

На правах рукописи



**Коновалов Дмитрий Сергеевич**

**Сравнительная эффективность различных методов терапии  
клинических маститов у коров**

16.00.07 - Ветеринарное акушерство и биотехника  
репродукции животных

**Автореферат**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Саратов 2005

Работа выполнена на кафедре акушерства и хирургии  
Института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГОУ  
ВПО Саратовский Государственный Аграрный Университет  
им Н.И.Вавилова, а также в сельхозпредприятиях Саратовской  
области.

Научный руководитель: Заслуженный ветеринарный врач  
РФ доктор ветеринарных наук,  
профессор  
**Авдеенко Владимир Семенович**

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук,  
профессор  
**Попов Леонид Кириллович**  
кандидат ветеринарных наук,  
**Кононенко Ираида Дмитриевна**

Ведущая организация - ФГОУ ВПО «Казанская  
государственная академия ветеринарной медицины имени Э.Н.  
Баумана»

Защита состоится “4” ноября 2005 года в 11<sup>30</sup>  
часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 при  
ФГОУ ВПО Саратовский Государственный Аграрный  
Университет им Н.И.Вавилова по адресу: 410005, г. Саратов,  
ул. Соколова, 335, институт ветеринарной медицины и  
биотехнологии.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке  
института ветеринарной медицины и биотехнологии ФГОУ  
ВПО Саратовский Государственный Аграрный Университет  
им Н.И.Вавилова.

Автореферат разослан “27” октября 2005 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета



## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Мастит у коров имеет широкое распространение и наносит огромный экономический ущерб производителям молока за счет его недополучения и снижения качества, преждевременной выбраковки коров, заболеваемости новорожденных телят и затрат на лечение. Широкое распространение мастита у коров и большой экономический ущерб, наносимый им животноводству страны, поставили эту проблему в ряд важнейших задач современной ветеринарной науки и практики.

Главная роль в возникновении маститов принадлежит патогенной и условно патогенной микрофлоре (В.М. Карташова, 1982; А. Tolle, 1982; А. Bramley, 1984; Т.К. Griffin, 1984; Г.Н. Кузьмин, 1995; Н.Г. Гасанов, 1999; В.А. Париков, 2002;).

Другой важной проблемой у высокопродуктивных молочных коров является нарушение у них воспроизводительной способности (А.Я. Батраков, 1991), которое проявляется патологией родов, послеродового периода и функциональными расстройствами яичников.

Применяемые противомаститные препараты, как правило, обладают рядом отрицательных побочных свойств: низкой эффективностью из-за привыкания к ним микроорганизмов, угнетением защитных механизмов организма больного животного, провоцирование маститов грибковой этиологии. Это требует создание новых эффективных комплексных лекарственных средств на основе перспективных групп антимикробных препаратов (В.А. Париков, 2003).

В настоящее время нет единого мнения о дозах, кратности и сроках интрацестерального введения антимикробных препаратов с целью эффективной терапии маститов (К. Merck, 1983; Н.К. Оксамитный, 1984; W. Nickel, 1984; E. Neumeister, 1987; Н.Г. Гасанов, 1999; В.П. Гончаров с соавт., 2001). Недостаточно производится высокоэффективных и удобных для применения готовых лекарственных форм и комплексных препаратов.

В связи с этим в системе мер борьбы с маститом коров постоянно ведется работа по созданию и исследованию новых

высокоэффективных, дешевых и технологичных в производстве и применении лекарственных средств, предназначенных для лечения и профилактики данного заболевания.

Необходимо разработать новый комплексный препарат гентодиамаст, который содержал бы в своем составе пролонгированный диоксидин, липосомальный гентамицин, что позволит расширить спектр антимикробного действия и сделает его более перспективным для использования в борьбе с маститами коров.

Недостаточная освещенность этого вопроса, отсутствие данных о влиянии заболеваемости молочной железы в период лактации высокопродуктивных коров на развитие у них родовой и послеродовой болезней и о путях и способах борьбы с ними обусловила необходимость проведения научных исследований в этом направлении.

**Цель и задачи исследований.** Целью настоящего исследования явилось изучение распространения клинических маститов у коров в хозяйствах различных форм собственности Саратовской области и установление ее взаимосвязи с проявлением родовой и послеродовой патологии, и на этой основе разработать эффективную систему лечебно-профилактических мероприятий, изучить и внедрить в практику ветеринарии новый препарат гентодиамаст для лечения клинических маститов.

Для достижения поставленной цели осуществлялось решение следующих задач:

- ✓ изучить распространение, формы проявления клинических маститов у высокопродуктивных молочных коров и выявить факторы, способствующие высокой заболеваемости в хозяйствах различных форм собственности Саратовской области;
- ✓ определить влияние переболевания и антимикробной терапии больных высокопродуктивных коров клиническим маститом в период лактации на проявление у них родовой и послеродовой патологии;
- ✓ изучить терапевтическую эффективность гентодиамаста при лечении клинических маститов у коров, разработать систему

лечебно-профилактических мероприятий при мастите у высокопродуктивных молочных коров и определить ее экономическую эффективность.

Исследования выполнены в соответствии с планом НИР ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова» (шифр 13.01.02, № гос. регистрации 01.01.000112782).

**Научная новизна.** В условиях Саратовской области в хозяйствах различных форм собственности определена степень распространения и формы проявления маститов у высокопродуктивных коров, основные этиологические факторы их заболеваемости. Установлена взаимосвязь патологии молочной железы в период лактации с возникновением родовой и послеродовой патологии. Разработан новый комплексный противомаститный препарат - гентодиамаст. Изучены его фармакотоксические свойства и лечебная активность. Показана низкая токсичность и высокая эффективность при лечении разных форм мастита, достигающая 95,2 %. Разработана и внедрена высокоэффективная система лечения и профилактики болезней молочной железы у высокопродуктивных молочных коров.

**Практическая значимость.** Разработана и предложена практической ветеринарии комплексная система мероприятий по диагностике, лечению и профилактике мастита у высокопродуктивных молочных коров, способствующая снижению воспалительных и функциональных расстройств молочной железы и повышению их молочной продуктивности. Результаты проведенных исследований послужили основанием для разработки комплексного лекарственного препарата, применения его для лечения клинических маститов у коров.

