомек при гиподерматозе//Ветеринария. - 1988. - № 12. - С. 44-45

98. Мирзаев М. Н., Девришов Д. А., Савченков С. Н. Эффективность и безвредность ниацида//Ветеринария. - 1997. - №9. - С.26-27

99. Мирзаев М. Н., Савченков С. Н., Девришов Д. А., Воронин Е. С. Новый антипаразитарный препарат ниацид//Тез. докл. Всерос. науч. конф. - М., 1996.

100. Никулин Т. Г., Шевцов А. А. Осложнения у животных при противопаразитарных обработках. - М., 1984.

101. Новицкая Г. В. Методическое руководство по тонкослойной хроматографии фосфолипидов. - М.: Наука, 1972. - 63 с.
102. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т.2: Пер. с англ./Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. - М.: Мир, 1997. - 368с.
103. Определитель актиномицетов. Роды *Streptomyces*, *Streptoverticillium*, *Chainia*/Г. Ф. Гаузе, Т. П. Преображенская, М. А. Свешникова и др. - М.: Наука, 1983. - 248 с.
104. Павлов С. Д., Окунев А. М. Сравнительная оценка препаратов системного действия при гиподерматозе крупного рогатого скота//Сибирский вестник с.-х. науки. - 1990. - №6. - С. 66-69
105. Петрова И. С. Протеолитические ферменты актиномицетов. - М.: Наука, 1976. - 60 с.
106. Пивняк И. Г. Микробиологический синтез антибиотиков и каротинов для использования в животноводстве: Автореф. дис. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. - Дубровицы, 1977. - 29 с.
107. Прасолов А. И., Ракова Т. Н., Ковальчук Л. П., Бурцева С.А. О механизме стимулирующего действия кормогризина на воспроизводительную систему животных//Диагностика и терапия незаразных болезней сельскохозяйственных животных. - Воронеж, 1986. - С.94-101
108. Применение кормогризина в животноводстве. - М.: Межэкспорт, 1984. - 35 с.
109. Разумовский П. Н., Атаманюк Д. И., Златоуст М. А., Якимова Г. И. Действие биологически активных веществ на микроорганизмы. - Кишинев: Штиинца, 1975. - 159 с.
110. Разумовский П. Н., Ковальчук Л. П. Упрощенный метод получения стероидных фракций из мицелия актиномицетов//Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. - 1972. - №1. - С.80-82
111. Разумовский П. Н., Ковальчук Л. П., Бурцева С. А., Ядовина В. Н. Биологическое действие липидных фракций актиномицетов//Прикладная мик-

робиология и биохимия. - 1978. - Т.14. - №3. - С.383-387

112. Разумовский П. Н., Семанин Г. С., Айзина А. Ф., Холмецкая В. Г. Сравнительное изучение влияния препаратов ПЭФАГ и некоторых гормонов на минеральный и стероидный обмен у животных//Изв. АН МССР. Сер. биол. и хим. наук. - 1968. - №5. - С.45-53

113. Разумовский П. Н., Якимова Г. И. О стимулирующем действии микробных метаболитов и некоторых химически чистых веществ на *Paramecium caudatum*//Изв. АН МССР. Сер. хим. и биол. наук. - 1965. - №10. - С.30-35

114. Ракова Т. Н. Экспериментальное обоснование и практический аспект нового направления использования культур стрептомицетов в ветеринарии: Автореф. дис. докт. ветеринар. наук. – Воронеж, 1989. – 46с.

115. Ракова Т. Н. Данные по вопросу применения петролейно-эфирной фракции из мицелия *Act. griseus* 15 в свиноводстве//Вопросы технологии, племенного дела и физиологии животных при промышленном ведении животноводства в ЦЧЗ. - Воронеж, 1974. - С.110-116

116. Ракова Т. Н. О механизме анаболического действия препарата ПЭФАГ//Действие биологически активных веществ на макроорганизмы. - Кишинев, 1975. - С.40-50

117. Ракова Т. Н. Петролейно-эфирная фракция//Свиноводство. -1971. - №9. - С.32-33

118. Рославцева С. А. Новая группа инсектоакарицидов и нематоцидов//Агрохимия. – 1987. - №7.

