

На правах рукописи



СОЛОДКОВА КИРА ВАДИМОВНА

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА
И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА МАСТИГАРД
ПРИ МАСТИТЕ У КОРОВ**

4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Краснодар – 2025

Работа выполнена на кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина»

Научный руководитель: **Шантыз Азамат Хазретович**
доктор ветеринарных наук, доцент

Официальные оппоненты: **Алиев Аюб Юсупович**
доктор ветеринарных наук, директор Прикаспийского зонального научно-исследовательского ветеринарного института - филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»

Киреев Иван Валентинович
доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет»

Ведущая организация: **ФГБОУ ВО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина**

Защита состоится «24» апреля 2025 года в 13 часов 00 минут на заседании диссертационного совета 35.2.019.02 на базе ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул. Калинина, 13, корпус факультета ветеринарной медицины.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке университета и на сайтах: ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина» – <http://www.kubsau.ru> и ВАК РФ – <http://vak.minobrnauki.gov.ru>.

Автореферат разослан «__» _____ 2025 года

Ученый секретарь
диссертационного совета



Винокурова Диана Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Наиболее перспективной отраслью агропромышленного комплекса в России на данный момент является молочное скотоводство, основной целью которой является увеличение объемов надоя молока, сохранение и повышение его биологической ценности. Одной из самой распространенной патологией среди молочного скота является мастит, который по статистике может достигать до 73,4%. Основным этиологическим фактором возникновения мастита у лактирующих коров являются патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности, в том числе выделение токсинов. Инфицирование молочной железы микроорганизмами чаще всего связано с нарушениями гигиены и техники доения. Ослабление иммунной системы животных на фоне неблагоприятных условий содержания и несбалансированного кормления также играет немаловажную роль в развитии инфекционного процесса [Хромова Л. Г., Востроилов А. В., Байлова Н. В., 2020; Волостнова А. А., Грехнева, К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024].

Основным возбудителем мастита у коров является бактерия *S. aureus*. Во многих странах мира она является наиболее часто выявляемым возбудителем в молоке коров. Также в молоке от коров с маститом выявляют бактерии: *Str. agalactiae*, *Str. uberis*, *Str. dysgalactiae*, *Klebsiella ozenae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, а также: *Escherichia coli*, *Mycoplasma spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Clostridium spp.* Течение и исход заболевания зависят от множества факторов, таких как патогенность и свойства возбудителя болезни, степень физического воздействия (травмы, ожоги, переохлаждения, неправильная эксплуатация животного), локализация патологического очага, а также от общего состояния организма животного, наличия или отсутствия сопутствующих заболеваний и продуктивности животного [Донник И. М., Лоретц О. Г., 2014; Терентьева Т. Е., 2016; Забровская А. В., 2019; Климов Н. Т., 2020; Камышанов А. С., 2021; Волостнова А. А., Грехнева К. С., Волошина Н. М. и др., 2022; Красочко П. А., 2023; Turkyilmaz S., Tekbiyik S., Oryasin E., 2010; Masoud W., 2012; Abebe R., 2016; Holschbach C. L., Peek S. F., 2018; Borreani G., 2019].

Экономические потери в результате развития мастита у коров в первую очередь складываются из снижения молочной продуктивности до 70% и ухудшения качественных характеристик молока, что неизбежно влияет на качество продуктов его переработки. В свою очередь, это приводит к снижению сортности и выбраковки молока до 8%. Лечение больных животных требует выделения средств для проведения ветеринарного обслуживания поголовья КРС и затрат на лекарственные препараты, что приводит к экономическим потерям до 8 %, а вынужденному убою до 4%. Немаловажным аспектом экономических потерь является выпойка маститного молока телятам, которое приводит к отставанию в наборе массы тела и падежу, в связи с развитием острых кишечных инфекций и может провоцировать гибель телят до 60% [Никитина М. В.,

Столбова О. А., Скосырских Л. Н., 2019; Скребнев С. А., Скребнева К. С., 2020; Лаушкина Н. Н., Сидорова К. А., Анисимова М. Е. и др., 2020; Грицюк В. А., 2022; Глотова Т. И., 2022; Сидорова К. А., Драгич О. А., Роткин А. Т., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024; Kochetova O. V., Kostarev S. N., Sidorova K. A., 2020].

В ветеринарной клинической практике лечение мастита базируется на этиотропной терапии и в большинстве случаев начинается уже после появления клинических симптомов. Несвоевременное лечение и нарушение сроков и кратности применения лекарственных препаратов приводит к снижению терапевтической эффективности, и впоследствии к развитию резистентности возбудителей к большинству антибактериальных действующих веществ, входящих в состав противомаститных препаратов. В свою очередь, это приводит к рецидиву заболевания, примерно, в 40% случаев [Белкин Б. Л., Комаров В. Ю., Андреев В. Б., 2015; Ятусевич А. И., 2021; Красочко П. А., 2023].

С учетом всего выше сказанного, отмечается высокая актуальность разработки препарата на основе комбинации антибактериальных действующих веществ, обеспечивающих высокую терапевтическую эффективность в отношении широкого спектра бактериальных возбудителей с минимальной кратностью и длительностью введения, а также оказывающий симптоматическую терапию, уменьшая признаки воспаления, вызванные жизнедеятельностью микроорганизмов, с целью быстрого восстановления продуктивности животного.

Степень разработанности проблемы. Несмотря на имеющиеся достижения, в настоящее время проблема мастита остается одной из актуальных для ветеринарной науки и практики. Эффективная борьба с маститом практически невозможна без применения антимикробных средств, поскольку основными возбудителями заболевания являются различные патогенные микроорганизмы, к тому же часто обладающих полирезистентностью к большинству антибиотиков. Устойчивость штаммов возбудителей к большинству антибактериальных препаратов складывается из множества факторов. В первую очередь это высокая концентрация животных на молочных комплексах, бессистемное использование антибактериальных препаратов, наличие бактерионосителей и сопутствующие факторы передачи. Также, немаловажную роль играют интенсификация производства молока и нарушения в рационах кормления животных, что приводит к снижению реактивности иммунной системы [Глотов А. Г., 2008; Горбенко А. В., 2013; Глотова Т. И., Котенева С. В., Нефедченко А. В., 2021; Глотова Т. И., 2022; Egorova S., 2007; Turkyilmaz S., Tekbiyik S., Oryasin E., 2010; Silva N. C., 2014; Wang D., 2015; Holschbach C. L., 2018].