**Апробация результатов исследования.** Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов ФГОУ ВПО им. Глинка ВГАУ (2001), на ежегодных научных и учебно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГОУ ВПО «Саратовский

государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» (2002,2003,2004).

Результаты исследований используются в практической работе ветеринарных специалистов Саратовской области, учебном процессе ФГОУ ВПО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» и вошли в «Наставление по диагностике, терапии и профилактике мастита у коров», утвержденное Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России, № 24-5-2/2732.

**Реализация материалов диссертации.** Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов ФГОУ ВПО ВГАУ им. К.Д. Глинки (2003), на Международном координационном совещании (Воронеж, 2003), на ежегодных научных и учебно-методических конференциях профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ им. Н.М. Вавилова» (2001-2004).

Результаты исследований используются в практической работе ветеринарных специалистов Саратовской области, учебном процессе ФГОУ ВПО «Воронежский ГАУ им. К.Д. Глинки», «Саратовский ГАУ им. Н.И. Вавилова».

**Основные положения выносимые на защиту:**

- ✓ распространение, формы проявления клинических маститов у высокопродуктивных молочных коров, а также факторы, способствующие их высокой заболеваемости в хозяйствах различных форм собственности Саратовской области;
- ✓ взаимосвязь мастита у высокопродуктивных молочных коров с проявлением родовых и послеродовых болезней;
- ✓ состав и лекарственная форма комплексного противомаститного препарата гентодиамаст;
- ✓ терапевтическая и экономическая эффективность лечебно-профилактических мероприятий при клинических маститах у высокопродуктивных молочных коров.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 3 научные работы и получен патент на изобретение № 23615575 RU, А 61 Р 1500.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа изложена на 143 страницах машинописного текста, содержит 29 таблиц, 5 рисунков и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических предложений и списка используемой литературы, включающего 194 отечественных и 71 иностранных авторов.

## **2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Работа выполнена в 2000-2004 г. Экспериментальные исследования проводились в хозяйствах Саратовской области Марксовского района (КФХ «Воля», ЗАО «ПЗ» Трудовой и в индивидуальных хозяйствах).

Технология содержания животных в хозяйствах. Доеение проводилось 2 раза в сутки на доильных установках типа: «Майга», «Волга» и «Альфа Лаваль Агри».

Всего под наблюдением находилось 2365 коров. Методика работы состояла из клинического, гинекологического исследования коров и лабораторной диагностики молока на мастит. Состояние молочной железы оценивали по результатам клинического обследования коров (осмотр, пальпация, пробное сдаивание) и лабораторного исследования секрета (реакция с 2 % раствором мастидина, 5 % раствором димастина, канадским и калифорнийским маститным тестом и пробой отстаивания).

В хозяйствах на 4 молочно-товарных фермах в течение репродуктивного цикла 8 раз экспресс-методом исследовали на мастит 935 лактирующих коров с интервалом 1-2 месяца. У отелившихся коров ректальным исследованием оценивали состояние половых органов, заболеваемость маститом в послеродовом периоде, а также устанавливали наличие или отсутствие беременности через 2 месяца после осеменения.

Лабораторному исследованию подвергли 51 пробу крови, 25 проб секрета пораженных маститом долей вымени и 14 проб содержимого матки больных эндометритом коров. В крови определяли морфологические и биохимические показатели

общепринятыми методами, а секрет вымени и матки подвергали бактериологическому исследованию. У выделенной микрофлоры определяли чувствительность к различным антибиотикам и комплексным антимикробным противомаститным препаратам: дорин, фармазин, диоксидин, гентамиамаст. При проведении исследований учитывали годовую и сезонную заболеваемость коров маститом, их продуктивность, режимы и технологию машинного доения.

Путем анализа материалов статистической отчетности по ветеринарному управлению Саратовской области, материалов акушерско-гинекологической диспансеризации крупного рогатого скота (с установлением клинического статуса животных, изучением условий их кормления, содержания, осеменения и эксплуатации) определяли степень заболеваемости маститом коров в хозяйствах различных форм собственности Саратовской области.

Определение оптимального соотношения компонентов в гентомиамасте изучали *in vitro* при титровании методом серийных разведений с вычислением фракциональной ингибирующей концентрации (ФИК) и суммы ФИК (ФИК-индекс), а также *in vivo* на 29 коровах, больных острым катаральным маститом на которых применяли препарат с разным соотношением компонентов. Изучение антимикробной активности гентомиамаста проводили методом серийных разведений в отношении референтных штаммов микроорганизмов, основных возбудителей мастита у коров, типированных по морфологическим, культуральным, биологическим и серологическим свойствам: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus* группа В (по Ландсфилду), *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Исследование по изучению острой токсичности гентомиамаста при однократном внутримышечном введении препарата проводили на двух видах лабораторных животных: белых крысах и белых мышах.

Подострую токсичность гентомиамаста изучали на 40 белых крысах-самцах при внутримышечном введении препарата в дозах  $1/50 LD_{50}$ ,  $1/20 LD_{50}$  и  $1/10 LD_{50}$  в течение 20 дней.

Кожно-резорбтивное действие гентоциамаста изучали на белых крысах и кроликах методами однократных, многократных аппликаций. Для выявления резорбции препарата с поверхности кожи кроликов использовали метод, с трепановым синим, у крыс - метод погружения хвоста в неразведенный препарат.

Изучение влияния препарата гентоциамаст на организм и молочную железу лактирующих коров проводилось на 3 клинически здоровых коровах черно-пестрой породы, находящихся на 2-3 месяце лактации. Препарат, подогретый до 38 «С» в количестве 10 мл вводили интрацистернально в левую переднюю четверть вымени после предварительного выдаивания молока и обработки сосков 70 % этиловым спиртом. Перед введением препарата и через 6, 24, 48, 72, 96 и 120 часов определяли состояние опытных (левых передних) и контрольных (правых передних) четвертей вымени визуально и с помощью пальпации, а также исследовали молоко, определяли внешний вид, цвет, запах, количество соматических клеток в 1 мл секрета, рН.

Для определения остаточных количеств липосомального гентамицина и пролангированного диоксицина в молоке, крови, моче проведен опыт на четырех коровах черно-пестрой породы в лактационный период.

При проведении исследований руководствовались «Методическими указаниями по определению остаточных количеств антибиотиков в продуктах животноводства» № 3049 - 84 от 29.06.84.

