

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202092782** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2021.04.19

(22) Дата подачи заявки
2019.05.20

(51) Int. Cl. *A61K 33/02* (2006.01)
A61K 33/04 (2006.01)
A61K 33/06 (2006.01)
A23K 50/10 (2016.01)

(54) **ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО БОЛЮСА ПРИ ЗАПУСКЕ МОЛОЧНОГО
РОГАТОГО СКОТА**

(31) **18173742.0**

(32) **2018.05.23**

(33) **EP**

(86) **PCT/EP2019/062958**

(87) **WO 2019/224149 2019.11.28**

(71) Заявитель:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ВЕТМЕДИКА ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:

**Цаспель Даниэль, Бубек Йюрген,
Эндерле Хольгер, Гоби Лоран,
Хёйванг-Нильсен Лайф (DE)**

(74) Представитель:

**Веселицкая И.А., Веселицкий М.Б.,
Кузенкова Н.В., Каксис Р.А., Белоусов
Ю.В., Куликов А.В., Кузнецова Е.В.,
Соколов Р.А., Кузнецова Т.В. (RU)**

(57) Изобретение относится к применению перорального болюса для запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, а также к способам улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота, снижения выработки молока у стельных и/или лактирующих животных, уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, увеличения ежедневного времени лежания крупного рогатого скота, индукции легкого и временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, снижения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота и/или снижения pH мочи у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включая введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или перед запуском.

A1

202092782

202092782

A1

ПРИМЕНЕНИЕ ПЕРОРАЛЬНОГО БОЛЮСА ПРИ ЗАПУСКЕ МОЛОЧНОГО РОГАТОГО СКОТА

5

Область, к которой относится изобретение

Изобретение относится к области медицины, в частности ветеринарной
медицины. В особенности, изобретение относится к применению пероральных,
предпочтительно содержащих анионные соли болюсов, или ацидогенных
10 болюсов при запуске рогатого скота, предпочтительно молочного рогатого
скота.

Предпосылки создания изобретения

Запуск коров широко известен как критический период производственного
цикла у коров. Было высказано предположение, что с увеличением надоев
15 молока за последние десятилетия переход от лактации к сухостю постепенно
становится для коров все более сложным относительно здоровья и благополучия
животных. С точки зрения здоровья животных, приостановка доения была
связана с повышенным риском новых инфекций внутри молочной железы,
которые могут сохраняться до следующей лактации с пагубными последствиями
20 для производства молока. Одним из факторов, способствующих этому
повышенному риску, является продолжающаяся выработка молока в молочной
железе в ближайшее время после запуска: молоко накапливается в вымени, и
повышенное давление в вымени может вызвать подтекание молока (ПМ) из
сосков. Подтекание молока может позволить микроорганизмам колонизировать
25 вымя, совпадает с моментом нарушения естественной защитной активности
молочной железы из-за процесса инволюции. Было высказано предположение,
что в дополнение к ПМ повышенное давление внутри молочной железы после
прекращения доения потенциально может вызвать дискомфорт у коров, что, в
свою очередь, может изменить поведение в лежачем положении.

30 Современный уровень техники предлагает постепенное или резкое
прекращение доения в сочетании с изменением кормового рациона. Могут быть
использованы такие лекарственные средства, как каберголин. Однако
каберголин представляет собой синтетическое производное спорыньи, которое
является мощным агонистом дофаминовых рецепторов на рецепторах D2. Он

действует на дофаминовые рецепторы продуцирующих пролактин клеток гипофиза, подавляя выработку пролактина и приводя к ингибированию процесса, зависящего от секреции пролактина. Следовательно, прием каберголина вызывает снижение выработки молока, что приводит к уменьшению набухания вымени и снижению давления внутри молочной железы. Каберголин зарегистрирован в некоторых странах для использования у дойных коров в качестве вспомогательного средства при внезапном запуске за счет снижения выработки молока, чтобы уменьшить подтекание молока во время запуска, снизить риск появления новых инфекций внутри молочной железы во время сухостойного периода и уменьшить дискомфорт. Тем не менее, в 2016 году действие разрешений на продажу каберголина в ЕС было приостановлено из-за подозреваемых серьезных побочных эффектов.

У Rérat M and Schlegel P (Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2013, 98(3): 458-466) описано влияние пищевых солей калия и анионных солей на кислотной основе и уровень минерального питания у коров перед отелом.

У Stokes SR (http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/86766/pdf_1016.pdf?sequence=1) описаны программы введения анионной соли для стельных коров второго периода сухостоя.

В US 2002/0150633 описана добавка для дойных сухостойных коров.

В EP 0 943 246 описан полноценный корм для кормления коров в сухостойный период.

В US 5,360,823 описан состав анионной соли для профилактики ацетонемии у дойных коров и способ лечения.

У Oetzel GR and Miller BE (Journal of Dairy Science 2012, 95(12): 7051-7065) описано влияние пероральной болюсной добавки кальция на здоровье в период ранней лактации и удой молока в промышленных стадах.

Существует острая необходимость в улучшении/облегчении запуска крупного рогатого скота, который решает проблемы предшествующего уровня техники.

Сущность изобретения

Настоящее изобретение относится к применению перорального болюса для запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного крупного рогатого скота.

Соответствующий способ запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающий в себя введение перорального болюса, соответствующего перорального болюса для использования в способе запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, а также
5 соответствующее применение перорального болюса для приготовления лекарственного средства для запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота,
10 включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота,
15 предпочтительно молочного скота, при котором такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе
20 улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее
25 применение по меньшей мере одного перорального болюса для приготовления лекарственного средства для улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного рогатого скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту
предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу снижения выработки
30 молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно стельного и/или лактирующего молочного рогатого скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для снижения выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно стельного и/или лактирующего молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе снижения выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно стельного и/или лактирующего молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для приготовления лекарственного средства для снижения выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно стельного и/или лактирующего молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для

приготовления лекарственного средства для уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или
5 предпочтительно перед запуском, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу увеличения суточного времени лежания крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей
10 мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для увеличения суточного времени лежания крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один
15 пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе увеличения суточного времени лежания крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один
20 пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для приготовления лекарственного средства для увеличения суточного времени лежания крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем
25 такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу индукции легкого и
30 временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, при запуске, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для индукции легкого и временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе индукции легкого и временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для приготовления лекарственного средства для индукции легкого и временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу уменьшения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального болюса для уменьшения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей мере один пероральный болюс для применения в способе уменьшения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по меньшей мере одного

перорального болюса для приготовления лекарственного средства для
уменьшения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота,
предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один
пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в
5 последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также
предназначены для включения в настоящее изобретение.