С целью решения проблемы резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводится множество научных исследований для выявления и мониторинга их эффективности.

Многими авторами были проведены исследования по изучению резистентности бактериальных изолятов из маститного молока коров к

различным антибактериальным препаратам. Так, бактерии рода *Staphylococcus* и *Streptococcus* продемонстрировали наиболее выраженную резистентность к полимиксину и цефалониуму (99%), тогда как стафилококки еще и к цефтониту, линкомицину, цефапирину и ампициллину (92-98%). Клостридии (*Clostridium*) показали резистентность к широкому перечню антибиотиков (более 90 %) линкомицину и полимиксину, цефалониуму, ампициллину, цефтониту, энрофлоксацину, цефапирину и цефкиному. Представители рода *Salmonella* были резистентны к энрофлоксацину, цефтониту и цефалониуму (100%), а менее – к тетрациклину и гентамицину (42,1 %) [Горбенко А. В., 2013; Глотова Т. И., 2022; Masoud W., 2012; Jagielski T., 2014; Jamali H., Radmehr B., Ismail S., 2014; Wang D., 2015; Dalanezi F. M., 2020].

М. А. Ладанова (2021) установила, что *E. coli* и *Klebsiella* чувствительны к фторхинолонам (левофлоксацин, энрофлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин), пенициллинам (ампициллин), аминогликозидам (гентамицин, неомицин), тетрациклинам (тетрациклин, доксициклин), макролидам (азитромицин, стрептомицин) и цефалоспорином (цефоперазон, цефтазидим). Культуры *Staphylococcus* были чувствительны к цефалоспорином, β-лактамам (амоксциллин), аминогликозидам (гентамицину) и одному из фторхинолонов - левофлоксацину, тогда как к другим представителям последней фармакологической группы была отмечена резистентность.

К современным антибактериальным препаратам, в том числе применяемым для лечения мастита, предъявляются множество требований, такие как: эффективность в отношении основных потенциальных возбудителей, быстрое бактерицидное действие, высокая способность проникновения в ткани и максимальная эрадикация возбудителя из молочной железы, быстрое наступление клинического улучшения [Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024].

Одним из ключевых ресурсов в решении проблемы развития резистентности микроорганизмов при антибактериальной терапии маститов является использование комбинации действующих веществ, которые способны усиливать терапевтическую эффективность, а также обеспечивать симптоматическую терапию, направленную на уменьшение воспаления.

Однако, не все фармакологические группы антибактериальных препаратов отвечают вышеуказанным требованиям. Данными свойствами по результатам изучения фармакодинамических свойств действующих веществ обладают фторхинолоны и полипептидные антибиотики, к которым относятся левофлоксацин и нозигептид. Применение глюкокортикостероидов обеспечивает противовоспалительный эффект, что приводит к уменьшению длительности лечения и быстрому восстановлению продуктивности животного [Ладанова М. А., 2021, Овсянников А. П., Хайруллин Д. Д., Домолазов С. М. и др., 2022; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2023; Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М. и др., 2024; Chuzhebaeva G., 2020; Sharun K., 2021].

Указанные положения определили направленность работы и выбор подходов при разработке препарата Мастигард и изучение его токсикологических параметров и эффективности в лечении мастита.

Цель и задачи исследований. Цель – разработка комбинированного антибактериального лекарственного препарата Мастигард, оценка профилей его безопасности и терапевтической эффективности в лечении маститов КРС.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- разработать состав препарата и изучить синергизм действующих веществ;
- провести оценку общетоксических свойств лекарственного препарата Мастигард (острая и субхроническая токсичность на лабораторных животных);
- провести оценку субхронической токсичности (переносимости) лекарственного препарата Мастигард на целевых животных;
- изучить специфическую токсичность лекарственного препарата Мастигард (оценка эмбриотоксического действия и тератогенного эффекта препарата и его влияние на потомство в период лактации на лабораторных животных);
- определить терапевтическую эффективность при применении лекарственного препарата Мастигард в терапии различных форм мастита на целевых животных;
- оценить экономическую эффективность применения лекарственного препарата Мастигард.

Научная новизна. Разработан комбинированный антибактериальный лекарственный препарат Мастигард и подтверждён синергизм действия его антибактериальных компонентов. Впервые проведено определение комплекса токсикологических показателей препарата Мастигард, которое позволило выявить степень безопасности применения сочетания действующих веществ (левофлоксацина, нозигептида и преднизолон) на лабораторных животных. Впервые показано влияние лекарственного препарата Мастигард при применении в период беременности и лактации на самок и их потомство лабораторных животных. Экспериментально обоснована безопасность длительного применения лекарственного препарата Мастигард на целевых животных (КРС). Установлена лечебная эффективность препарата Мастигард в лечении различных видов маститов КРС.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные расширяют имеющиеся представления о лечении мастита сельскохозяйственных животных. Теоретическая значимость работы состоит в том, что были изучены механизмы взаимодействия комплекса действующих веществ, таких как левофлоксацин и нозигептид, обладающих выраженной антибактериальной активностью в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, за счет их синергизма. А входящий в состав преднизолон обеспечивает уменьшение воспалительной реакции за счет ингибирования активности фосфолипазы А₂, что приводит к уменьшению продукции

простагландинов. Комбинация двух антибактериальных действующих веществ в совокупности с глюкокортикостероидами (ГКС) обеспечивает повышение эффективности терапии, а также сокращает сроки выздоровления и быстрое восстановление продуктивности животного.