Изучение лечебной эффективности препарата проведено на 326 коровах, больных серозным, катаральным и гнойно-катаральным маститом, принадлежащих ЗАО ГПЗ «Трудовое» Марковского района Саратовской области.

Препарат гентоциамаст применяли внутримышечно, предварительно подогрев до 36-39° С в дозе 5-10 мл. Лечение проводили 1 раз через 72 часа до выздоровления.

В качестве препарата сравнения использовали дорин и фармазин, который вводили 20 коровам (28 долей), больным серозно-катаральным маститом, 12 коровам (17 долей) - при серозном мастите, 11 коровам (15 долей) - при катаральном

мастите и 10 коровам (12 долей) - при гнойно-катаральном мастите.

За животными в течение опыта проводили ежедневное клиническое наблюдение. Результаты лечения оценивали на 14 день после последнего введения препарата комплексно, с учетом клинического обследования коров и лабораторного исследования секрета из леченых долей вымени.

Выздоровевшими считали животных, у которых отсутствовали клинические признаки болезни, были отрицательными пробы отстаивания и с 2 % раствором мастидина, а также отсутствовал рост микроорганизмов в пробах молока.

У отелившихся коров ректальным исследованием оценивали состояние половых органов, устанавливали наличие или отсутствие беременности через два месяца после осеменения и определяли заболеваемость маститом в послеродовом периоде. За всеми подобранными в опыт коровами вели клиническое наблюдение и учитывали случаи возникновения родовой (задержание последа) и послеродовой (субинволюция матки и эндометрит) патологий.

Расчет экономической эффективности разработанных и рекомендованных лечебно-профилактических мероприятий, при мастите у коров провели согласно методике, утвержденной Департаментом ветеринарии РФ, 2002.

Цифровой материал обрабатывали с вычислением средних арифметических величин ( $\bar{x}$ ), стандартной ошибки этих средних величин ( $S_{\bar{x}}$ ), для оценки значимости использовали критерий «t» по Стьюденту.

### **3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИСЛЕДОВАНИЙ**

#### **3.1. Факторы способствующие распространению и возникновению клинических маститов у высокопродуктивных молочных коров**

Всего за период наблюдения и исследования зарегистрировали 674 случая заболевания коров маститом. В среднем за год переболело 563 коровы по одному разу, 107 переболело повторно, а у 4 животных мастит регистрировали

три и более раз. При этом субклинический мастит регистрировался у 428 коров. Наиболее высокая частота заболевания как клиническими, так и субклиническими маститами регистрировалась весной, к концу стойлового содержания (29,3 %), а наименьшая летом (19,6 %).

При периодическом исследовании через 1 -2 месяца (8 раз за лактацию) 2365 высокопродуктивных молочных коров на мастит у 28,26 % животных установили поражение вымени: у 82,49 % - субклинический, у 17,51 % клинически выраженный мастит, соотношение составляет 4,7:1. С поражением одной доли молочной железы выявлено 59,76 % коров, двух - 28,78 % и более - 11,46 %. Атрофия долей зарегистрирована у 7,57 % коровы.

Сезонный характер заболеваемости коров маститом и, особенно, ее повышение к концу стойлового содержания связаны со снижением качества кормов, накоплением в коровниках микрофлоры, что приводит к снижению резистентности организма животных, повышению вирулентности микроорганизмов и развитию воспалительных процессов в молочной железе.

В условиях хозяйства за период проведения научных исследований при машинном доении коров применялись три типа доильных установок: «Альфа Лаваль Агри», «Майга» и «Волга». При доении коров в режиме оптимального вакуума наиболее физиологичными для животных оказались доильные аппараты «Альфа Лаваль Агри» и аппараты «Волга», при использовании которых заболеваемость маститом была наименьшей и составила 11,3 и 16,6 % соответственно.

При доении коров в режиме оптимального вакуума наиболее физиологичными для животных оказались доильные аппараты "Волга" и аппараты с пульсоколлектором АВЮ 2.940.141, при использовании которых заболеваемость маститом была наименьшей и составила 10,5 и 7,5 % соответственно.

Независимо от типа доильного аппарата при доении коров в режиме избыточного вакуума заболеваемость их маститом резко возрастает: до 20,7-26,6 %

При бактериологическом исследовании секрета вымени коров, пораженных субклиническим маститом, была выявлена кокковая микрофлора в 94,7 % проб, у 8,4 % от здоровых животных.

**Таблица 1. Заболеваемость коров маститом при доении различными доильными аппаратами**

Доильные установки	Исследовано коров	Величина вакуума (кгс/см <sup>2</sup> )	Субклинический мастит		Клинический мастит	
			кол-во	%	кол-во	%
«Альфа Лаваль Агри»	239	0,52	18	7,6	9	3,7
«Майга»	217	0,53	29	13,4	9	4,1
«Волга»	37	0,53	4	10,3	2	6,3

Из общего количества выделенных при маститах микроорганизмов стафилококки составили 56,8 % (золотистый - 44,6 %, эпидермальный - 12,2 %) и стрептококки - 43,2 % (агалактичный - 29,2 %, вымени - 9,3 %, дисагалактичный - 4,2 %)

При бактериологическом исследовании секрета пораженных маститом долей вымени лактирующих коров выделили кокковую микрофлору в монокультуре: при субклиническом - стафилококки в 46,8 % и стрептококки в 33,2 % проб, при клинически выраженном - в 51,7 и 35,0 % проб соответственно, а в остальных пробах смешанную микрофлору.

При исследовании в послеродовом периоде коров на мастит наибольшую заболеваемость (43,24 %) установили в группе клинически здоровых коров у животных, которые заболели субклиническим маститом в предыдущую лактацию на 1...2 месяце беременности. Заболеваемость маститом после отела среди коров других групп, переболевших клиническим маститом в предыдущую лактацию, составила 44,76-68,75 % в период формирования фетоплацентарного комплекса и в последующие сроки беременности лактационного периода.