Настоящее изобретение также относится к способу снижения рН мочи у
крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в
себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного
10 перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или
предпочтительно перед запуском.

Соответствующее применение по меньшей мере одного перорального
болюса для снижения рН мочи у крупного рогатого скота, предпочтительно
молочного скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс
15 вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день
доения и/или предпочтительно перед запуском, соответствующий по меньшей
мере один пероральный болюс для применения в способе снижения рН мочи у
крупного рогатого скота у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного
скота, причем такой по меньшей мере один пероральный болюс вводят такому
20 крупному рогатому скоту предпочтительно в последний день доения и/или
предпочтительно перед запуском, также как и соответствующее применение по
меньшей мере одного перорального болюса для приготовления лекарственного
средства для снижения рН мочи у крупного рогатого скота у крупного рогатого
скота, предпочтительно молочного скота, причем такой по меньшей мере один
25 пероральный болюс вводят такому крупному рогатому скоту предпочтительно в
последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, также
предназначены для включения в настоящее изобретение.

Согласно настоящему изобретению преимущества заключаются в одном
или нескольких из следующих:

30 - снижение выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного
рогатого скота, предпочтительно в течение по меньшей мере 48 ч. после
введения болюса;

- уменьшение накопления молока в вымени и, как следствие, снижение давления в вымени, предпочтительно в течение дней после запуска и когда введение болюса произошло с 8 до 12 часов перед запуском;

5 - увеличение ежедневного времени лежания, предпочтительно в дни после запуска;

- индукция легкого и временного метаболического ацидоза при запуске;

- уменьшение потребления сухого вещества (ПСВ), предпочтительно в дни после запуска; и/или

- снижение рН мочи после введения болюса.

10 Подробное описание изобретения

Прежде чем варианты осуществления настоящего изобретения будут описаны более подробно, необходимо отметить, что используемые в настоящей заявке и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и множественное число, если контекст явно не диктует иное.

15 Если не указано иное, все используемые в настоящей заявке технические и научные термины имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом среднего уровня подготовки в области, к которой относится данное изобретение. Все указанные диапазоны и значения могут варьироваться от 1 до 5 %, если не указано иное или же другое не известно специалисту в
20 данной области, поэтому термин «примерно» обычно был опущен в описании и формуле изобретения. Хотя на практике или при тестировании настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, подобные или эквивалентные описанным в настоящей заявке, в данном случае описаны предпочтительные способы, устройства и материалы. Все публикации,
25 упомянутые в данной заявке, включены в нее в качестве ссылки с целью описания и раскрытия веществ, наполнителей, носителей и методологий, как указано в публикациях, которые могут быть использованы в связи с изобретением. Ничто в настоящей заявке не должно быть истолковано как признание того, что изобретение не имеет права датировать такое раскрытие
30 задним числом на основании предшествующего изобретения.

В контексте настоящего изобретения «болюс» определяется следующим образом: твердая лекарственная форма, обеспечивающая предпочтительно по меньшей мере 5 г вещества/материала или комбинация веществ/материалов, вводимая в профилактических или терапевтических целях.

В контексте настоящего изобретения «запуск» определяется следующим образом: прекращение доения лактирующей коровы.

В контексте настоящего изобретения «улучшение/ облегчение запуска» определяется следующим образом: более быстрое снижение выработки молока.

5 В одном аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где введение перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, приводит к одному или нескольким из следующих эффектов:

10 (а) снижение выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно в течение по меньшей мере 48 ч. после введения болюса; и/или

(б) уменьшение накопления молока в вымени и, как следствие, снижение давления в вымени, предпочтительно в течение дней после запуска и
15 когда введение болюса произошло с 8 до 12 часов перед запуском; и/или

(в) увеличение ежедневного времени лежания, предпочтительно в день после запуска; и/или

(г) индукция легкого и временного метаболического ацидоза при запуске; и/или

20 (д) уменьшение потребления сухого вещества (ПСВ), предпочтительно в дни после запуска; и/или

(е) снижение рН мочи после введения болюса

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или
25 способам, где пероральный болюс представляет собой пероральную анионную соль, содержащую болюс или ацидогенный болюс.

В контексте настоящего изобретения понятие «анионная соль, содержащая болюс или ацидогенный болюс» имеет следующее определение: болюс, содержащий в качестве активного ингредиента(ов) подкисляющие агенты,
30 определенные в настоящей заявке.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где пероральная анионная соль, содержащая болюс или ацидогенный

болюс, содержит один или несколько подкисляющих агентов в качестве кормовых добавок/добавочных кормов.

В контексте настоящего изобретения термин «подкисляющие агенты» имеет следующее определение: агенты, которые при пероральном введении изменяют рН крови и/или мочи коровы в отрицательном направлении по сравнению с нормальными физиологическими значениями рН приблизительно 7,44 для крови и рН 8,30 для мочи.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где один или несколько подкисляющих агентов выбраны из группы, состоящей из: хлорида аммония, хлорида кальция и/или сульфата кальция.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где один или несколько подкисляющих агентов представляют собой хлорид аммония, хлорид кальция и сульфат кальция, более предпочтительно 10,4% (мас./мас.) хлорид аммония и 51,9% (мас./мас.) хлорид кальция и 20,1% (мас./мас.) сульфат кальция.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где такой крупный рогатый скот представляет собой стельных и/или лактирующих коров, предпочтительно стельных и/или лактирующих коров голштинской породы.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где пероральный болюс вводят один раз, два раза, три раза, четыре раза или несколько раз, предпочтительно в последний день доения и/или перед запуском.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к описанным в настоящей заявке и заявленным в формуле изобретения применениям или способам, где пероральный болюс вводят два раза, более предпочтительно в последний день доения и/или перед запуском, более предпочтительно, приблизительно за от 12 до 8 часов до последнего доения, предшествующего запуску.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к кальцийсодержащему препарату в твердой болюсной форме, содержащему один или более подкисляющих агентов, предпочтительно выбранных из группы, включающей в себя: хлорид аммония, хлорид кальция и/или сульфат кальция, более предпочтительно хлорид аммония и хлорид кальция и сульфат кальция, еще более предпочтительно от 5% (мас./мас.) до 15% (мас./мас.) хлорида аммония и от 40% (мас./мас.) до 60% (мас./мас.) хлорид кальция и от 15% (мас./мас.) до 25% (мас./мас.) сульфата кальция, наиболее предпочтительно 10.4% (мас./мас.) хлорид аммония и 51.9% (мас./мас.) хлорид кальция и 20.1% (мас./мас.) сульфата кальция.