Для ветеринарной медицины был предложен новый препарат – Мастигард, обладающий выраженной антимикробной активностью. Впервые было проведено определение комплекса токсикологических показателей, по результатам которого установили профиль безопасности лекарственного препарата равный 5-му классу опасности (согласно СГС). Длительное многократное применение не вызывает метаболических изменений в организме как лабораторных, так и целевых животных. В ходе исследований было установлено отсутствие эмбриотоксического и тератогенного действия, а также влияния на потомство при применении самкам в период лактации. Так же была подтверждена высокая терапевтическая эффективность лекарственного препарата Мастигард в отношении различных видов мастита.

По результатам исследований разработана нормативная документация (инструкция по применению), определяющая условия применения препарата Мастигард.

Изложенные в диссертационной работе материалы могут быть использованы при составлении научно-информационной литературы, в учебном процессе сельскохозяйственных ВУЗов, а также в ветеринарной практике.

Методология и методы исследований. Методологической основой выполнения работы явилось изучение современных способов и средств лечения мастита коров, а также степень безопасности препаратов, представленные в работах отечественных и зарубежных ученых.

Методика исследований основана на применении современного сертифицированного оборудования, с использованием токсикологических, фармакологических, клинических, биохимических, гематологических и статистических методов.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- обоснование выбора компонентов на основании первичной эффективности препарата Мастигард, подтверждение синергизма антибактериальных компонентов препарата;
- экспериментальные данные по изучению общетоксических свойств лекарственного препарата Мастигард (острая и субхроническая токсичность на лабораторных животных);
- экспериментальные данные по изучению субхронической токсичности (переносимости) лекарственного препарата Мастигард на целевых животных при длительном применении;
- экспериментальные данные по изучению специфической токсичности лекарственного препарата Мастигард (оценка эмбриотоксического действия и тератогенного эффекта лекарственного препарата Мастигард и его влияние на потомство в период лактации на лабораторных животных);
- терапевтическая эффективность лекарственного препарата Мастигард в лечении различных форм мастита коров.

Степень достоверности и апробация работы. Основные положения, заключение и практические предложения, сформулированные в диссертации, отвечают целям и задачам работы, а достоверность полученных результатов проанализирована и подтверждается статистической обработкой данных.

Результаты доклинических и клинических исследований, представляющие собой основу диссертационной работы, доложены, обсуждены и одобрены: на заседаниях Международной научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых «Молодые ученые – науке и практике АПК» (г. Витебск, 27-28 апреля 2023 г.); VII Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение животноводства Сибири» (г. Красноярск, 18-19 мая 2023 г.), XXV научно-практической конференции «Развитие науки и практики в глобально меняющемся мире в условиях рисков» (г. Москва, 30 января 2024 г.); II Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие современной науки: новые подходы и актуальные исследования» (г. Москва, 31 января 2024 г.).

Личное участие автора. Все приведенные в диссертации данные получены при личном участии автора, как на этапе постановки задач и разработки методических подходов к их выполнению, так и при наборе первичных фактических данных, статистической обработке и анализе полученных результатов, написании и оформлении публикаций. Выводы диссертации сформулированы автором.

Публикации. Результаты диссертационных исследований опубликованы в 8 научных работах, из них: в рецензируемых научных изданиях, входящих в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций (рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ) – 4.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 202 страницах машинописного текста и состоит из разделов: введения, обзора литературы, материалов и методов, собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений, списка литературы и приложений. Список использованной литературы включает 201 источник, в том числе иностранных 97. Работа иллюстрирована 55 таблицами и 47 рисунками.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе представлены данные отечественной и зарубежной научной литературы, отражающие глубокий обзор распространения мастита крупного рогатого скота, этиологическую причину, патогенез развития заболевания и его диагностику, а также фармакотерапевтические подходы лечения с применением антибактериальных препаратов.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научно-исследовательская работа выполнялась в 2021-2024 гг. на кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Кубанский государственный аграрный университет им. И. Т. Трубилина». Клинические исследования проведены в условиях частных хозяйств Саратовской области.

Экспериментальная часть диссертационной работы посвящена исследованиям по разработке препарата Мастигард, изучению его токсикологических свойств и эффективности в лечении мастита крупного рогатого скота.

При постановке опытов были использованы токсикологические, фармакологические, физиологические, клинические, морфологические, биохимические, гистологические и другие методы исследований. Экспериментальные и научно-производственные опыты проведены в соответствии с требованиями к врачебно-биологическому эксперименту по подбору аналогов, постановке контроля, соблюдению одинаковых условий кормления и содержания животных в период проведения работы и учета результатов.

Основной объект исследований – комбинированный антибактериальный препарат Мастигард для интрацистернального введения. Представляет собой прозрачный или слабо опалесцирующий гель от зеленовато-желтого до желтого цвета, содержащий в 1 шприце (10 г) в качестве действующих веществ левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолона натрия фосфат – 20 мг и вспомогательные вещества.

Предварительную эффективность на стадии разработки и подбора состава лекарственного препарата Мастигард проводили на 150 коровах, черно-пестрой породы, 3-4 лактации.

Общетоксические свойства препарата Мастигард оценивали путем определения острой и субхронической токсичности препарата согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005), при соблюдении 51 правила, предусмотренных «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, которые используются с экспериментальной и научной целью» (ETS № 123, Страсбург, 18.03.1986).

Изучение острой токсичности препарата проводили в условиях вивария СНИОКР ООО «НИГА-ФАРМ» на лабораторных крысах. Препарат Мастигард задавали индивидуально внутривентрикулярно с помощью зонда, в дозе – 2000 мг/кг массы тела по препарату.

Исследование субхронической токсичности препарата Мастигард проводили в течение 12 дней на белых аутбредных крысах при внутривентрикулярном введении в дозах (по препарату) 1800 мг/кг, 900 мг/кг и 90 мг/кг массы тела. От 5 особей из каждой группы на 13 и 22 дни экспериментального периода отбирались образцы крови для биохимического и общего анализов, а после эвтаназии производилось патологоанатомическое

вскрытие и взятие органов для макроскопического исследования. Затем определяли массовые коэффициенты внутренних органов животных.