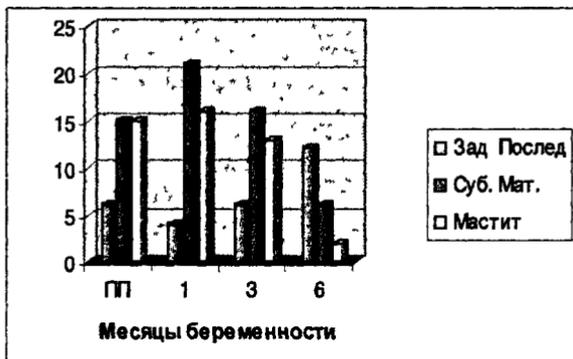
Анализ показывает, что у животных, имевших поражение молочной железы в послеродовом периоде и на 1-2 месяцах беременности, патологию родов и послеродового периода регистрировали в 38,0-80,38 % случаев, а у заболевших маститом на 3-5 месяцах и в более поздние сроки беременности - в 100%.

В послеродовом периоде у переболевших клинически выраженным маститом коров в предыдущую лактацию выявляли поражение молочной железы в 23,81 % случаев.

У заболевших клинически выраженным маститом на 3...5 и более поздних месяцах беременности, а также с хроническим течением воспалительного процесса в молочной железе, оказало существенное влияние на развитие у них родовых и послеродовых болезней (20,77-42,14 %;  $p < 0,01$ ).

В то же время, у коров с задержанием последа, субинволюцией матки и эндометритом продолжительность бесплодия была в 2,1-4,2 раза больше ( $p < 0,05$ ).

Наибольшее число дней бесплодия отмечается у животных с послеродовой патологией, заболевших маститом на 3-5-м и на 6-7-м месяцах стельности ( $139,0 \pm 14,2 - 165,8 \pm 15,7$ ;  $p < 0,05$ ).



**Рис.1 Данные о проявлении родовой и послеродовой патологии у заболевших клиническим маститом лактирующих коров**

Заболевшие коровы клинически выраженным маститом в послеродовом периоде, имеют наименьшее количество дней

бесплодия: от  $109,7 \pm 5,5$  до  $123,4 \pm 15,7$  дня. С увеличением срока беременности заболеваемость коров клинически выраженным маститом приводит к увеличению у них продолжительности бесплодия и индекса осеменения ( $p < 0,05$ ).

Анализ проведенных исследований позволяет сделать следующее заключение:

- Среди высокопродуктивных молочных коров за период лактации маститом переболели 28,26 % животных из них 40,24 % переболевают 2 и более раз. Соотношение субклинических маститов к клиническим составляет 4,7:1;

- сезонный характер заболеваемости коров маститом проявляется тенденцией возрастания количества больных животных с 20,35 % в летне-осенний период до 35,89 % в зимне-весенний;

- увеличение молочной продуктивности до 4500 кг приводит к возрастанию риска заболеваемости маститом (61,2 %), а свыше 4501 кг молока обуславливает снижение данного показателя до 38,71 % ( $p < 0,05$ );

- высокая заболеваемость высокопродуктивных молочных коров маститом обусловлено нарушением технологии содержания, правил машинного доения, конструкторскими особенностями доильных установок. Наиболее предпочтительны «Альфа Лаваль Агри» (11,3 %) и «Волга» работающая в режиме вакуума 48 (16,6 %);

- у заболевших субклиническим маститом животных в период лактации частота задержания последа увеличивается в 2,05 раза, а послеродовые заболевания в 1,58 раза ( $p < 0,05$ );

- при клиническом мастите в период лактации родовая и послеродовая патология у высокопродуктивных молочных коров проявляется в среднем у 46,15 % случаев, продолжительность бесплодия составляет  $146,35 \pm 15,27$  дней. При индексе осеменения 3,25 ( $p < 0,05$ ).

### **3.2. Динамика некоторых показателей крови и молока клинически здоровых и больных маститом коров**

Анализ ретроспективных показателей свидетельствует о том, что в зависимости от физиологического состояния животных и

функциональной активности молочной железы, изучаемые информационные данные претерпевают определенные изменения.

Снижение количества лейкоцитов в этот срок приводит к активизации гемопоэза и изменению содержания форменных элементов в циркулируемой крови, при этом отмечается регенерация нейтрофилов и моноцитов, что свидетельствует о необходимости выработки в этот период повышенного количества фагоцитов.

Концентрация глобулинов, выражающиеся в уменьшении доли альфа и гамма глобулинов. Изменение глобулиновой фракции белка нашли отражение и в содержании отдельных классов иммуноглобулинов. Так, в конце лактации, по сравнению с серединой, количество иммуноглобулинов класса G возросло на 43,81%.

Повышение уровня гуморальных факторов защиты в этот период обусловлено активным их синтезом за счет усиленной стимуляции иммунокомпетентных клеток организма антигенами, образующимися в результате деструкции лактоцитов и стромы молочной железы, соматических клеток и компонентов молока, а также сформированными малыми иммунными комплексами, обладающими патогенными свойствами.

Наши исследования показали, что, содержание в крови иммуноглобулина класса M не зависит от функционального состояния молочной железы.

В начале лактации концентрация ЦИКов и их размер значительно снижаются. Однако, если размер комплексов ( $C_4$ ,  $C_3$ ) сопоставим с таковым у коров середины лактации, то их концентрация ( $C_3$ ) в крови снижается на 26,46 %, что можно расценить как результат физиологической стабилизации атипичного раздражения иммунокомпетентных клеток при нормальном формировании лактогенной функции молочной железы и умеренной выработки иммуноглобулинов.

Исследования активности пероксидазы крови показали, что она возрастает на 30,43 % при угасании лактогенной функции молочной железы по сравнению с серединой лактации и еще больше (2,27 раза) после отела при ее становлении.

Изучение неспецифических факторов защиты молочной железы МЗ, ЛПО и ЛФ показало, что в зависимости от функционального состояния органа их активность и концентрация изменяются. Так, активность МЗ в исследуемые сроки существенно не изменяется, а ЛПО и концентрация ЛФ в 1,42 и 2,52 раза соответственно увеличиваются в конце по сравнению с серединой лактации и возвращаются к исходному уровню в начале лактации.

Анализ полученных данных показывает, что в крови коров, больных маститом различного генеза, происходят характерные изменения. При изучении показателей крови выявлена тенденция увеличения лейкоцитов у больных коров в сравнении со здоровыми и различными формами мастита на 16,4 % и 12 % и установлено достоверное возрастание их количества на 27,1 % в сравнении с катаральным маститом.