Краткое описание фигур

Фигура 1: показывает выработку молока у стельных и лактирующих коров, не получивших лечения (B0); коровы, получившие один ацидогенный болюс после последнего доения в день 0 (B1); и коровы, получившие два ацидогенных болюса после последнего доения в день 0 (B2). Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. Звездочкой обозначена разница ($P < 0.05$) между контролем и болюсом.

Фигура 2: показывает pH мочи в зависимости от применения болюса [закрашенные ромбики соответствуют коровам, не получавшим лечения (контроль); белые квадраты соответствуют коровам, получившим болюс перорально (болюс)]. Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. Звездочкой обозначена разница ($P < 0,05$) между контролем и болюсом.

Фигура 3: показывает потребление сухого вещества в зависимости от применения болюса [закрашенные ромбики соответствуют коровам, не получавшим лечения (контроль); белые квадраты соответствуют коровам, получившим болюс перорально (болюс)]. Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. Звездочкой обозначена разница ($P < 0,05$) между контролем и болюсом.

Фигура 4: показывает удой молока в зависимости от применения болюса [закрашенные ромбики соответствуют коровам, не получавшим лечения (контроль); белые квадраты соответствуют коровам, получившим болюс орально (болюс)]. Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. Звездочкой обозначена разница ($P < 0,05$) между контролем и болюсом.

Фигура 5: показывает давление в вымени ($\text{кг} \cdot \text{м}/\text{с}^2$) относительно запуска в зависимости от применения болюса [черные полосы соответствуют коровам, не получавшим лечения (контроль); белые полосы соответствуют коровам, получившим болюсы перорально (болюс)]. Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. * обозначает разницу ($P < 0,05$), тогда как † обозначает тенденцию ($P < 0,10$) для различия между контролем и болюсом.

Фигура 6: показывает время, затрачиваемое на лежание (мин./сутки) в зависимости от применения болюса [закрашенные ромбы соответствуют коровам, не получавшим лечения (контроль); коровам, не получавшим лечения (контроль)]. Планки погрешностей отображают SEM в каждый момент времени. Звездочкой обозначена разница ($P < 0,05$).

ПРИМЕРЫ

Следующие ниже примеры служат для дополнительной иллюстрации настоящего изобретения; но их не следует истолковывать как ограничение объема, раскрытого в настоящей заявке изобретения.

Пример 1

Цель данного эксперимента состояла в том, чтобы определить влияние введения различного количества ацидогенных болюсов лактирующим коровам на удои молока. Чтобы оценить влияние на удои молока, этот эксперимент был проведен на стельных и лактирующих коровах в течение недели до запланированной даты запуска.

Животные, экспериментальный дизайн и измерения

Прежде всего, 84 лактирующие и стельные ($28,1 \pm 6,17$ кг/сутки удоя молока и $222 \pm 3,2$ сутки стельных) коровы голштинской породы были заблокированы по паритету (29 первородящих и 55 повторнородящих) и распределены случайным образом (с использованием функции случайного генератора Excel, Microsoft Corp., Redmond, WA) для одного из следующих 3 лечений: 1 болюс, введенный за 5 дней до запуска (B1); 2 болюса введены с интервалом 5 мин. за 5 дней до запуска (B2); и болюс плацебо, применяемый за 5 дней до запуска (B0). Минеральный состав перорального болюса, каждый массой 196 г (Bovicalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия) был следующим: NH_4Cl (10,4%), хлорид кальция (CaCl_2 , 51,9%) и сульфат кальция (CaSO_4 , 20,1%). Каждый болюс содержал приблизительно 20 г хлорида аммония.

Коров включали в исследование в конце периода лактации ($341 \pm 32,2$ ПСВ) и суточный удой молока регистрировали в течение 15 дней до запуска с помощью электронных счетчиков молока (Westfalia Surge Metatron Milk Meter; GEA Farm Technologies, Барселона, Испания). Критериями включения в исследование для животных были хорошее общее состояние здоровья, основанное на физическом осмотре, суточный удой молока >15 кг, отсутствие признаков клинического мастита и четыре функциональные четверти вымени.

Всех включенных в исследование коров содержали в коровнике со свободными стойлами, они имели неограниченный доступ к воде, кормили два раза в день в период лактации в соответствии с рекомендациями NRC (2001) и доили 3 раза в день.

Статистический анализ

Потенциальное влияние от введения болюса на суточную выработку молока анализировали с помощью модели смешанных эффектов с повторными измерениями с использованием процедуры PROC MIXED от SAS (версия 9.2, SAS Institute Inc., Кэри, Северная Каролина). Фиксированная часть модели учитывала эффект лечения, день относительно применения лечения (5 дней до запуска) и их двухстороннее взаимодействие, а случайная часть учитывала эффект блока (паритет) и коров в рамках лечения. Время входило в модель как повторяющаяся мера с использованием авторегрессионной ковариационной матрицы первого порядка, поскольку она давала самые низкие значения байесовского информационного критерия. В качестве ковариаты использовали средний удой молока от -15 до -6 дней относительно запуска. Поскольку лечение применяли на уровне животных, то экспериментальной единицей было животное.

Одна корова из группы В0 была исключена из исследования из-за болезни.

Выработка молока

На выработку молока влияло взаимодействие ($P < 0,01$) между лечением и днями, прошедшими с момента применения болюса, при этом наибольшее снижение выработки молока достигалось через 2 дня после введения болюса в В2 (Фигура 1). В целом, эти результаты демонстрируют, что пероральное введение двух ацидогенных болюсов стельным и лактирующим коровам снижает выработку молока >2 кг/сутки на второй день после применения.

Пример 2

Целью данного эксперимента было подтвердить влияние введения двух ацидогенных болюсов на удой молока и определить возможное влияние на потребление сухого вещества (ПСВ) и pH мочи.

5 Животные и экспериментальный дизайн

10 Шестнадцать (8 первородящих и 8 повторнородящих) лактирующих и стельных ($154 \pm 19,4$ дней беременности) коров голштинской породы ($273 \pm 56,4$ ПСВ, и $31,7 \pm 5,59$ кг/сутки удоя молока) были включены в перекрестный эксперимент, состоящий из 2 периодов по 9 дней каждый и 2 курса лечения, которые включали в себя отсутствие добавок (контроль) или введение добавок с NH_4Cl в сочетании с CaCl_2 и CaSO_4 с помощью двух пероральных болюсов (Bovicalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия), вводимых с интервалом 5 минут (болюс) в нулевой день каждого экспериментального периода.