119. Савченков С. Н., Мирзаев М. Н., Девришов Д. А. Некоторые особенности технологии получения авермектов//Биотехнология. – 1997. - №3. - С.35-38

120. Самуйленко А. Я., Рубан Е. А. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. – М.: Россельхозакадемия, 2000. – Т.1. – 375 с.

121. Сафиуллин Р. Т. Антгельминтная и экономическая эффективность ивомека при кишечных нематодозах свиней//Научно-технический бюл. СО

ВАСХНИЛ. - 1986.- Вып. 18-19. - С. 57-60

122. Сафиуллин Р. Т. Эффективность и экономичность ивомека при смешанных инвазиях свиней//Бюл. ВИГИС. - М., 1986. - Вып. 4-6. – С. 37-42

123. Сафиуллин Р. Т. Эффективность цидектина, ивомека и пиперазина при кишечных нематодозах свиней//Материалы докл. науч. конф. "Легочные и желудочно-кишечные нематодозы человека и животных и меры борьбы с ними". - М., 1993. - М. 76-77

124. Сивков Г. С., Яковлева В. В. Влияние ивомека и фармацина на показатели иммунного ответа у животных//Ветеринария. – 1998. -№5

125. Симецкий М. А., Удавлиев Д. И., Филиппов В. В., Митасов А. М., Таланов Г. А., Мосин В. А., Кругляк Е. Б., Дриняев В. А., Юркив В. А., Сравнительная характеристика эффективности ивомека и аверсекта//Ветеринария. - 1994.- № 1.- С. 40-42

126. Смирнов А. Г. Взаимоотношения различных видов гельминтов и их влияние на органы хозяина (на примере аскариды, власоглава и эзофагостомы свиньи) // Автореф. дис. канд. ветеринар. наук. – М., 1967. - 25 с.

127. Семенов С. М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов. Справочник. – М.: Агропромиздат, 1990. – 240с.

128. Уайт А., Хендлер Ф. Основы биохимии.- М.: Мир, 1981. - Т. 1.

129. Уша Б. В. Ветеринарная гепатология.- М.: Колос, 1979. - 263с.

130. Харкевич Д. А. Фармакология. - М.: Медицина, 1996. – 543 с.

131. Шеховцов В. С., Луценко Л. И., Мишарова Т. Е., Сумцова З. Г. Эффективность ивомека при легочных и кишечных стронгилятозах овец//Бюл. ВИГИС. - М., 1988. - Вып. 49. - С. 59-62

132. Asquith R. L., Kivipeiko J., Harvey J. W. Comparative effects and safety of ivermectin in pregnant mares//J. Equ. Vet. Sci. - 1988. - V.8. - P.32-35

133. Asquith R. L., Kulwich R. Safety and therapeutic activity of ivermectin as an equine anthelmintic//J. Equ. Vet. Sci. - 1981. - N1. - P. 18-20

134. Asquith R. L., Lane T. J., Plue R. E. The bioavailability of ivermectin in horses when administered in a liquid formulation by nasogastric intubation versus in

an oral paste//J. Equ. Vet. Sci. - 1987. - V.7. - P.28-30

135. Basn A. K., Ahmed M. J., Nawathe D. R., Srivastans G. C. Efficacy of ivermectin pour-on gastrointestinal nematode parasites of cattle//Bull. Anim. Health. and Prod. Afr. - 1992. - V 40.- P. 205-207

136. Basuade C. D. Clinical signs and biochemical change in calves caused by injection of ivermectin//Veter. Q. - 1989. - V.11. - N1. - P. 29-39

137. Bater A. K. Efficacy of oral milbemycin against naturally acquired heartworm infection in dogs//Abstr. 6 th Symp. Am. Heartworm Soc. - 1989. - P. 29.