Резкий регенеративный сдвиг, снижение количества базофилов и лимфоцитов у больных животных, особенно субклинической формы, указывают на активизацию клеточных механизмов защиты.

У коров с катаральным маститом изменения в лейкоцитарной формуле имеют свои особенности. При этом на 25,1 % снижается количество нейтрофилов и на 21,9 % возрастает число лимфоцитов.

Развитие нейтрофилопении обусловлено перераспределением из кровяного русла в молочную железу значительного количества нейтрофилов. На это указывает достоверное повышение соматических клеток в секрете пораженных долей вымени и недостаточность в это же время компенсаторных процессов в костном мозге. Выявленный при этом лимфоцитоз - относительный.

У коров, больных маститом, по сравнению со здоровыми отмечено достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение содержания гемоглобина в крови на 16,9 % и 13,9% соответственно.

Исследования величины гематокрита показали, что объем плазмы у коров, больных маститом, возрастает на 7,4 %. При этом насыщенность эритроцитов гемоглобином была ниже на 13,7 и

12,5 % соответственно нарушениям синтеза его составных компонентов - глобина и гема.

Таким образом, гематологические изменения у больных маститом коров отражают особенности клеточного взаимодействия в ответ на повреждающий фактор.

**Таблица 2. Биохимический профиль крови коров больных маститом**

Показатели	Раздражение вымени (n=35)	Субклинический мастит (n=20)	Серозный мастит (n=12)	Катаральный мастит (n=17)
Общий белок, г/л	80,7±2,17	83,58±2,14	85,59±2,3	82,4±1,41
Общие липиды, г/л	2,87±0,29	2,75±0,21	2,89±0,27	3,49±0,22*
Холестерин, ммоль/л	5,01±0,23	4,66±0,24*	4,68±0,31*	5,37±0,24
Глюкоза, ммоль/л	2,87±0,19	3,21±0,18*	2,65±0,13	3,09±0,14
Альбумин, %	43,0±1,9	24,04±2,41**	40,2±1,53	42,5±2,32
α-глобулин, %	13,2±0,6	6,42±0,54**	13,0±0,33	10,9±0,53*
β-глобулин, %	10,5±1,5	23,7±3,12**	16,2±0,72*	15,9±0,87
γ-глобулин, %	33,5±2,9	45,84±2,84*	29,2±1,75	27,7±1,85*
ЖС, мг/мл	22,1±0,9	23,7±0,92	23,1±1,6	23,4±0,9
ЖМ, мг/мл	1,3±0,07	1,2±0,09	1,9±0,02**	1,8±0,02**
ЦИК(С), Егоп	12,7±2,0	12,8±1Д7	17,6±3,1*	49,6±2,0**
ЦИК(С), Егоп	27,6±3,0	27,7±1,23	24,0±3,6	58,4±2,0**
Отношение С <sub>2</sub> :С <sub>3</sub>	2,1	2,16	1,4	1,2

Примечание: \* -  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$

Усиление антигенсвязывающей активности гуморальных факторов у больных маститом лактирующих коров в начале и конце лактации обусловлено наличием в крови гетерогенной по специфичности совокупности антител, образующихся во время инволюционных процессов половых органов после отела и молочной железы в период запуска.

При мастите у коров достоверно снижается бактерицидная активность сыворотки крови во все сроки исследования по сравнению со здоровыми животными. Это может быть обусловлено уменьшением в крови содержания компонентов, определяющих бактерицидную активность, и снижением ее антимикробного действия.

У больных маститом коров в конце лактации преобладающее значение в патогенезе болезни имеет высокая антигенингибирующая активность сыворотки крови ( $r=0,73$ ;  $P<0,05$ ), обусловленная усилением аутоиммунных процессов в этот период.

Интенсивность этих изменений определяется уровнем циркулирующих иммунных комплексов ( $C_3$  -  $r = 0,91$ ;  $p<0,001$ ;  $C_4$  -  $r = 0,83$ ;  $P<0,01$  соотношение  $C_4$ :  $C_3$  -  $r = 0,92$ ;  $P<0,001$ ).

В результате проведенных нами исследований и математического анализа информативности изучаемых показателей крови больных коров, которые позволяют нам сделать следующее обобщения:

- установлены корреляционные отношения и степень достоверности с состоянием здоровых животных и интенсивностью патологического процесса в пораженной молочной железе;
- при заболевании коров маститом в начале лактации уровень биохимических процессов и уровень факторов защиты всего организма сопряжен со значительными колебаниями факторов неспецифической резистентности в молочной железе, свободный оксипролин ( $r=0,63$ ;  $p<0,05$ ), бактерицидная активность сыворотки крови ( $r=0,76$ ;  $p<0,001$ ),  $\beta$ -глобулины ( $r=0,66$ ;  $p<0,01$ ),  $\gamma$ -глобулины ( $r=0,70$ ;  $p<0,001$ ), которые

наиболее информативны о состоянии патологического процесса в вымени;

- в середине лактации воспаление молочной железы сопровождается вариабильностью факторов неспецифической защиты при этом только бактерицидная активность сыворотки крови ( $r=0,96$ ;  $p<0,001$ ) и р-глобулин ( $r=0,71$ ;  $p<0,01$ ) являются наиболее достоверными и информативными показателями состояния организма;

- у больных маститом коров в конце лактации преобладающее значение в патогенезе болезни имеет высокая антигенингибирующая активность сыворотки крови ( $r=0,73$ ;  $p<0,05$ ), обусловленная усилением аутоиммунных процессов в этот период;

- интенсивность этих изменений определяется уровнем циркулирующих иммунных комплексов ( $C_3$   $r = 0,91$ ;  $p<0,001$ ;  $C_4$   $r = 0,83$ ;  $p<0,01$  и отношение  $C_4: C_3$   $r = 0,92$ ;  $p<0,001$ ).

### **3.3. Фармакотоксикологическая эффективность препаративной формы лекарственного средства «Гентоdiamаст»**

Полученные результаты свидетельствуют о высокой степени синергидности комбинации пролонгированного диоксида и липосомального гентамицина в соотношении 1:3.