15 Перед началом фазы лечения удой молока и потребление корма у всех коров контролировали ежедневно в течение 9 дней в качестве базового контрольного периода. Затем коровам случайным образом назначали или болюс, или контроль. Через 9 дней группы лечения были изменены в соответствии с перекрестным дизайном.

20 Коров содержали в коровнике, оборудованном свободными стойлами, доили дважды в день, и они имели неограниченный доступ к воде и корму в виде ПКС, сбалансированной в соответствии с рекомендациями NRC (2001).

Измерения

25 Ежедневное индивидуальное потребление корма отслеживали на протяжении всего исследования с использованием электронных кормушек (MooFeeder, MooSystems, Испания), которые регистрировали время дня и количество корма, потребляемого при каждом посещении, как описано у Vach и соавт. (2017). Индивидуальную выработку молока при каждом доении измеряли с помощью электронных счетчиков молока (AfiMilk, Afikim Ltd., Израиль).

30 Образцы мочи собирали через 0, 8, 24 и 48 ч. относительно введения болюса у всех коров путем ручной стимуляции и сразу же измеряли pH мочи с помощью портативного pH-метра (CRISON pH25, CRISON Instruments SA, Испания), который был откалиброван перед отбором проб с помощью буферных растворов pH 4,0 и 7,0.

Статистический анализ

Суточный удой молока, потребление корма и рН мочи были проанализированы с использованием модели смешанных эффектов, которая учитывала фиксированный эффект лечения, день исследования и их двустороннее взаимодействие, а также случайное воздействие на коров, период и последовательность в перекрестном исследовании как случайные воздействия. Время входило в модель как повторяющаяся мера с использованием авторегрессионной ковариационной матрицы первого порядка, поскольку она давала самые низкие значения байесовского информационного критерия. Суточная выработка молока и потребление корма в течение первых 9 дней исследования (исходный уровень) были усреднены и введены в статистическую модель в качестве ковариаты. Все анализы были выполнены с помощью SAS. Поскольку лечение было применено на уровне животных, то экспериментальной единицей было животное.

15 рН мочи

После применения болюса рН мочи коров снизился ($P < 0,05$) с $8,04 \pm 0,05$ в нулевой момент времени до $7,37 \pm 0,05$ и $7,55 \pm 0,05$ через 8 и 24 ч. после лечения, соответственно, а затем вернулся к значениям, аналогичным значениям в нулевой момент времени. Никаких различий в рН мочи у коров контрольной группы в разное время отбора проб не наблюдалось и составляло ~ 8.07 на протяжении всего периода отбора проб (Фигура 2).

Производительность животных

Потребление сухого вещества (ПСВ) было снижено ($P < 0,01$) у болюсных коров ($24,8 \pm 0,50$ кг/сутки) по сравнению с контрольными коровами ($25,9 \pm 0,50$ кг/сутки). Наблюдали взаимосвязь ($P < 0,05$) между лечением и днем с уменьшением ПСВ в течение первых 3 дней после применения лечения (Фигура 3).

Как наблюдали в Примере 1, выработка молока снизилась на >2 кг/сутки на второй день после применения болюса, и в этом примере выработка молока также снизилась на третий день после применения болюса (Фигура 4). Снижение надоев молока может быть, по меньшей мере частично, объяснено снижением ПСВ, наблюдаемым у болюсных коров.

Пример 3

Животные и экспериментальный дизайн

В это исследование были включены 152 коровы голштинской породы с двух коммерческих молочных ферм в Жироне, Испания: 104 коровы из SAT Sant Mer (Жирона, Испания) и 48 коров из Mas Duran (Жирона, Испания). Все коровы содержались в соответствии с Директивой ЕЕС 86/609, касающейся защиты животных, используемых в экспериментальных целях. Исследование также было одобрено и находилось под контролем Комитета по уходу за животными IRTA. Все включенные в исследование сначала были заблокированы по паритету, а затем случайным образом (с использованием случайной функции из Excel, Microsoft Corp., Редмонд, Вашингтон) им было назначено 2 лечения. Экспериментальное лечение состояло из контрольной группы (контроль), не получавшей добавок (n=76), и группы лечения (болюс), получавшей два пероральных болюса (n=76), снабженных NH₄Cl в сочетании с CaCl₂ и CaSO₄ (Bovicalc Dry, Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия), которые вводили с интервалом в 5 минут примерно за 12-8 ч. до последнего доения перед запуском.

Коров включали в исследование за 5 дней до запуска и наблюдали в течение 10 дней после запуска. Критериями включения в исследование были хорошее общее состояние здоровья, основанное на физическом осмотре, ≥ 220 дней беременности, суточный удой молока >20 кг в момент запуска, отсутствие признаков клинического мастита и четыре функциональные четверти вымени. Все коровы с фермы SAT Sant Mer содержались в стойле со свободным загонном и имели неограниченный доступ к лактационному рациону ПКС и воде до момента запуска, когда их переводили в загон с подстилкой из опилок и им заменяли рацион ПКС для сухостойных коров, который также предлагался без ограничений. Коровы из Mas Duran имели такой же режим кормления, как и в SAT Sant Mer, но они содержались в сарае, устланном компостом с соломой в качестве подстилки как в период лактации, так и в период сухостоя. На обеих фермах лактирующих коров доили в доильном зале 2x10 3 раза в сутки примерно с 8-часовыми интервалами, и индивидуальный суточный удой автоматически регистрировался во время каждого доения с помощью электронных счетчиков. Во время запуска коров из обеих ферм подвергали резкому прекращению доения и им вводили инфузию цефтиофура внутрь молочной железы (Virbactan®),

Virbac, Португалия). Во время запуска ни у одной из коров не применяли герметик для сосков. В ходе исследования все животные и жилые помещения проверяли дважды в день, утром и днем, чтобы гарантировать постоянное наличие корма и воды.