138. Bennet D. G. Clinical pharmacology of ivermectin//J. Am. Veter. Med. Assu. - 1986. - V.189. - N1. - P.100-104

139. Bradley R. E. Dose titration and efficacy of milbemycin for prophylaxis against *Dirofilaris immitis* infection in dogs//Abstr. 6 th Symp. Am. Heartworm Soc.- 1989. - P. 26

140. Brem J. J., Bulman G. M. An assay of biochemical parameters in cattle medicated at therapeutic level with ivermectin//Vet. Argent. - 1986. - V.3. - P.365-373

141. Brokken E. S, Barth D., Foster A. G., Pulliam J. D, Wallace D. H. Ivermectin: new broad-spectrum antiparasitic agent for swine//In Proceedings of the MSD AGVET Symposium on Recent Developments in the Control of Animals Parasites, XVII World Veterinary Congress 1983. - Perth, Australia. - P.239-258

142. Button C., Barton R., Honey P., Rickford P. Ivermectin toxicity in calves and in evaluation of picrotoxin as an antidote//Austral. Vet. J.- 1988. - V.65. - P.157- 158

143. Cambell W. C., Blair L. S., Seward R.L. Ivermectin vs. heartworm: the present status. Proc. 1983 Heartworm Symp. Orlando, Fla. - P. 146-149

144. Campbell W. C. Ivermectin and abamectin. - New York, Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo, 1989. - 363 p.

145. Campbell W. C. Ivermectin, an antiparasitic agent // Med. Res. Rev. - 1993. - V.13. - N1. - P. 61-79

146. Campbell W. C. Ivermectin: An update // Parasitol. Today. - 1985. - V.

1.- N 1. – P.10-16

147. Campbell W. C., Benz G. W. Ivermectin: a review of efficacy and safety // J. Pharm. & Ther. - 1984. - V. 7. - P. 1-16

148. Campbell W. C., Fisher M. H., Starley E. G., Albers-Schonber G., Jacob T.A. Ivermectin: A potent new antiparasitic agent//Science. - 1983. - N221. - P. 923-928

149. Chiu S. H. L., Lu Y. H. Metabolism and Tissue Residues. - NY, 1989. - Ivermectin: a review of efficacy and safety. - P. 131-143

150. Chiu S. H. L., Taub R., Sestokas E., Lu A. Y. H., Jacob T. A. Comparative in vivo and in vitro metabolism of ivermectin in of steers, sheep, swine and rat // Drug Metab. Rev. - 1987. - №18. - P. 289-302

151. Corba J., Stoffa P., Andrasko H. Effect of the new anthelmintik ivomek (ivermectin, MSD) in sheep and Pigs // Veterinarstvi. - 1984. - N 34. - P. 113-114

152. Davis D. G., Inesi G., Gulik-Krzywicki T. Lipid moleculat motion and enzyme activity in sacroplastic reticulum membran. // Biochemistry. – 1976. V.15. – N6. – P. 1271–1276

153. De Channel G. C., Casey R., Dixon P. P., Besier R. B., Mitchell R. K. Effect of avermectin B₁ and benzimidazole anthelmintict on worm egg output treated cattle // Austr. Vet. J. - 1988. - N 65. - P. 85-86

154. Fink D. W., Porras A. G. Pharmacocinetics of ivermectin in animals and humans. - NY, 1989. - Ivermectin: a review of efficacy and safety. - P. 113-130

155. Fink P. Parasitological and biochemical studies in cattle treated with ivo-mec-F // Wiener Tierartl. Mon. - 1989. - N 76 (5). - P. 167

156. Herd R. P., Kociba G. J. Effect of ivermectin on equine blood constituents // Equ. Vet. J. – 1985. - N 17. - P. 142 - 144

157. Jacob T. A., Buhs R. P., Carlin J. R., Chiu S. H. L., Miwa G. T., Rosegay A. The metabolism and tissue residue profiles of ivermectin. In Proceedings of the MSD AGVET Symposium on Resent Developments in the Control of Animals Parasites, XVII World Veterinary Congress, Perth, Australia. - 1983.