Изучение оптимального соотношения пролонгированного диоксида и липосомального гентамицина в опытах *in vivo* показало, что лучший терапевтический эффект достигается при лечении мастита у коров гентоdiamастом со следующим соотношением компонентов: пролонгированный диоксидин - 1,0 г; липосомальный гентамицин - 3,0 г. Лечебная эффективность препарата с таким соотношением препаратов составила 89,66 %, тогда как лечебная эффективность других композиций составила 67,86-75,86 %. Эффективность лечения гентоdiamастом с оптимальным соотношением компонентов были на 21,74-13,8 % выше по сравнению с лечением композициями с другим соотношением компонентов.

Проведенные исследования показали, что гентоdiamаст

обладает высокой антимикробной активностью. Наиболее выраженное действие он проявляет в отношении кокковой микрофлоры: стрептококков и стафилококков.

Бактерицидная активность гентодиамаста в 2 раза превосходила бактериостатическую в отношении стрептококков, в 4 раза - золотистого стафилококка и эшерихий

Токсикометрические исследования, проведенные в остром опыте, позволили рассчитать параметры острой токсичности гентодиамаста. При этом  $LD_{50}$  для белых мышей составила 10,25 мл/кг (498,5 мг/кг по АДВ) и 22,08 мл/кг (518,8 мг/кг по АДВ) для белых крыс.

Клинические симптомы острого отравления белых мышей и белых крыс сопровождались непродолжительным периодом возбуждения с усилением двигательной активности у большинства особей. За непродолжительным периодом возбуждения развивалось резко выраженное угнетение, состояние глубокого сна, переходящее затем в кому. Животные не реагировали на световой и тактильный раздражители, не принимали корм.

К моменту гибели животных отмечалось учащенное дыхание и сердцебиение. Дыхание часто становилось поверхностным, прерывистым. Развивалась синюшность кожи и слизистых оболочек. Смерть, как правило, наступала в состоянии глубокого угнетения.

В опыте по уточнению МПД гентодиамаста для белых мышей было сформировано 6 групп животных с массой тела 19-21 грамм по 5 голов в каждой. Мышам пяти опытных групп вводили подкожно гентодиамаста в дозах: 5,0; 5,1; 5,2; 5,3; 5,4; 5,5 мл/кг. Животные шестой группы были контрольными. Наблюдение за животными вели в течение 10 дней. Установлено, что максимально переносимая доза гентодиамаста для белых мышей равна 5,3 мл/кг. При введении доз 5,4 и 5,5 мл/кг отмечалась гибель по одной мыши в группе соответственно на 5-й и 2-й день после введения.

Учитывая результаты изучения острой токсичности и результаты определения МПД гентодиамаста для препарата установлена тест-доза на безвредность - 0,1 мл/на мышь с

массой тела 19-21 грамм.

Проведенными исследованиями установлено, что многократное парентеральное применение гентодиамаста в дозе 0,25 мл/кг массы тела (1/50 LD<sub>50</sub>, полученной при изучении острой токсичности), а также в дозе 0,6 мл/кг массы тела и 1,3 мл/кг массы тела (1/20 и 1/10 LD<sub>50</sub> (1 в остром опыте) не вызывает существенных изменений в клиническом состоянии животных: поведение, аппетит, частота дыхания у всех животных опытных групп, как в период применения гентодиамаста, так и в течение 2-х недель после окончания применения гентодиамаста оставались в пределах нормы. За период наблюдения у животных опытных групп не было отмечено нарушений функций пищеварения и мочеотделения. Лабораторные животные опытных групп оставались подвижными, у них не отмечалось нарушение аппетита, были сохранены рефлексы. Проведенное взвешивание животных показало, что скорость роста крыс опытных существенно не отличалась от скорости роста крыс контрольных группы. Среднесуточный прирост массы тела за весь период наблюдения (40 дней) составил 106,9 % при применении гентодиамаста в трехкратной ориентировочно-терапевтической дозе и 97,9 % при применении гентодиамаста в дозе 1,3 мл/кг массы тела.

В результате клинических исследований состояния организма подопытных лабораторных животных после инсталляции препарата гентодиамаст не выявлено изменений температуры тела, частоты пульса и количества дыхательных движений.

При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век опытных глаз животных установлено, что препарат гентодиамаста вызывает слабое раздражение конъюнктивы спустя 2-3 часа после закапывания, которое проходит уже к 4 часу.

Раздражающий эффект гентодиамаста при внутрикожном методе введения оценивали по интенсивности окрашивания тканей по 8 бальной системе. В опыте установлено, что через 30 минут после введения красителя гентодиамаста оказывал слабое раздражающее действие, через 60 и 180 минут раздражающее

действие препарата было умеренным, через 4 часа - слабым, а через 5 часов отсутствовало.

Изучение аллергенных свойств гентодиамаста методом эпикутанных аппликаций и выявление кожных реакций (покраснения, зуда и отека кожи) на введение гомологичной и гетерологичной сыворотки, раствора бихромата калия и сульфанола не выявило аллергенных свойств.

Исследования содержания диоксидина в крови, молоке и моче коров на 1, 3, 5, 7 и 9 сутки после окончания применения гентодиамаста показали, что препарат интенсивно выводится из организма в первые трое суток. Диоксидин в первые сутки в молоке обнаруживался в пределах 1,9-2,2 мкг/мл, на 3 сутки - 0,8-0,9 мкг/мл, а на 5 сутки лишь в одной пробе его содержание составило 0,5 мкг/мл.

В крови содержание диоксидина определялось только на первые и третьи сутки, при этом оно составляло 1,5-1,7 и 0,6-0,7 мкг/мл соответственно. В моче содержание диоксидина определялось на уровне 1,8-2,1 мкг/мл в первые сутки, на третьи сутки - на уровне 0,8-0,9 мкг/мл, а на пятые сутки выявлялись следы в пределах 0,5 мкг/мл.

Следовательно, на седьмые сутки диоксидин полностью выводился из организма. Содержание гентамицина в молоке, крови и моче коров после применения гентодиамаста обнаруживалось в течение 5 суток, но выведение его из организма происходило, главным образом, в первые сутки.

Содержание гентамицина в молоке в первые сутки составляло 2,5-2,7 мкг/мл, на 3 сутки - 0,9-1,2 мкг/мл, а на 5 сутки - 0,3-0,4 мкг/мл. В крови содержание гентамицина было значительно ниже, но обнаруживалось на 5 сутки. В первые сутки в крови гентамицина обнаруживалось в пределах 1,5-1,7 мкг/мл, а на 3 сутки - 0,7-0,8 мкг/мл, а на 5 сутки - 0,1-0,2 мкг/мл.