Оценку переносимости (субхронической токсичности) на целевых видах животных проводили на базе хозяйства КФХ Солтабиев с. Широкое, Саратовской обл. на здоровых коровах в возрасте 4,5 – 5 лет. Лекарственный препарат Мастигард коровам вводили интрацистернально, в каждую четверть вымени, один раз в сутки в течение 6 дней в двух дозах: терапевтической дозе – 40 г/голову и в двукратной терапевтической дозе – 80 г/голову. На 7 и 16 сутки эксперимента проводили отбор проб крови для гематологического и биохимического анализов, а также пробы молока для подсчета количества соматических клеток.

Эмбриотоксическое и тератогенное действие определяли согласно «Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ», под общей редакцией проф. Р.У. Хабриева (2005) и в соответствии с ГОСТ 32379-2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека: Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод) идентично международному документу OECD Test №421 «Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test» (ОЭСР Тест № 421 «Скрининговое исследование репродуктивной/ эмбриональной токсичности»).

Исследования терапевтической эффективности препарата Мастигард проведены на базе хозяйства Саратовской области (сельскохозяйственный производственный кооператив «Красавский» Лысогорского района) на 120 головах лактирующих коров симментальской породы в возрасте 4-5 лет (3-4-ой лактации), с диагнозами – субклинический и клинический (серозный, катаральный, фибринозный, гнойно-катаральный и геморрагический) мастит. Животных с идентичной формой мастита по принципу аналогов разделяли на опытную и контрольную группы (не менее 10 голов в группе). В опытных группах животных лечили препаратом Мастигард. Препарат вводили интрацистернально в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) в пораженную четверть вымени. Препарат вводили 1-2 кратно с интервалом 24 часа, при необходимости введение повторяли. Контрольной группе животных применяли препарат Мастигет Голд («Интервет Интернешнл БВ.», Нидерланды). Препарат вводили в пораженную четверть вымени коровы в разовой дозе 8 г (содержимое 1 шприца-дозатора) 2-4-кратно с интервалом 12 часов.

Отбор проб молока из пораженных долей (для выделения микрофлоры (n=3) и определения количества соматических клеток (n=10)) и крови из яремной вены (n=5) проводили утром до лечения и через 5 суток после завершения применения препаратов.

Лабораторные исследования крови проводились на автоматизированных анализаторах – биохимическом «Clima MC-15» и гематологическом «Abacus Vet 5». Исследования молока на количество соматических клеток определяли с помощью тест системы «Кенотест».

Экономическую эффективность рассчитывали в соответствии с «Методикой определения экономической эффективности ветеринарных мероприятий», разработанной Ю.Е. Шатохиным, И.Н. Никитиным, П.А.

Чулковым, В.Ф. Воскобойником и утвержденной Департаментом ветеринарии МСХ РФ 21 февраля 1997 г.

Полученные в опытах цифровые данные обрабатывались с использованием пакета статистических программ MS Excel. Достоверность различий между сериями определяли с помощью t- критерия Стьюдента.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Разработка состава лекарственного препарата Мастигард

Несколько лет в компании ООО «НИТА-ФАРМ» вели разработку лекарственного препарата Мастигард, особенностью которого являлась бы комбинация действующих веществ, которая должна обеспечивать высокую терапевтическую эффективность в отношении широкого спектра возбудителей, снижать развитие возможной резистентности, уменьшать сроки выздоровления животных и скорость восстановления продуктивности за счет введения дополнительного действующего вещества, обеспечивающего противовоспалительный эффект. Данные критерии разработки лекарственного препарата обеспечивают комплексный подход к лечению мастита.

На основании первичной терапевтической эффективности ввели подбор состава, который бы включал в себя антибактериальные действующие вещества в сочетании с противовоспалительными компонентами (глюкокортикостероиды или нестероидные противовоспалительные средства). По результатам первичных исследований был подобран следующий состав препарата Мастигард – это комбинация левофлоксацина, нозигептида и преднизолон. Далее проводили подбор концентраций антибактериальных компонентов, который основывался на литературных данных соотношений C_{max} к МИС чувствительных бактериальных возбудителей (таблица 1).

Таблица 1 – Состав лекарственных форм на этапе подбора концентраций ДВ препарата Мастигард

Лекарственная форма	Содержание ДВ (мг на шприц)		
	Левифлоксацин	Нозигептид	Преднизолон
№1	300	-	10
№2	500	-	10
№3	1000	-	10
№4	1000	2	10
№5	1000	5	10
№6	1000	5	20

По результатам исследования, с учетом эффективности терапии, скорости клинического выздоровления, длительности применения лекарственных форм препарата и элиминации возбудителей, было установлено, что эффективность комбинации действующих веществ левофлоксацин, нозигептид и преднизолон значительно выше, чем применение их в виде монопрепаратов в отношении основах возбудителей мастита коров: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter spp.* Стоит также отметить, что увеличение

концентрации преднизолона до 2% демонстрирует более быстрое клиническое выздоровление, чем 1% его концентрация в препарате. Таким образом, по результатам исследования установлено, что оптимальной комбинацией действующих веществ является левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолона натрия фосфат – 20 мг.

3.2 Токсикологические исследования

3.2.1 Оценка острой токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных

В результате исследования острой токсичности было установлено, что испытанная доза 2000 мг/кг не вызвала гибели крыс. Общее состояние животных было удовлетворительным. Признаков интоксикации не наблюдали. Целостность и эластичность кожного и шерстного покрова были сохранены, окраска видимых слизистых оболочек соответствовала норме. Частота и глубина дыхательных движений не были изменены. Изменений в поведении не отмечено, судороги не наблюдали; координация движений не была нарушена; реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители была адекватной.

В результате аутопсии животных, по окончании наблюдения за ними на 14 сутки, было установлено, что положение внутренних органов грудной и брюшной полостей анатомически правильное. Таким образом, испытанная доза ни в одном случае не вызвала признаков интоксикации, регулярный контроль массы тела свидетельствовал о равномерных привесах всех опытных животных на протяжении 14 суток наблюдений. Гибели опытных животных не регистрировали.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что LD₅₀ испытуемого препарата составляет более 2000 мг/кг, что соответствует 5 классу токсичности согласно СГС.

3.2.2 Оценка субхронической токсичности препарата Мастигард на лабораторных животных

В результате наблюдения за животными всех опытных групп клинических признаков интоксикации не было выявлено. Общее состояние крыс оставалось удовлетворительным.