158. Lions E. T., Drudge J. H., Tolliver S. C. Controlled test of anthelmintic

activity of a macrocyclic lactone (compound F28249-alpha) in lambs // *Am. J. Vet. Res.* - 1989. - V.50. - P. 975-977

159. Lo P-Ka, Fink D. W., Williams J.B., Blodinger J. Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation // *Vet. Res. Commun.* - 1985. - N9. - P. 251-268

160. Marriner S. E., McKinnon I., Bogan J. A. The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses // *J. Vet. Pharm. Therap.* - 1987. - N 10. - P. 175-179

161. McKellar Q. A., Midgley D. M., Galbraith E. A. Clinical and pharmacological properties of ivermectin in rabbit and guinea pigs // *Veter. Res.* - 1992. - V.130. - N 4. - P. 71-73

162. McKenna P. B. Persistent anthelmintic activity of topically administered ivermectin in cattle. // *New Zealand Vet. J.* - 1989. - N 47 (4). - P. 146-147

163. Miller T. W., Gullo V. P. Avermectins and related compounds // *Nat. Prod. Isol.* - 1989. - P. 347-376

164. Palmer E. The frequency of white spot lesions on the liver in slaughter pigs can be reduced with ivermectin // *Svensk Vet.* - 1989. - N41(14). - P. 853 - 855

165. Pandey V. S. Effect of ivermectin on the ear mange mite, *Psoroptes cuniculi*, of rabbit // *Brit. Veter. J.* - 1989. - V. 145. - N 1. - P. 54 - 56

166. Pulliam J. D., Preston J. M. Safety of ivermectin in target animals. - NY, 1989. - *Ivermectin: a review of efficacy and safety.* - P. 149 - 161

167. Ramblas Angeles J. A. Effectiveness of ivermectin against abomasal nematodes in cattle // *Vet.* - 1986. - N 17 (2). - P. 138

168. Schnieder T., Wheeler S., Schillinger D. Experiences with ivermectin pour on against trichostrongyle and dictyocaulus infections in first-year grazing calves // 13-te Conf. World Assoc. for Advancement of Vet. Parasitol. - 1989. - P. 4-7

169. Scott P. G., Burrows P. O., Hotson I. E., Cox J. L. Avermectin-B₁ as an anti-parasitic agent for cattle // 11-th Conf. W. Ass. Adf. Vet. Paras. - 1985. - P. 83

170. Seaman J. T., Eagleson J. S., Carrigan M. J. Avermectin B₁ toxicity in a

herd of Murray Grey cattle // Austral. Vet. J. - 1987. - V.64. - P. 284 - 285

171. Shiramizu K., Abu M., Haida D., Fukuda V. Anthelmintic effect of milbemycin D against *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis* // Jap. Vet. Bull. - 1988. - N 58. - P. 873

172. Shoop W. L. Resistance to avermectin and milbemecins // Vet. Rec. - 1992. - N 130. - P. 563

173. Tigin V., Toparian M., Coskun S. Anthelmintic efficacy of ivomec against gastrointestinal nematodes of naturally infected cattle // Vet. Pak. Dergisi. - 1987. - N 34 (1). - P. 119 - 125

174. Tohm P. Anthelmintic efficacy of milbemecini D against *Toxocara cati* and *Ancylostoma tubaeforme* in domestic cats // J. Vet. med. Sci. - 1991. - V. 53. - N 5. - P. 817 - 821

175. Wescott R. B., Parrell C. J., Gallina A. M., Poreyt W. J. Efficacy of avermectin B_{1a} for treatment of experimentally induced nematode infections in cattle // Am. J. Vet. Res. - 1980. - N 41. - P. 1326-1328