Аналогичная картина по содержанию гентамицина наблюдалась и в моче, т.е. в первые сутки обнаруживалось гентамицина в пределах 1,5-1,7 мкг/мл, на 3 сутки - 0,6-0,8 мкг/мл, а на 5 сутки - следы (0,1 мкг/мл).

Таким образом, через 7 суток после внутримышечного

введения гентодиамаста в исследуемых биологических жидкостях (молоке, крови и моче) активные действующие вещества (гентамицин и диоксидин) не обнаруживались.

Анализ материала полученного в ходе фармакотоксикологического изучения гентодиамаста, позволяет сделать следующее заключение:

- гентодиамаст представляет собой композицию пролонгированного диоксидина и липосомального гентомицина в соотношении 1:3, которое оказывает бактерицидное и бактериостатическое действие в отношении агалактичного стрептококка, золотистого стафилококка и кишечной палочки;
- учитывая результаты изучения острой токсичности и результата определения МИД гентодиамаста для препарата установлена тест-доза на безвредность - 0,1 мл/мышь с массой тела 19-21 грамм;
- с учетом полученных результатов при изучении подострой токсичности гентодиамаста к  $LD_{50}$  полученный при определении острой токсичности при коэффициенте кумуляции препарата - 2 ( $K_{кум}=2,0$ );
- препарат гентодиамаст не обладает аллергенным и кожно-резорбирующими свойствами умеренно кумулирует и проявляет слабое раздражающее действие.

#### **Э.4. Сравнительная терапевтическая эффективность гентодиамаста при клинических маститах у коров.**

##### **3.4.1. Клиническая оценка гентодиамаста при мастите у коров**

Выздоровление коров с клинически выраженными формами мастита характеризовались улучшением общего состояния, восстановлением аппетита, нормализацией температуры тела, исчезновением гиперемии и отечности кожи вымени и сосков, уменьшением объема и нормализацией консистенции пораженных долей вымени, исчезновением болезненности и нормализацией местной температуры.

**Таблица 3. Терапевтическая эффективность гентодиамаста при остром катаральном мастите у коров**

Группы коров	Доза препарата	Количество больных		Выздоровление через:			
				3 дня		5 дней	
		коров	долей	коров	долей	коров	долей
<b>Первая</b>	3	10	15	6	73,33	9	86,67
<b>Вторая</b>	5	10	18	8	94,44	10	100,0
<b>Третья</b>	7	10	19	8	89,47	10	100,0

В крови отмечено увеличение содержания гемоглобина в среднем на 13,2 %, эритроцитов - 13,6 %, снижение количества лейкоцитов на 20,9 %. В лейкограмме снизилось количество нейтрофилов на 33,0 %, но возросло число лимфоцитов на 33,7 %, моноцитов на 66,7 %, эозинофилов в 2,5 раза, базофилов на 50%.

В сыворотке крови увеличилось содержание общего белка на 9,1 % (в основном за счет увеличения количества альфа- и гамма глобулинов 11,6%).

Результаты клинического наблюдения за коровами, заболевшими клиническим маститом в период лактации и подвергнутыми лечению антимикробными препаратами: гентодиамаст, дорин. 1 % раствор диоксидин и фармазин, представлены в табл. 4.

**Таблица 4. Сравнительная терапевтическая эффективность  
лечения клинических маститов у коров**

Терапия	Кол-во животных (гол)	Выздоровело		Остались больными		Кол-во лечебных процедур	Срок выздоровления
		кол-во	%	кол-во	%		
<b>Гентоциамаст</b>	76	66	86,84	10	13,16	4	8
<b>Дорин</b>	49	37	75,5	12	24,5	5	10
<b>Диоксидин</b>	54	39	72,2	15	27,8	18	9
<b>Фармазин</b>	57	45	78,9	12	21,1	7	7

При лечении клинических маститов различными антибактериальными препаратами наиболее эффективными являются гентоциамаст и фармазин. При их применении выздоровело 86,84 % и 78,9 % животных со сроком выздоровления 8 и 7 дней соответственно.

#### 4.4.2. Система лечебно-профилактических мероприятий при мастите у высокопродуктивных коров и ее экономическая эффективность

Результаты внедрения комплексной системы лечебно-профилактических мероприятий при мастите у высокопродуктивных молочных коров в «ЗАО» племзаводе «Трудовое» Марксовского района Саратовской области в течение 2000-2004 г.г.

К концу 2004 года заболеваемость маститом снизилась до 16,2 % (на 8,4 %), родовыми и послеродовыми болезнями до 63,7 % (на 8,4 %), сократилась период от отела до

плодотворного осеменения до 77,6 дня (на 10,2 дня), возросла молочная продуктивность на одну фуражную корову до 5620 кг (на 631 кг) и выход телят до 90 (на 7 телят) на 100 коров.

Из представленных материалов следует, что при лечении 64 коров дорином, затраты на лечение составили 395,02 руб. Предотвращенный ущерб составил 3667,2 руб., а экономический эффект, полученный в результате лечения, был равен 115648 руб. при экономической эффективности на 1 рубль затрат 115,56 руб.

Затраты на лечение 82 больных коров гентоdiamастом составили 131,53 руб., предотвращенный ущерб - 4600,2 руб., экономический эффект, полученный в результате лечения коров, составил 29026, а экономическая эффективность на 1 руб. затрат 220,67 руб.

Затраты на лечение коров фармазином составили 278,66 руб. Предотвращенный ущерб от лечения 33 больных коров был равен 2072,4 руб. Экономический эффект, полученный в результате лечения коров, - 20451,5 руб. при экономической эффективности на 1 руб. затрат 73,39 руб.

При лечении 28 коров диоксидином затраты на лечение составили 207,06 руб., предотвращенный ущерб 7764,39 руб., а экономический эффект 23293,17 руб., при эффекте на 1 руб. затрат 112,03 руб.