В ходе проведения эксперимента, при взвешивании крыс на 7-е и 12-е сутки были выявлены статистически достоверные отличия массы тела опытных животных в сравнении с контролем. Животные, получавшие препарат в дозах 1800, 900 мг/кг медленнее набирали массу по сравнению с животными контрольной группы.

При проведении патологоанатомического исследования с макроскопической оценкой органов на следующие сутки после окончания введения препарата (n=5) были установлены изменения в структуре печени, а также уменьшение размеров селезенки и местно-раздражающее действие на слизистую оболочку желудка у экспериментальных животных, получавших дозы 1800 и 900 мг/кг массы тела. При этом стоит отметить, что указанные выше изменения в группах, получавших дозы 1800 и 900 мг/кг были обратимы, так как

при вскрытии крыс на 10 сутки после окончания введения препарата (n=5) изменений в органах не установлено.

В группе, получавшей дозу 90 мг/кг макроскопическая картина органов и тканей, а также относительная масса органов в ходе аутопсии на 13 и 22 сутки опыта, соответствовала контрольной группе и видовой норме.

Снижение количества лейкоцитов и лимфоцитов, выявленное в опытной группе, получавшей дозу 1800 мг/кг по результатам клинического анализа крови на следующие сутки после завершения применения исследуемого препарата, свидетельствует о возможном угнетении лейкопоэза при длительном применении испытуемого препарата в высоких дозах (20-кратная терапевтическая). Стоит отметить, что при оценке показателей на 10 сутки после прекращения введения препарата указанные выше изменения имели обратимый характер. Показатели клинического анализа крови в группах с дозами 900 и 90 мг/кг массы тела находились в интервалах видовой нормы.

Результаты биохимического анализа крови, полученные на следующий день после завершения применения испытуемого препарата, продемонстрировали повышение уровней общего и прямого билирубина в группе, получавшей дозу 1800 мг/кг, а также АЛТ в группах №1 (1800 мг/кг) и №2 (900 мг/кг) относительно полученных значений в контрольной группе, и имели обратимый характер через 10 суток после последнего применения препарата. Данные изменения связаны с метаболизмом и биотрансформацией антибиотиков в печени и их выведением из организма при длительном применении высоких доз препарата. Другие показатели биохимического анализа у экспериментальных животных не демонстрировали дозозависимого эффекта, не выходили за границы физиологической нормы и, следовательно, не имели диагностического значения. Стоит отметить, что изучение субхронической токсичности проведено при внутрижелудочном введении крысам, что повышает системное действие лекарственного препарата на организм животного, относительно местного – интрацестерального введения в соответствии с применением в клинической ветеринарной практике.

Результаты опыта по изучению субхронической токсичности лекарственного препарата Мاستигард показали, что максимальная терапевтическая доза (90 мг/кг) не вызывает метаболических нарушений в организме лабораторных животных, значительное превышение доз (900 мг/кг (10-ти кратная доза) и 1800 мг/кг (20-ти кратная доза)) может оказывать влияние на показатели гомеостаза, однако данные отклонения являются обратимыми после прекращения введения препарата. Таким образом установлено, что препарат Мастигард является безопасным лекарственным средством для применения в клинической ветеринарной практике.

3.2.3 Субхроническая токсичность препарата Мастигард на целевых животных

В результате исследований установлено, что интрацестернальное введение препарата Мастигард в терапевтической и увеличенной дозах не оказало негативного влияния на общее состояние и клинические показатели животных. У животных не снижался аппетит, не наблюдалось достоверных различий между массами тела коров в опытных и контрольной группах. До введения препарата, на 7 и 16 сутки значимых (достоверных) различий по показателям – температура тела, частота пульса и дыхания между опытными и контрольной группами выявлено не было.

Общий клинический анализ крови животных показал, что после 6 суток ежедневного интрацестернального введения препарата Мастигард в двукратной терапевтической дозах, у коров опытных групп незначительно увеличилось содержание лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, лимфоцитов, однако полученные значения находились в пределах видовой нормы и имели обратимый характер. При применении терапевтической дозы препарата изменений выявлено не было.

Результаты исследований сыворотки крови свидетельствовали о том, что биохимические показатели крови экспериментальных животных не имели статистически достоверных отличий от аналогичных показателей контрольных особей до введения испытуемого препарата, а также на 7 и 16 сутки эксперимента.

Испытуемый препарат при ежедневном интрацестернальном введении в течение 6 суток (превышая курсовой прием в два раза) в терапевтической дозе не вызвал изменений в состоянии молочной железы экспериментальных животных. Длительное применение препарата в увеличенной дозе приводило к умеренным изменениям в молочной железе у некоторых коров, проявляющимся в виде уплотнения паренхимы вымени, а также незначительном изменении характера и количества секрета, получаемого при контрольном сдаивании. Через 10 суток после завершения применения испытуемого препарата в группе, получавшей увеличенную дозу, наблюдали восстановление состояния молочной железы и ее секрета.

Таким образом, в результате проведенного исследования субхронической токсичности (переносимости) на целевых видах животных установлено, что длительное применение терапевтической дозы препарата Мастигард не вызывает местно-раздражающего действия на молочную железу. Препарат в терапевтической и повышенной дозах не оказывает патологического системного влияния на организм коров. При увеличении дозы и кратности введения препарата, рекомендуемых инструкцией, приводит к раздражению тканей молочной железы, однако данные изменения самостоятельно купируются после отмены препарата.

3.2.4 Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия препарата Мастигард

В результате проведенного исследования установлено, что в период беременности общее состояние животных соответствовало норме с учетом их физиологического статуса (беременности). В период введения препарата группе беременных самок, не было зарегистрировано случаев гибели животных или признаков их интоксикации, а также отказа от корма/воды.

По данным проведенной аутопсии (таблица 2) установлены статистические значимые отличия ($p \leq 0,05$) по количеству эмбрионов в первой и во второй опытных группах. У опытных групп в среднем на 2 эмбриона было меньше в сравнение с контрольной группой. При этом данные показатели не отличаются от показателей видовой нормы [Беляков В. И., 2008]. Общее количество эмбрионов равно количеству живых эмбрионов, что говорит об отсутствии гибели плодов в опытных и контрольной группах.