5 Измерения

Все коровы были оснащены электронными устройствами регистрации данных (Hobo Pendant G Acceleration Data Logger, Onset Computer Corporation, Покассет, Массачусетс) для измерения активности коров от 5 дней перед до 10 дней после запуска с интервалами в 1 минуту. Каждый регистратор данных был
10 прикреплен к одной задней ноге с помощью ветеринарной обертки (Eurimex® flex, Divasa-Farmavic, SA, Барселона, Испания) и ориентирован таким образом, чтобы ось X регистраторов НОВО была направлена вправо, а ось Y была перпендикулярна земле, а ось Z направлена в сторону от сагиттальной плоскости. Данные, собранные регистраторами НОВО, были загружены с
15 помощью программного обеспечения Onset НОВОware (Onset Computer Corp., Борн, Массачусетс, США) и обработаны с использованием сценария, написанного на языке Python, для расчета общего времени лежания коровы в день, как описано у Yunta et al. (2012).

Образцы крови отбирали у двадцати пяти случайно выбранных коров из
20 каждой экспериментальной группы через копчиковые сосуды с использованием вакуумных пробирок объемом 10 мл (BD Vacutainer Systems, Плимут, Великобритания) через 0, 8, 24 и 48 ч. после запуска для определения рН, Са, Р, пролактина (PRL), неэтерифицированных жирных кислот (NEFA) и β-ОН-бутирата (ВНВА). Затем собирали сыворотку и хранили при -20°C до
25 дальнейшего анализа.

Измерение концентрации ПРЛ в сыворотке крови выполняли с помощью ELISA (PRL/LTH) набора ELISA (Cusabio Biotech Co., Whuan, Китай). Концентрации Са и Р в крови определяли атомно-абсорбционной спектрофотометрией. Концентрацию ВНВА в сыворотке крови измеряли
30 колориметрическим методом с использованием набора Autokit 3-НВ (Wako Chemicals USA Inc., Ричмонд, Вирджиния). Концентрацию NEFA в сыворотке крови измеряли колориметрическими методами с помощью набора NEFA-HR(2) (Wako Chemicals USA Inc., Ричмонд, Вирджиния).

После запуска присутствие или отсутствие ПМ регистрировали у каждой коровы два раза в день с интервалом приблизительно 6-8 ч. в течение трех дней подряд. Подтекание молока определяли как наблюдение за капанием или вытеканием молока из одного или нескольких сосков. В течение 3 дней после запуска и ежедневно, измеряли давление в вымени. Для измерения давления в вымени использовали цифровой альгометр (Commander, JTech Medical Industries, Midvale, UT), который был модифицирован путем приваривания 2-сантиметровой шайбы на расстоянии 2 см от кончика альгометра, как ранее описано у Bach et al. (2015). Вкратце, измерение заключалось в приложении силы к каудо-вентральной стороне задней левой и правой половин вымени кончиком альгометра под углом 90° к коже и прекращении приложения силы, когда кожа вымени соприкасается с шайбой. Эту процедуру выполняли как для правой, так и для левой неплотной четверти вымени с тремя повторениями на каждой до тех пор, пока не были получены средние значения с коэффициентом вариации менее 10%. Кроме того, индивидуальный суточный удой каждой коровы измерялся с помощью электронных счетчиков до 60 ПСВ.

Статистический анализ

Поскольку лечение применяли на уровне животных, то экспериментальной единицей было животное. Измерения давления в вымени (проведенные в 2 задних четвертях) усредняли для коровы и времени отбора проб перед проведением статистического анализа.

Все данные этого эксперимента, за исключением данных, относящихся к ПМ, были проанализированы с помощью модели смешанных эффектов с повторными измерениями с использованием процедуры PROC MIXED от SAS. Фиксированная часть модели учитывала эффект лечения, день и их двухстороннее взаимодействие, а случайная часть учитывала влияние на корову, блока (паритет) и стадо. Все модели были подвергнуты ковариационной структуре авторегрессионной дисперсии первого порядка, поскольку она давала самые низкие значения байесовского информационного критерия.

Кроме того, данные, относящиеся к лежачему поведению, собранные за 5 дней до запуска, были усреднены и использованы в качестве ковариаты для оценки потенциального воздействия лечения на время лежания в течение 10 дней после запуска. Используемая модель со смешанными воздействиями учитывала фиксированный эффект от лечения, день относительно запуска и их

двустороннее взаимодействие, используя время лежания перед запуском в качестве ковариаты и день в качестве повторяющейся меры, а также случайные воздействия на коров, блок (паритет) и стадо.

5 Наблюдения за ПМ были классифицированы как переменная двоичного отклика (1 = наличие подтекания молока; 0 = отсутствие подтекания молока) и
10 обработаны с помощью модели логистической регрессии со смешанными эффектами с использованием Stata (версия 14.2, StataCorp LLC, College Station, TX), которые включали фиксированные эффекты от лечения, времени и двухстороннего взаимодействия, а также случайное воздействие на корову и стадо.

Средний удой молока за 5 дней до запуска и дни беременности составлял $26,3 \pm 4,50$ кг и $228,8 \pm 4,31$ дня у коров контрольной группы и $27,4 \pm 5,66$ кг и $227,7 \pm 5,32$ дня у коров с болюсом, соответственно. Удой молока до запуска и дни беременности не различались между группами лечения.

15 Производство молока и здоровое состояние вымени

Никаких различий в молочной продуктивности между лечениями не наблюдали в те дни, в которые регистрировали молочную продуктивность (первые 60 ПСВ), при среднем удое молока $41,5 \pm 1,09$ кг/день для болюсных коров и $41,5 \pm 1,03$ кг/день для коров контрольной группы. Насколько известно
20 авторам изобретения, информация о потенциальном влиянии добавок анионных солей при запуске на молочную продуктивность в следующей лактации отсутствует. Приведенные в настоящей заявке результаты показывают, что добавление анионных солей перед запуском не оказало вредного воздействия на продуктивность молока при следующей лактации.

25 У ста четырех коров (по 52 в каждой экспериментальной группе) наблюдали за состоянием вымени в течение 200 дней после отела. Из этих коров у 29 (27%) был по меньшей мере 1 случай мастита. Лечение не повлияло на частоту мастита ($P = 0,79$), у коров в контрольной группе было 27,5%, а у коров, получавших болюс, частота случаев мастита составила 26,4%. Отсутствие
30 влияния на частоту случаев ПМ, которое является фактором риска мастита, вероятно, было одной из причин отсутствия различий в состоянии вымени после отела.