176. Witting L. A. Progress in the chemistry of fats and other lipids. - 1970. - V.9. - P. 4

177. Zimmerman G. L., Hoberg E. P., Pankavich J. A. Efficacy of nemadectin against gastrointestinal nematodes in cattle // Proc. 34th Annu. Meet. Am. Assoc. Vet. Parasitol. - 1989. - P. 32

VIII. ПРИЛОЖЕНИЯ

АКТ

по испытанию препарата Ниацид

В соответствии с программой исследования противопаразитарного препарата Ниацид мы, нижеподписавшиеся: главный ветеринарный врач филиала ЗАО Агрофирма "Белая дача" *Губин С. Н.*, аспирант Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина *Шерстнёв В. В.*, составили настоящий акт о том, что на базе филиала ЗАО Агрофирма "Белая дача" проводилось исследование профилактической и лечебной эффективности препарата Ниацид при гельминтозах свиней.

Препарат применяли на свиньях в возрасте 1 – 1,5 года согласно наставлению, разработанному в НПО "Экобиовет" и утвержденному Департаментом ветеринарии Министерства сельского хозяйства и продовольствия РФ.

С целью изучения профилактической и лечебной эффективности, а также воздействия препарата Ниацид на иммунобиологический статус свиней по результатам предварительных исследований на гельминтоносительство (метод флотации) были сформированы 2 группы животных, зараженных различными гельминтами (аскаридоз, трихоцефаллез, эзофагостомоз и др.):

1 гр. - без применения препарата Ниацид;

2 гр. - с применением препарата Ниацид однократно в дозе 1мл на 50 кг живого веса животного.

Препарат вводили подкожно в области верхней трети шеи. За всеми животными вели клинические и лабораторные наблюдения.

На основании результатов клинических и лабораторных исследований воздействия на иммунобиологический статус свиней и эффективности препарата Ниацид можно сделать следующие выводы:

1. Лечебная эффективность препарата Ниацид составила 84,6%;

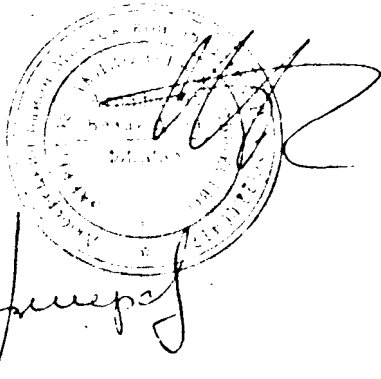
2. Применение препарата не вызвало отклонений от физиологических норм в течение всего периода исследований по следующим биохимическим показателям

сыворотки крови свиней: билирубин, аспаргатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза, креатинин, мочевина, общий белок, pH и др.

3. Препарат не оказал существенного воздействия на иммунный статус организма (уровень титрования, иммуноглобулинов G и M), однако бактерицидная активность сыворотки крови возросла почти в 2 раза, что требует дальнейшего изучения данного изменения.

Гл. вет. врач филиала ЗАО Агро-
фирма "Белая дача"

Аспирант МГАВМиБ



Губин С. Н.

Шерстнёв В. В.

АКТ
Производственного контроля
препарата ПИАЦИД

В хозяйствах Омской области препарат ПИАЦИД применялся в 1999 году при лечении гельминтозов свиней. Препарат изготовлен ИПО «Экобиовет» и АО «Агривет» г. Москва, расфасован в 200 мл флаконы и представляет собой прозрачную светло-желтого цвета жидкость.

Пиацид вводили животным, пораженным гельминтозами, в дозе 1 мл на 50 кг живой массы согласно инструкции по применению.

К настоящему времени препаратом обработано более 300 голов свиней. Результаты производственного контроля свидетельствуют о высокой лечебной эффективности (97-100%) его.

При обработке животных препаратом не наблюдается болевой реакции или воспаления места инъекции, поведение животных, обработанных препаратом, находится в пределах физиологической нормы.

Считаем, что препарат ПИАЦИД может быть рекомендован для широкого внедрения в ветеринарную практику.