Во всех группах в среднем количество желтых тел было больше на 2-2,3 экземпляра по отношению к количеству живых эмбрионов, что, по-видимому, характерно для данной линии крыс.

В опытных группах, получавших препарат в терапевтической и повышенной дозах, показатель постимплантационной гибели был ниже, чем в контрольной группе. Уменьшение данного показателя в опытных группах относительно контрольной группы подтверждает отсутствие эмбриотоксического действия.

Предимплантационная гибель, эмбриональная смертность, внутриутробная выживаемость, плодово-плацентарный индекс в опытных и контрольной группах не отличались.

Таблица 2 – Средние значения показателей при аутопсии крыс 1 и 2 опытных и контрольной групп

Средние значения (M±SD)			
Группа	1-я опытная	2-я опытная	Контроль
Кол-во эмбрионов	9,71*±2,06	9,86*± 3,02	11,88±2,3
Кол-во живых	9,71* ±2,06	9,86*±3,02	11,88±2,3
Кол-во резорбированных	0,14 ±0,38	0,3±0,49	0,38±0,52
Кол-во мест имплантации	10,4* ±1,4	10±3,08	12,25±2,44
Кол-во желтых тел	12,3*±2,21	11,9*±1,86	14,38±2,2
Предимплантационная гибель (%)	18,88 ±17,5	11,9±27,3	14,65±10,49
Постимплантационная гибель (%)	0,6* ±1,64	2,69±4,7	2,88±4,05
Диаметр плаценты (мм)	12,3 ±0,54	12,07±0,39	12,32±0,49
Масса плаценты (г)	0,5±0,06	0,48±0,059	0,52±0,05
Краниокаудальный размер (мм)	25,2 ±1,96	25,18±1,21	24,48±1,63
Масса плодов (г)	1,47 ±0,3	1,5±0,13	1,49±0,19
Плодово-плацентарный индекс	0,34 ±0,04	0,32±0,03	0,35±0,04
Общая эмбриональная смертность (%)	20,1 ±16	14±27,02	17,24±10,51
Внутриутробная выживаемость (%)	79,9 ±16,2	85,6±27,02	82,76±10,51

Примечание: M±SD (среднее значение ± стандартное отклонение), расчеты произведены с помощью t-критерия Стьюдента при $p \leq 0,05$ (* обозначены значения, отличающиеся от t-критерия) относительно контроля

В результате проведенного исследования эмбрионов по методике Вильсона в опытных и контрольной группах было выявлено, что органы головы, грудной и брюшной полости расположены правильно. Аномалий развития, гипертрофии внутренних органов, наличие кровоизлияний и патологических изменений в них отмечено не было (рисунок 1).



Рисунок 1 – Исследование эмбрионов по методике Вильсона

В результате проведенного исследования эмбрионов по методике Доусона (рисунок 2) установлено, что размер бедренной кости, степень оссификации и количество проксимальных и дистальных фаланг грудных и тазовых конечностей в опытных и контрольной группах не имеют различий. Смещенных (неправильно сочлененных), сращенных, удвоенных, дефектных позвонков и ребер в опытных и контрольных группах не выявлено.



По результатам исследования физиологического развития потомства от самок, получавших препарат в период беременности установлено, что в опытных группах самок, масса тела потомства статистически отличалась ($p \leq 0,05$) на 14-й и 20-й день жизни и превышала массу тела потомства контрольной группы, при этом все значения не выходили за границы видовой нормы (для крыс по данным Беякова В. И., 2008).

В ходе наблюдения за физическим и сенсорно-двигательным развитием потомства в опытных и контрольной группах не было установлено значимых отличий.

Таким образом, внутрижелудочное введение препарата Мастигард в терапевтической и двукратно повышенной дозах не оказывает тератогенного

эффекта и эмбриотоксического действия на потомства в антенатальный и постнатальный период развития.

По результатам исследования при введении лекарственного препарата Мастигард самкам в период лактации не установлено влияния на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства. Масса тела потомства от самок опытных групп во все периоды взвешивания соответствовала значениям, полученным в контрольной группе, и имела тенденцию к увеличению, согласно физиологической норме.

Таким образом, внутрижелудочное введение лактирующим крысам препарата Мастигард в терапевтической и двукратно повышенной дозах не влияет на физическое и сенсорно-двигательное развитие потомства в постнатальном периоде.

3.3 Оценка терапевтической эффективности лекарственного препарата Мастигард в терапии различных видов мастита коров

Результаты исследования эффективности лечения препаратом Мастигард различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) мастита коров, продемонстрировали высокую терапевтическую эффективность, равную 90 – 100% (рисунок 3).

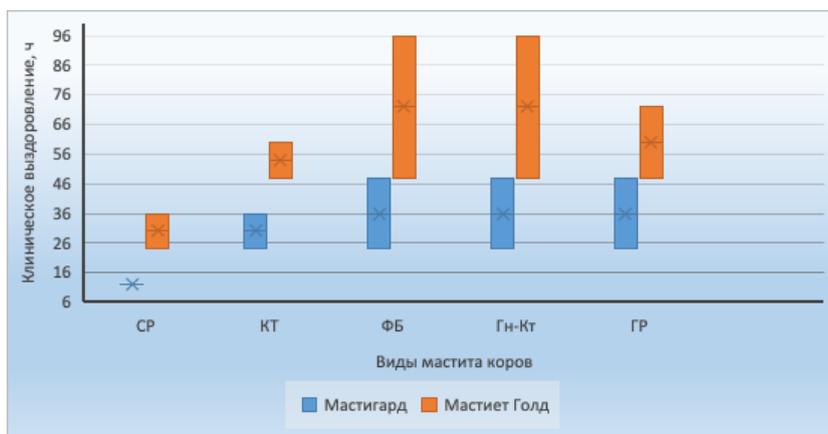


Рисунок 3 – Клиническое выздоровление коров после лечения препаратами Мастигард и Мастьет Голд различных форм мастита. Примечания: СР-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Из рисунка 3 видно, что клиническое выздоровление коров при применении препарата Мастигард наступало гораздо быстрее – от 12 до 48 ч в зависимости от формы мастита, в сравнение с препаратом Мастьет Голд (от 24 до 96 ч). Результаты изучения эффективности продемонстрировали, что при применении препарата Мастигард выздоровление наступало на 2 – 5 сутки в зависимости от вида мастита и тяжести течения заболевания, тогда как применение препарата

Мастигет Голд приводило к выздоровлению на 2 – 6 сутки. Рисунок 4 наглядно демонстрирует, что во всех случаях клинического мастита выздоровление при применении препарата Мастигард наступало на 1 – 2 суток быстрее, чем при применении препарата Мастигет Голд.