Давление в вымени

Давление в вымени снизилось ($P < 0,05$) со временем после запуска в обеих группах. В целом, среднее давление в вымени после запуска было ниже ($P < 0,05$) у коров с болюсом ($55,0 \pm 1,73 \text{ кг}\cdot\text{м}/\text{с}^2$), чем у коров контрольной группы ($61,9 \pm 1,72 \text{ кг}\cdot\text{м}/\text{с}^2$). Различия в давлении в вымени были значительными ($P < 0,05$) через 24 и 48 ч. после запуска, в то время как через 72 часа у коров с болюсом, как правило, ($P < 0,10$) давление в вымени было ниже, чем у контрольных коров (Фигура 5). В соответствии с Примерами 1 и 2 эти результаты подтверждают гипотезу о том, что применение ацидогенных болюсов перед запуском снижает выработку молока, и что, как показано в Примере 3, приводит к уменьшению накопления молока в вымени, на что указывает более низкое давление в вымени.

Лежачее поведение

Общее ежедневное время лежания не зависело от лечения ($P = 0,98$); тем не менее, произошло взаимодействие ($P < 0,05$) между лечением и временем относительно запуска с коровами в болюсной группе, лежащими в течение дополнительных 85 мин. в течение первых 24 часов после запуска по сравнению с коровами контрольной группы (Фигура 6). Эта разница в ежедневном времени лежания между контрольными коровами и коровами с болюсом в начале после запуска может быть связана с более высоким давлением в вымени в контрольной группе, чем в группе с болюсом.

На частоту случаев лежания лечение не повлияло ($P = 0,38$); тем не менее, взаимодействие ($P < 0,05$) между лечением и временем наблюдали на 2-й день после запуска у коров с болюсом, у которых было меньшее количество случаев лежания ($9,5 \pm 0,55$ случаев/сутки), чем у коров в контрольной группе ($10,8 \pm 0,54$ случаев/сутки). Более частые случаи лежания у коров в контрольной группе по сравнению с коровами с болюсом также могут быть признаком некоторого дискомфорта из-за давления в вымени, которое могло вынудить контрольных коров встать. Никакой разницы ($P = 0,88$) в средней продолжительности случаев лежания не наблюдалось между контрольными коровами и коровами с болюсом, но у коров в группе болюса были более длительные ($P < 0,05$) периоды лежания в течение второго дня после запуска ($82,3 \pm 4,81$ мин/день), чем у контрольных коров ($72,7 \pm 4,81$ мин/день).

Список процитированных литературных источников

- (1) Bach A et al., J. Dairy Sci. 2015, 98:7097–7101
- (2) Bach A et al., J. Dairy Sci. 2017, 101:1–10
- (3) EP 0 943 246
- 5 (4) Goff JP, Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1999, 15:619–639
- (5) NRC 2001, Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC
- (6) Oetzel GR and Miller BE, Journal of Dairy Science 2012, 95(12): 7051-7065
- 10 (7) Rérat M and Schlegel P, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 2013, 98(3): 458-466
- (8) Stokes SR,
http://oaktrust.library.tamu.edu/bitstream/handle/1969.1/86766/pdf_1016.pdf?sequence=1
- 15 (9) US 2002/0150633
- (10) US 5,360,823
- (11) Yunta CI et al., J. Dairy Sci. 2012, 95:6546–6549

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Применение перорального болюса для запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота.

5

2. Способ улучшения/облегчения запуска крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающий в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

10

3. Способ снижения выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно стельного и/или лактирующего молочного скота, включающий в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

15

4. Способ уменьшения накопления молока в вымени крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающий в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

20

5. Способ увеличения суточного времени лежания крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

25

6. Способ индукции легкого и временного метаболического ацидоза у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, при запуске, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

30

7. Способ уменьшения потребления сухого вещества (ПСВ) у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

8. Способ снижения рН мочи у крупного рогатого скота, предпочтительно молочного скота, включающему в себя введение такому крупному рогатому скоту по меньшей мере одного перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском.

9. Применение по п. 1 или способ по любому из пп. 2 - 8, где введение перорального болюса, предпочтительно в последний день доения и/или предпочтительно перед запуском, приводит к одному или нескольким из следующих эффектов:

(а) снижение выработки молока у стельного и/или лактирующего крупного рогатого скота, предпочтительно в течение по меньшей мере 48 ч. после введения болюса; и/или

(б) уменьшение накопления молока в вымени и, как следствие, снижение давления в вымени, предпочтительно в течение дней после запуска и когда введение болюса произошло с 8 до 12 часов перед запуском; и/или

(в) увеличение ежедневного времени лежания, предпочтительно в день после запуска; и/или

(г) индукция легкого и временного метаболического ацидоза при запуске; и/или

(д) уменьшение потребления сухого вещества (ПСВ), предпочтительно в дни после запуска; и/или

(е) снижение рН мочи после введения болюса.

10. Применение или способ по любому из пп. 1 - 9, где пероральный болюс представляет собой пероральную анионную соль, содержащую болюс или ацидогенный болюс.

11. Применение или способ по п. 10, где пероральная анионная соль, содержащая болюс или ацидогенный болюс, содержит один или несколько подкисляющих агентов в качестве кормовых добавок/добавочных кормов.

5

12. Применение или способ по п. 11, где один или несколько подкисляющих агентов выбраны из группы, состоящей из хлорида аммония, хлорида кальция и/или сульфата кальция.

10

13. Применение или способ по п. 12, где один или несколько подкисляющих агентов представляют собой хлорид аммония, хлорид кальция и сульфат кальция, более предпочтительно 10,4% (мас./мас.) хлорид аммония и 51,9% (мас./мас.) хлорид кальция и 20,1% (мас./мас.) сульфат кальция.

15

14. Применение или способ по любому из пп. 1 - 13, где такой крупный рогатый скот, предпочтительно молочный скот, представляет собой стельных и/или лактирующих коров, предпочтительно стельных и/или лактирующих коров голштинской породы.

20

15. Применение или способ по любому из пп. 1 - 14, где пероральный болюс вводят один раз, два раза, три раза, четыре раза или несколько раз, предпочтительно в последний день доения и/или перед запуском.