Директор Областной ветеринарной
 лаборатории, г. Омск



С.А. Широшкин

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель начальника
Департамента ветеринарии МСХ РФ
В.В.Селиверстов
«06» мая 1999 г.

НАСТАВЛЕНИЕ

по применению препарата Ниацид в ветеринарии

I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1 Ниацид – противопаразитарный препарат, содержащий в качестве действующего вещества абамектин, продуцируемый *Streptomyces avermitilis*.

Препарат представляет собой стерильный прозрачный раствор, содержащий 0,35% действующего вещества и вспомогательные компоненты. Выпускают ниацид расфасованным по 10, 100, 200 и 500 мл в герметично закрытые стеклянные флаконы.

1.2. Хранят препарат с предосторожностью (список Б) в заводской упаковке предприятия-изготовителя, в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 0 до 35°C.

Гарантийный срок годности препарата при соблюдении условий хранения - 2 года со дня изготовления.

2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

2.1. Ниацид обладает выраженным антипаразитарным действием на нематод, личинки оводов, вшей, кровососок и возбудителей саркоптоидозов животных.

Препарат стимулирует выработку у паразитов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – нейромедиатора передачи импульсов между нервными клетками или от нервной клетки к мышечной ткани. Это приводит к блокированию передачи нервных импульсов, параличу и гибели паразита.

2.2. Препарат малотоксичен для теплокровных животных (IV класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), в рекомендуемых дозах не оказывает мутагенного, сенсibiliзирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия. Выводится препарат из организма с мочой и желчью, у лактирующих животных также с молоком. Токсичность Ниацида в 2 раза ниже, чем у известных аналогов препаратов на основе авермектинов или ивермектина.

Токсичен для рыб и пчел.

3. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

3.1. Ниацид применяют крупному рогатому скоту и овцам при диктиокаулезе, остертагиозе, гемонхозе, трихостронгилезе, коопериозе, хабертиозе, эзофагостомозе, нематодирозе, буностомозе, стронгилоидозе, сифункулятозе, малофагозах, гиподерматозе, эстрозе, псороптозе, саркоптозе и хориоптозе; свиньям при аскаридозе, эзофагостомозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, метастронгилезе, гематопинозе и саркоптозе.

Препарат назначают животным при гельминтозах и энтомозах однократно, при саркоптоидозах с лечебной целью - двукратно с интервалом 8-10 дней, с профилактической - однократно.

3.2. Препарат вводят подкожно с соблюдением правил асептики и антисептики, крупному рогатому скоту и овцам в область предплечья, свиньям за ухом, в следующих дозах:

крупному рогатому скоту и овцам – 1,0 мл ниацида на 50 кг массы животного;

свиньям – 1,0 мл ниацида на 33 кг массы животного.

При введении препарата в объеме, превышающем 10 мл, инъекции проводят в несколько мест.

3.3. Крупному рогатому скоту и овцам против гельминтозов препарат применяют перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выгоном на пастбище, против оводовых инвазий - сразу же после окончания лета оводов, при саркоптоидозах, сифункулятозах и малофагозах - по показаниям. Обработки свиней проводят по показаниям.

3.4. Не разрешается применение ниацида дойным и истощенным животным, а также стельным коровам и суягным овцам менее, чем за 20 суток до отела (окота).

3.5. Убой животных на мясо разрешается не ранее, чем через 21 сутки после последнего применения ниацида. В случае вынужденного убоя ранее установленной срока, мясо может быть использовано в корм плотоядным животным или для производства мясокостной муки.

Считать утратившим силу Временное наставление по применению препарата Ниацид, утвержденное Департаментом ветеринарии МСХП РФ 15.07.1994 г.

Наставление разработано НПО «Экобиовет» и ООО «Агровет»

Одобрено Советом по ветеринарным препаратам Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ 19.02.1999г. (протокол № 1) Номер ПВР-2-1.9/00039

УТВЕРЖДАЮ
 Заместитель начальника
 Департамента ветеринарии МСХ РФ
 В.В.Селиверстов
 «06» мая 1999 г.