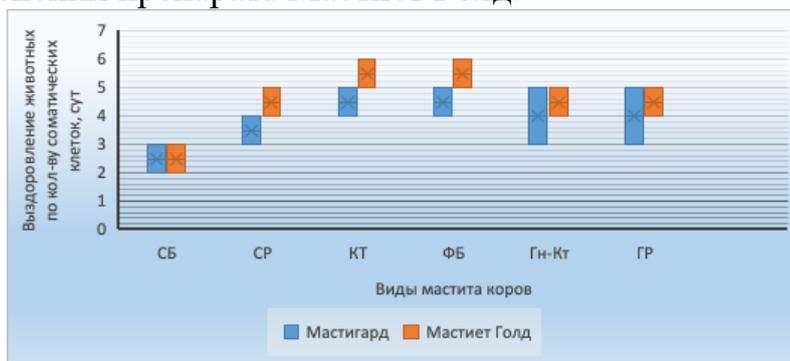


Рисунок 4 – Выздоровление коров, подтвержденное количеством соматических клеток, после лечения препаратами Мастигард и Мастигет Голд различных форм мастита, представленное в сутках. Примечания: СБ-субклинический, СР-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Преимуществом лечения различных форм мастита коров препаратом Мастигард является также кратность его применения (рисунок 5). Так, для достижения выздоровления животных потребовалось от 1 до 4 введений препарата Мастигард с интервалом в 24 часа, тогда как применение препарата Мастигет Голд равнялось от 2 до 10 раз с интервалом в 12 часов.

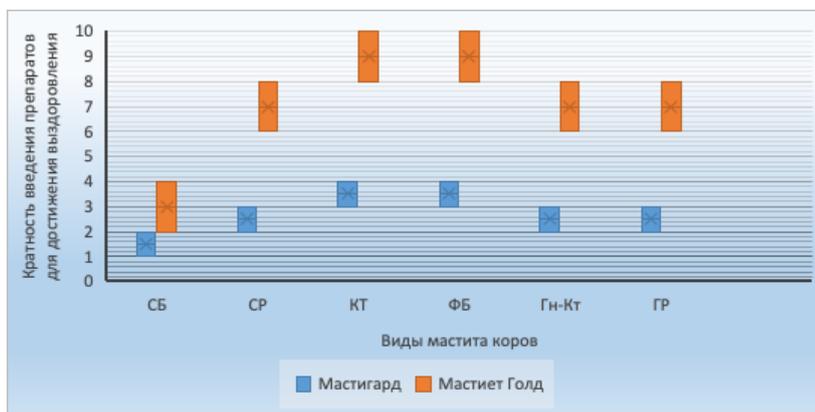


Рисунок 5 – Кратность введения препаратов Мастигард и Мастигет Голд при различных формах мастита для достижения выздоровления коров. Примечания: СБ- субклинический, СР-серозный, КТ-катаральный, ФБ-фибринозный, Гн-Кт- гнойно-катаральный, ГР-геморрагический

Таким образом, проведенное исследование сравнительной эффективности позволяет сделать вывод, что применение препарата Мастигард обеспечивает

быстрое уменьшение клинических симптомов заболевания, сокращает сроки выздоровления животных и кратность введения лекарственного препарата. Достижение 90 – 100% терапевтического эффекта даже в случае тяжелых форм клинического мастита (серозный, геморрагический, катаральный, гнойно-катаральный) обеспечивается за счет комбинации действующих веществ, направленных не только на устранение причины (этиологический фактор) мастита, но и на патогенетические факторы, купируя воспаление, за счет механизмов действия преднизолона.

3.4 Экономическая эффективность использования средств и способов терапии мастита коров

При исследовании эффективности применения нового ветеринарного препарата Мастигард был произведен расчет экономической эффективности применения при субклиническом мастите в сравнении с зарегистрированным препаратом.

Исходя из средней стоимости лекарственных препаратов и ветеринарных услуг по Саратовской области было установлено, что предотвращенный экономический ущерб при применении препарата Мастигард составил 81600 руб., а препарата Маститет Голд – 108800 руб. Экономическая эффективность проводимых ветеринарных мероприятий на один рубль затрат при лечении субклинического мастита коров составила 2,6 руб., в то время как препаратом Маститет Голд – 2,8 руб.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам диссертационной работы впервые определены фармако-токсикологические свойства нового ветеринарного комбинированного антибактериального препарата для интрацистернального введения на основе – левофлоксацина, нозигептида и преднизолона. Исследуемый препарат обладает безопасными токсикологическими характеристиками, не оказывает эмбриотоксического и тератогенного действия в антенатальном и постнатальном в периоде развития потомства в исследованиях на лабораторных крысах, хорошо переносится целевыми видами животных – кровами. Определена эффективность препарата Мастигард в терапии различных маститов коров при интрацистернальном введении.

Выводы

1. Разработан комбинированный антибактериальный лекарственный препарат Мастигард для интрацистернального введения, представляющий собой прозрачный или слабо опалесцирующий гель от зеленовато-желтого до желтого цвета, содержащий в 1 шприце (10 г) в качестве действующих веществ левофлоксацин гемигидрат – 1000 мг, нозигептид – 5 мг, преднизолона натрия фосфат – 20 мг и вспомогательные вещества.