25

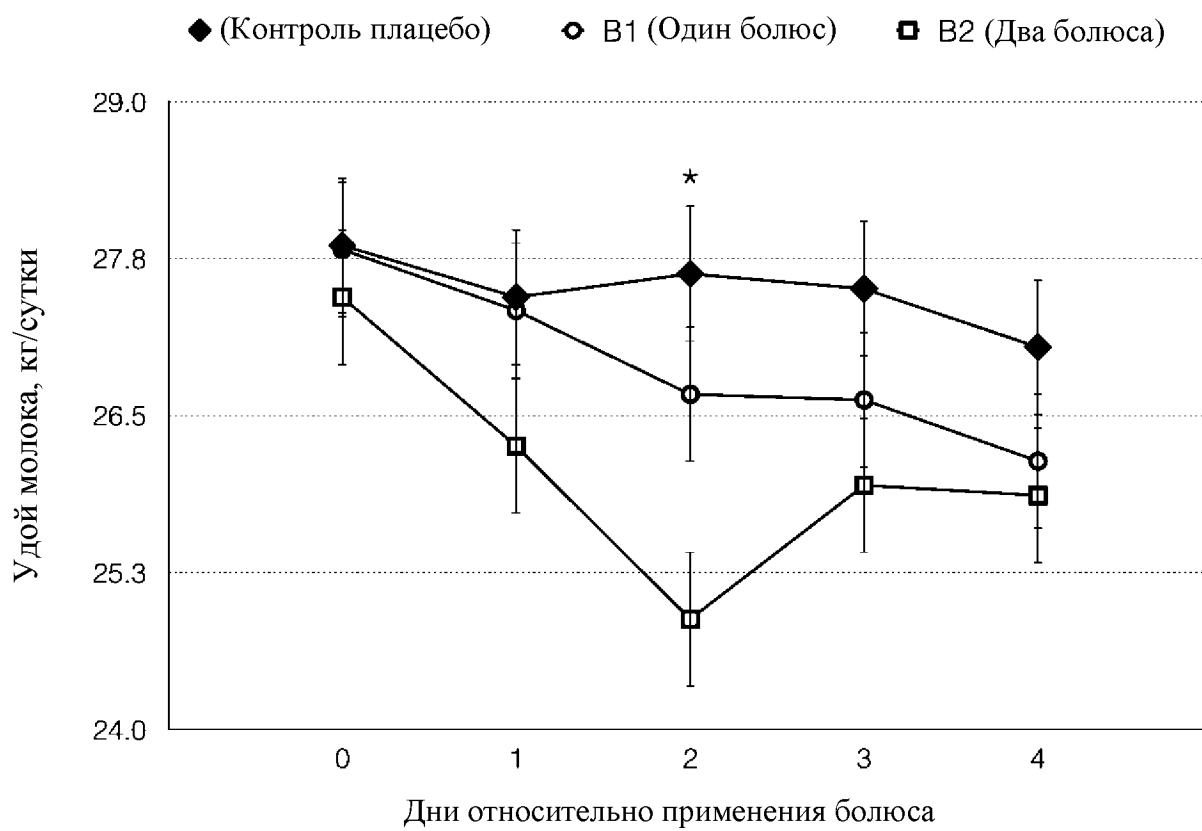
16. Применение или способ по п. 15, где пероральный болюс вводят два раза, более предпочтительно в последний день доения и/или перед запуском, более предпочтительно, приблизительно за от 12 до 8 часов до последнего доения, предшествующего запуску.

30

17. Кальцийсодержащий препарат в форме твердого болюса, содержащий один или несколько подкисляющих агентов, предпочтительно выбранных из группы, включающей в себя: хлорид аммония, хлорид кальция и/или сульфат кальция, более предпочтительно хлорид аммония и хлорид кальция и сульфат кальция, еще более предпочтительно от 5% (мас./мас.) до 15% (мас./мас.) хлорид аммония и от 40% (мас./мас.) до 60% (мас./мас.) хлорида

кальция и от 15% (мас./мас.) до 25% (мас./мас.) сульфата кальция, наиболее предпочтительно 10,4% (мас./мас.) хлорида аммония и 51,9% (мас./мас.) хлорида кальция и 20,1% (мас./мас.) сульфата кальция.