**Таблица 5. Производственные показатели эффективности системы лечебно-профилактических мероприятий при мастите у высокопродуктивных коров**

Показатели	До внедрения	2001 год	Расчет за 2004 год
Поголовье коров и нетелей	935	2365	2365
Надой молока на 1 фуражную корову в год, кг	5006	4870	5111
Период от отела до плодотворного осеменения, дни	121,7	94,5	84,6
Заболевание коров маститом, %	32,9	27,8	21,38
Заболевание родовыми и послеродовыми болезнями, %	72,7	69,1	61,8
Выход телят на 100 коров	83	87	90

Анализ проведенных исследований позволяет сделать следующие заключение:

- оптимальной дозой гентодиамаста при лечении маститов у коров является доза 5 мл. ежедневно, в течение 3-5 суток, внутримышечно. В условиях заболеваемости молочных коров от 6,6 до 10,2 % гентодиамаст обеспечивает лечебную эффективность при субклиническом мастите 95,2 %, серозным - 85,0 %, гнойно-катаральном - 80,6 %;

- система лечебно-профилактических мероприятий с включением в нее препарата гентодиамаст позволяет снизить заболеваемость коров маститами, родовыми и послеродовыми осложнениями, увеличивает выход приплода, а также повышает молочную продуктивность в стаде на 521 кг молока в год.

#### 4. ВЫВОДЫ

1. Среди высокопродуктивных молочных коров за период лактации маститом переболевает 28,26 % животных. Из них 40,24 % переболевает два и более раза. Степень заболеваемости коров маститом зависит от уровня их молочной продуктивности, возраста, сезона года и режимов машинного доения. С увеличением молочной продуктивности с 3-4 тыс. кг до 4,5 тыс. кг заболеваемость увеличивается в (61,2 %), а с выше 4,5 тыс кг молока обуславливает снижение данного показателя до 38,71 %. Сезонный характер заболеваемости коров маститом проявляется тенденцией возрастания количества больных животных с 20,35 % в летне-осенний период до 35,89 % в зимне-весенний.

2. Высокая заболеваемость высокопродуктивных молочных коров маститом обусловлена нарушением технологии и правил машинного доения: недостаточной по времени преддоильной подготовкой молочной железы (15-20 с), контаминацией молочной железы кокковой микрофлорой, нарушением белкового и минерального обменов и снижением общей неспецифической резистентности их организма. У заболевших субклиническим маститом животных в период лактации частота задержания последа увеличивается в 1,5-2 раза, послеродовые заболевания субинволюция матки и

эндометрит в 2,1-2,5 раза, индекс осеменения возрастает на 0,2-0,5.

3. У заболевших клинически выраженным маститом высокопродуктивных коров в период лактации родовая и послеродовая патология проявляется в среднем в 46,15 % случаев, а продолжительность бесплодия составляет  $146,35 \pm 15,27$  дня при заболевании маститом в послеродовом периоде и в начале беременности поражение половых органов возникает у 66,7-78,6 % животных, а у заболевших на 3-5 месяце и более поздних сроках стельности - в 100 % случаев.

4. Гентодиамаст представляет собой композицию пролангированного диоксида с липосомального гентамицина в соотношении 1:3, который оказывает бактериостатическое действие в отношении агалактичного стрептококка (0,78 мкг/мл), золотистого стафилококка (0,39 мкг/мл) и бактерицидное в отношении кишечной палочки (1,56 мкг/мл). Гентодиамаст относится к противомаститным препаратам с малой токсичностью. Его  $LD_{50}$  при подкожном введении составляет 398,4 мг/кг по ДВ (IV класс токсичности). Препарат умеренно кумулирует, проявляет слабое раздражающее действие на слизистые оболочки.

5. Для лечения субклинического, серозного, катарального и гнойно-катарального мастита гентодиамаст вводят внутримышечно в дозе 5 мл по I разу в день в течение 3-5 суток. В условиях заболеваемости коров от 6,6 % до 10,2 % гентодиамаст обеспечивает лечебную эффективность при субклиническом мастите 95,2 %, серозном мастите 85,0 %, катаральном - 83,6 %, гнойно-катаральном - 80,6 %;

6. Система лечебно-профилактических мероприятий с включением в нее препарата гентодиамаст позволяет снизить заболеваемость коров маститами, родовыми и послеродовыми осложнениями, увеличивает выход приплода на 16,0 %, а также повышает молочную продуктивность в стаде на 521 кг молока в год.

## 5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения различных форм мастита у коров применять комплексный антимикробный препарат широкого спектра действия гентоциамаст, который вводят внутримышечно в дозе 5 мл по 1 разу в день в течение 3-5 суток

2. Внедрение системы лечебно-профилактических мероприятий при мастите у высокопродуктивных коров позволило получить в год экономическую эффективность на каждую корову 1560 рублей, а на 1 рубль затрат 14,6 рубля.

3. Полученные научные данные и практические предложения использовать в учебном процессе при изучении курса «Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных».

## 6. СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Коновалов, Д.С. Мастит у высокопродуктивных коров в период лактации // Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных: материалы первой международной акушеро-практической конференции Ставрополь, 2001 - С. 503.

2. Коновалов, Д.С. Фармакологическая и терапевтическая эффективность противомаститного препарата гентоциамаста при клинических маститах у коров: материалы научно-практической конференции института ветеринарной медицины и биотехнологии III выпуск - Саратов, 2002 - С. 24.

3. Коновалов, Д.С. Сравнительная терапевтическая эффективность лечения клинических маститов у коров // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: материалы международной научно-практической конференции Т. 2. - Ульяновск, 2003. С 114.

4. Коновалов, Д.С. Факторы способствующие возникновению клинических маститов у коров // Развитие народного хозяйства в Зап. Казахстане: потенциал, проблемы и

перспективы: материалы международной научно-практической конференции - Уральск РК, 2003. - С. 278.

5. Патент на изобретение № 23615575 RU, МКИ 7 А 61 К 3560, А 61 Р 1500. Средство для лечения маститов у коров / Авдеенко В.С. Коновалов Д.С.; Заявление 15.05.2002 г.; опубликован 15.10.2004 г.; Бюллетень № 12.2004.8 с.

Подписано в печать 25.04.2005.  
Формат 60\*84 1.16. Усл. печ. лист. 1,75  
Печать цифровая  
Тираж 100 экз. заказ 25  
Типография ООО «Эдем»  
410002 г. Саратов, ул. Волжская 2/10



07 МАЙ 2005

725