2. По результатам изучения острой токсичности на крысах после однократного перорального введения препарата Мастигард в дозе 2 000 мг/кг гибели животных не было выявлено. Полученные данные позволяют сделать вывод, что LD₅₀ испытуемого препарата составляет более 2 000-5000 мг/кг, что соответствует 5 классу токсичности согласно СГС.

3. В результате изучения субхронической токсичности при многократном внутрижелудочном введении, с помощью атравматического зонда, препарата Мастиград в дозах 1800 мг/кг, 900 мг/кг и 90 мг/кг массы тела в течение 12 суток установлено, что применение в максимальной терапевтической дозе (90 мг/кг) не вызывает побочных реакций и системных изменений в организме у лабораторных животных и хорошо переносится ими. Введение высоких доз 900 и 1800 мг/кг массы тела (10-кратная и 20-кратная терапевтические дозы) препарата может оказывать влияние на метаболические процессы в печени, характеризующиеся увеличением таких показателей как АЛТ и ЩФ, которые являются обратимыми после его отмены и не отличались от видовой нормы.

4. Оценка субхронической токсичности на целевых видах животных – коровах при введении здоровым животным в течение 6 суток препарата Мастигард в дозе 40 г/голову и 80 г/голову подтвердило, что препарат в терапевтической и повышенной дозах не оказывает патологического системного влияния на организм коров. Длительное применение терапевтической дозы препарата Мастигард не вызывает местно-раздражающего действия на молочную железу. При увеличении дозы и кратности введения препарата, рекомендуемых инструкцией, приводит к незначительному раздражению тканей молочной железы, однако данные изменения самостоятельно купируются после отмены препарата.

5. Исследование эмбриотоксического и тератогенного действия при многократном пероральном введении, с помощью атравматического внутрижелудочного зонда, лекарственного препарата Мастигард в дозе 0,11 мл/100 г и 0,22 мл/100 г в период беременности и лактации подтверждает отсутствие эмбриотоксического и тератогенного действия на потомство.

6. По результатам оценки эффективности терапии препаратом Мастигард в дозе 10 г (содержимое 1 шприца) на пораженную четверть вымени различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) мастита коров установлена высокая терапевтическая эффективность равная 90 – 100%.

7. Результаты оценки экономической эффективности продемонстрировали, что при лечении воспаления вымени противомаститным

препаратом Мастигард экономическая эффективность на 1 рубль затрат составляет 2,6 руб., в то время как препаратом Мастьет Голд – 2,8 руб.

Практические предложения

Ветеринарной практике предложен новый препарат Мастигард, обладающий широким спектром антибактериальной активности и местным противовоспалительным действием в лечении маститов различной этиологии.

Рекомендуется применять Мастигард двух-четырёхкратно с интервалом в 24 часа по 1 шприцу (10 г) в каждую пораженную четверть вымени при маститах различных форм (субклинической, серозной, катаральной, фибринозной, гнойно-катаральной, геморрагической) сельскохозяйственным животным – коровам, в зависимости от тяжести течения заболевания.

На Мастигард разработана нормативная документация (инструкция по применению препарата в ветеринарии), определяющая условия его применения, рассмотренная и зарегистрированная Россельхознадзором от 09 июня 2022 г.

Список опубликованных работ по теме диссертации

Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. Оценка острой пероральной токсичности лекарственного препарата «Мастигард®» / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 9. – С. 112-115. – DOI : 10.28983/asj.y2023i9pp112-115. – EDN HJUFDT.
2. Оценка субхронической токсичности лекарственного препарата Мастигард / К. В. Солодкова, А. Г. Коцаев, А. Х. Шантыз [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2023. – № 104. – С. 208-214. – DOI : 10.21515/1999-1703-104-208-214. – EDN DHAMRE.
3. Изучение субхронической токсичности препарата Мастигард на коровах / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская, М. И. Сафарова, А. В. Балышев // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. – Казань, 2024. – с. 228-232.
4. Оценка эмбриотоксического и тератогенного действия лекарственного препарата Мастигард / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская, М. И. Сафарова // Ветеринария. – 2024 г. – с. 54-58.

Статьи, опубликованные в других изданиях

5. Солодкова К. В. Оценка влияния лекарственного препарата Мастигард® на потомство при применении самкам крыс в период лактации / К. В. Солодкова, А. Х. Шантыз, Л. М. Кашковская // Молодые ученые - науке и практике АПК : Материалы научно-практической конференции аспирантов и молодых ученых, Витебск, 27–28 апреля 2023 года / Редколлегия: Н.И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск: Учреждение образования "Витебская ордена "Знак Почета" государственная академия ветеринарной медицины ". – 2023. – С. 198-200. – EDN TSLIWF.
6. Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., Сафарова М. И. Терапевтическая эффективность препарата Мастигард при субклиническом мастите лактирующих коров // Материалы VII Международной научно-практической конференции (г. Красноярск, 18-19 мая 2023 г.) – КрасНИИСХ ФИЦ КНЦ СО РАН. – Красноярск, 2023. – с. 283-286.
7. Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., Сафарова М. И. Терапевтическая эффективность препарата Мастигард при геморрагическом мастите лактирующих коров // Сборник материалов II Международной научно-практической конференции «Инновационное развитие современной науки: новые подходы и актуальные исследования» (шифр –МКИРСН) г. Москва 31 января 2024 года. – Изд.: ЦРОН; АЛЕФ 2024. – с. 101-104.
8. Солодкова К. В., Шантыз А. Х., Кашковская Л. М., Сафарова М. И. Терапевтическая эффективность препарата Мастигард при серозном мастите лактирующих коров // XXV научно-практической конференции «Развитие науки и практики в глобально меняющемся мире в условиях рисков» (г. Москва, 30 января 2024 г.). – Изд.: АЛЕФ, 2024 г. – с. 153-156.

Солодкова Кира Вадимовна

**РАЗРАБОТКА, ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И
ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО
АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА МАСТИГАРД**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Подписано в печать _____ 2025 г. Уч.-изд. л. – 1,0.
Тираж 100. Заказ №
Типография Кубанского государственного аграрного университета
имени И.Т. Трубилина
350044, г. Краснодар, ул. имени Калинина, дом13