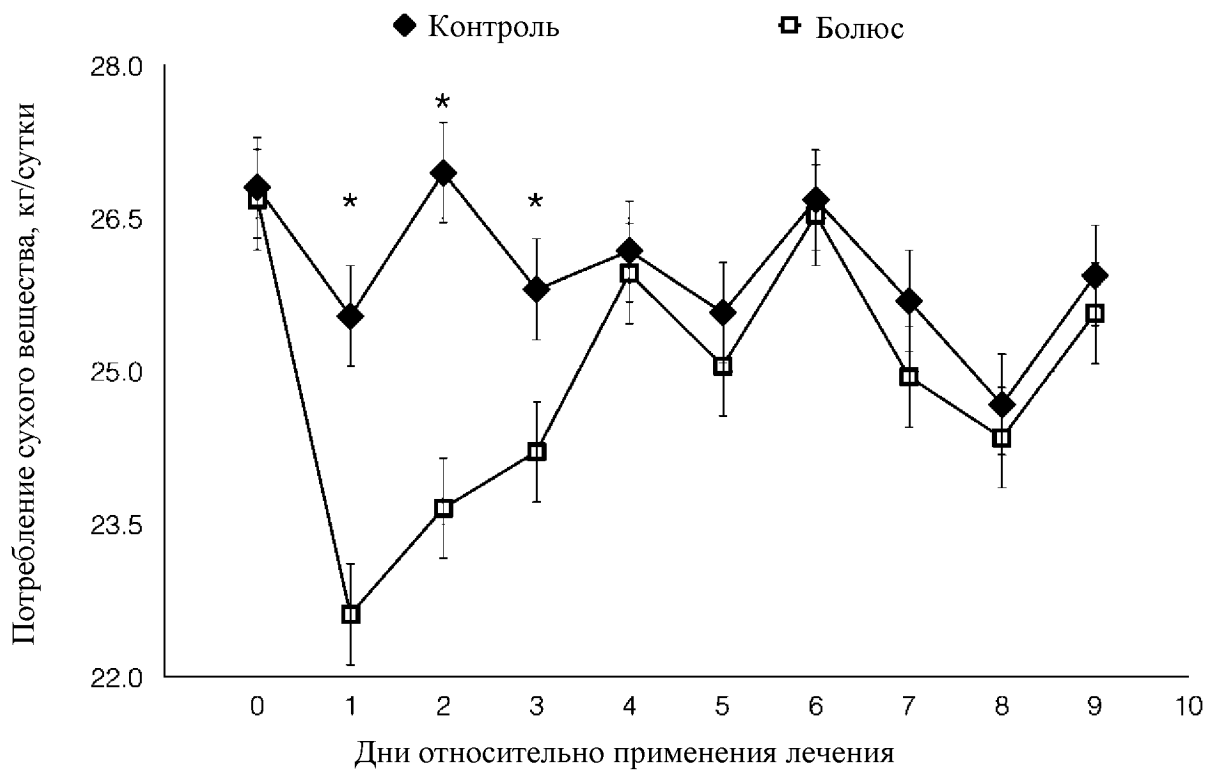
Фигура 1



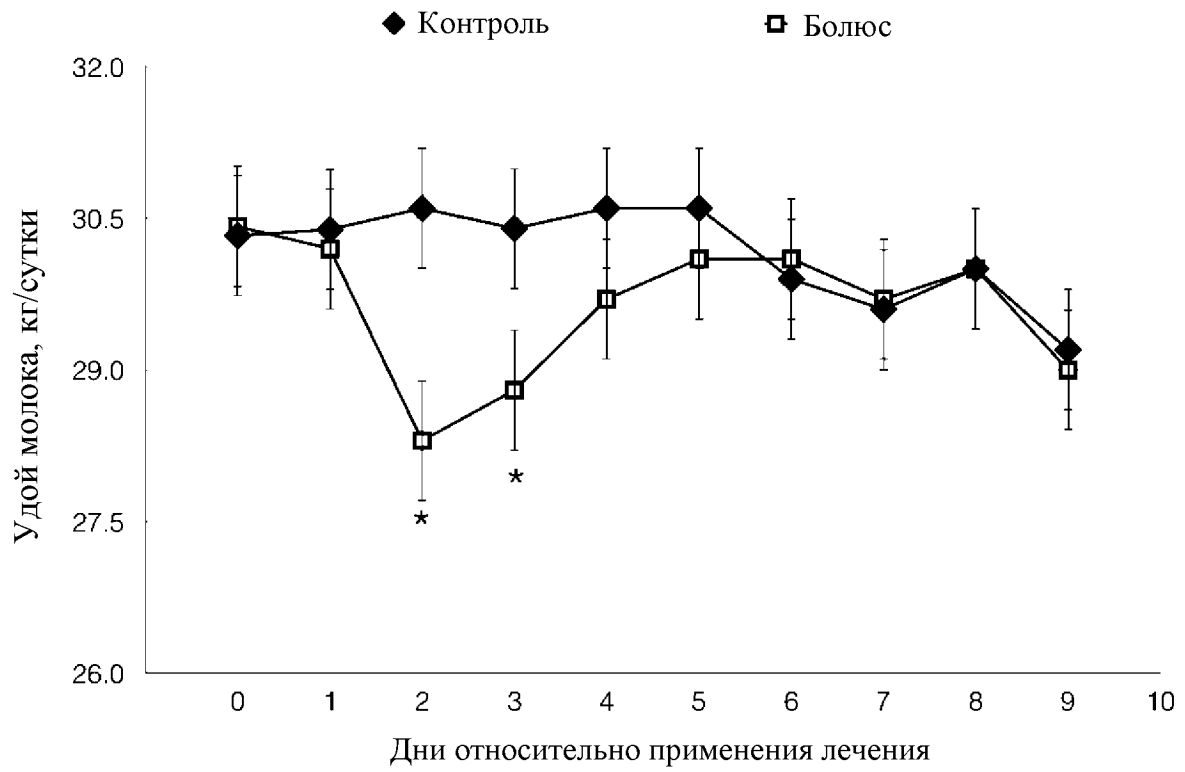
Фигура 2



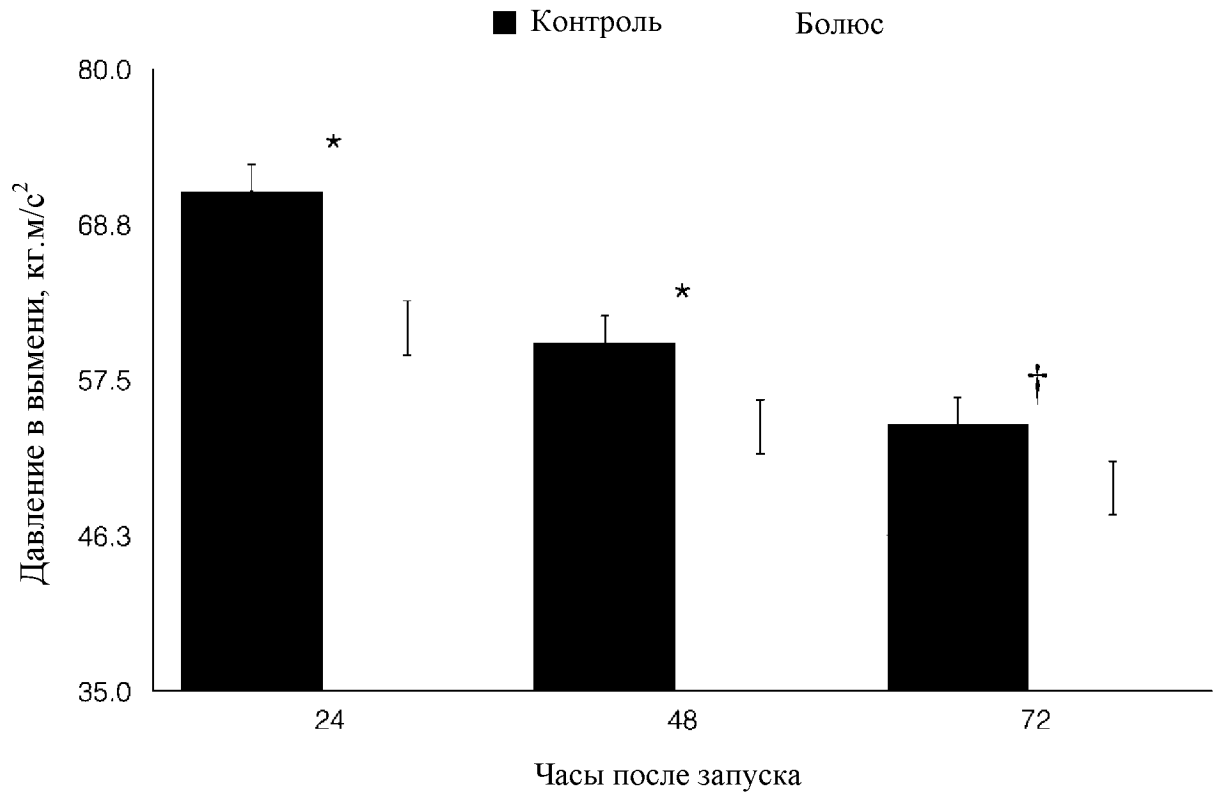
Фигура 3



Фигура 4



Фигура 5



Фигура 6