НАСТАВЛЕНИЕ
 по применению препарата Ниацид в ветеринарии

I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1 Ниацид – противопаразитарный препарат, содержащий в качестве действующего вещества абамектин, продуцируемый *Streptomyces avermitilis*.

Препарат представляет собой стерильный прозрачный раствор, содержащий 0,35% действующего вещества и вспомогательные компоненты. Выпускают ниацид расфасованным по 10, 100, 200 и 500 мл в герметично закрытые стеклянные флаконы.

1.2. Хранят препарат с предосторожностью (список Б) в заводской упаковке предприятия-изготовителя, в сухом, защищенном от света месте, при температуре от 0 до 35°C.

Гарантийный срок годности препарата при соблюдении условий хранения - 2 года со дня изготовления.

2. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

2.1. Ниацид обладает выраженным антипаразитарным действием на нематод, личинки оводов, вшей, кровососок и возбудителей саркоптоидозов животных.

Препарат стимулирует выработку у паразитов гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) – нейромедиатора передачи импульсов между нервными клетками или от нервной клетки к мышечной ткани. Это приводит к блокированию передачи нервных импульсов, параличу и гибели паразита.

2.2. Препарат малотоксичен для теплокровных животных (IV класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), в рекомендуемых дозах не оказывает мутагенного, сенсibiliзирующего, эмбриотоксического и тератогенного действия. Выводится препарат из организма с мочой и желчью, у лактирующих животных также с молоком. Токсичность Ниацида в 2 раза ниже, чем у известных аналогов препаратов на основе авермектинов или ивермектина.

Токсичен для рыб и пчел.

3. ПОРЯДОК ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА

3.1. Ниацид применяют крупному рогатому скоту и овцам при диктиокаулезе, остертагиозе, гемонхозе, трихостронгилезе, коопериозе, хабертиозе, эзофагостомозе, нематодирозе, буностомозе, стронгилоидозе, сифункулятозе, малофагозах, гиподерматозе, эстрозе, псороптозе, саркоптозе и хориоптозе; свиньям при аскаридозе, эзофагостомозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, метастронгилезе, гематопинозе и саркоптозе.

Препарат назначают животным при гельминтозах и энтомозах однократно, при саркоптоидозах с лечебной целью - двукратно с интервалом 8-10 дней, с профилактической - однократно.

3.2. Препарат вводят подкожно с соблюдением правил асептики и антисептики, крупному рогатому скоту и овцам в область предплечья, свиньям за ухом, в следующих дозах:

крупному рогатому скоту и овцам – 1,0 мл ниацида на 50 кг массы животного;

свиньям – 1,0 мл ниацида на 33 кг массы животного, при лечении гельминтозов – 1,0 мл ниацида на 50 кг массы животного.

При введении препарата в объеме, превышающем 10 мл, инъекции проводят в несколько мест.

3.3. Крупному рогатому скоту и овцам против гельминтозов препарат применяют перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выгоном на пастбище, против оводовых инвазий - сразу же после окончания лета оводов, при саркоптоидозах, сифункулятозах и малофагозах - по показаниям. Обработки свиней проводят по показаниям.

3.4. Не разрешается применение ниацида дойным и истощенным животным, а также стельным коровам и суягным овцам менее, чем за 20 суток до отела (окота).

3.5. Убой животных на мясо разрешается не ранее, чем через 21 сутки после последнего применения ниацида. В случае вынужденного убоя ранее установленной срока, мясо может быть использовано в корм плотоядным животным или для производства мясокостной муки.

Считать утратившим силу Временное наставление по применению препарата Ниацид, утвержденное Департаментом ветеринарии МСХП РФ 15.07.1994 г.

Наставление разработано НПО «Экобиовет» и ООО «Агровет»

Одобрено Советом по ветеринарным препаратам Департамента ветеринарии Минсельхозпрода РФ 19.02.1999г. (протокол № 1) Номер ПВР-2-1.9/00039