

На правах рукописи

Киреев Иван Валентинович

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАСЕЛЕНА
И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ВЕТЕРИНАРИИ

16.00.04 – ветеринарная фармакология с токсикологией

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени кандидата
биологических наук

Краснодар – 2009

Работа выполнена на кафедре терапии и фармакологии ФГОУ ВПО
«Ставропольский государственный аграрный университет»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук
Оробец Владимир Александрович

Официальные оппоненты:

доктор ветеринарных наук, профессор
Жолобова Инна Сергеевна

доктор биологических наук, профессор
Беляев Василий Иванович

Ведущая организация: ГНУ «Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт»
Россельхозакадемии

Защита состоится 30 июня 2009 г. в 10⁰⁰ часов на заседании
диссертационного совета Д 220.038.07 при ФГОУ ВПО «Кубанский
государственный аграрный университет» по адресу: 350044, г. Краснодар, ул.
Калинина, д. 13. Факультет ветеринарной медицины, аудитория № 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Кубанский
государственный аграрный университет»

Автореферат размещен на официальном сайте ФГОУ ВПО «Кубанский
государственный аграрный университет» - <http://www.kubagro.ru>

Автореферат разослан «___» _____ 2009 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

И.А. Родин

1. Общая характеристика работы.

Актуальность темы.

Гипомикроэлементозы занимают значительную долю в структуре незаразных болезней животных и птиц. Одним из наиболее дефицитных микроэлементов является селен, обеспечивающий активность окислительно-восстановительных ферментов и витаминов, иммунологическую резистентность, а также антиоксидантную защиту организма. Его недостаток вызывает: беломышечную болезнь, токсическую дистрофию печени (гепатоз), энцефаломалацию, экссудативный диатез, депрессию роста, фиброз поджелудочной железы, гемоглобинурию у телят и др. (В.А. Антипов, Турченко А.Н и др., 2004; В.А. Антипов, 2006; И.Ф. Горлов, 2005; Т.И. Лапина, Л.В. Иванова, 2005, 2008; E. Kolb, J. Seehawer, 2001).

Селенодефицитность организма во многом вызвана низким содержанием этого микроэлемента в почвах (Т.Н. Родионова, 2004). Неравномерное распределение селена в почве и воде обуславливает различную концентрацию его в растениях разных природно-климатических зон. Установлена определенная корреляция между содержанием селена в почве и кормовых растениях с одной стороны, и в организме животных, с другой (С.Ф. Алешко, 1971; Т.Ф. Беренштейн, С.А. Лапшин, 1988). Исходя из этого, фармакологическая коррекция селенового статуса сельскохозяйственных животных является актуальной задачей ветеринарной науки и практики.

В настоящее время в практике животноводства используется ряд селеносодержащих препаратов: ДАФС-25, Селенолин, Е-селен, Селенопиран, Селемаг, Селекор и др., имеющих различные степени терапевтической и профилактической эффективности. В этом отношении большой научный и практический интерес представляет разработка и оценка новых эффективных нетоксичных лекарственных форм селеносодержащих препаратов.

Цели и задачи исследований. Целью работы явилась разработка препарата для лечения и профилактики болезней, связанных с дефицитом селена и оценка его фармако-токсикологических свойств.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- определить содержание селена в кормах и крови животных в различных агроклиматических зонах Ставропольского края;
- оценить эффективность известных селеносодержащих препаратов для профилактики гинекологических осложнений в послеродовой период у коров, а также их влияние на продуктивность молодняка крупного рогатого скота и овец;
- разработать селеносодержащий препарат, изучить его фармако-токсикологические параметры и лечебно-профилактическую эффективность в различных показаниях, отработать оптимальные терапевтические дозы на лабораторных животных;
- разработать нормативную документацию по применению и контролю качества препарата.

Научная новизна. Установлено, что Ставропольский край является провинцией с низким содержанием селена в кормах растительного происхождения и крови крупного рогатого скота.

Впервые изучены фармако-токсикологические свойства селенсодержащего препарата, частицы действующего вещества в котором имеют наноразмерное состояние и нулевую валентность. Установлено, что повышение усвояемости селена, достигается за счет наноразмерного состояния частиц при одновременном синергетическом снижении токсичности за счет нулевой валентности.

Изучена эффективность разработанной лекарственной формы препарата при лечении и профилактике акушерских осложнений в послеродовой период, дана оценка его влияния на продуктивность молодняка крупного рогатого скота и овец в сравнении с использованием селенита натрия. Получена справка о приоритете на изобретение (№2008137463/15(048199) от 10.09.2008 года).

Практическая значимость работы. Производству предложен новый селенсодержащий препарат «Экстраселен» для лечения и профилактики болезней, связанных с дефицитом селена имеющий наноразмерные частицы действующего вещества с нулевой валентностью. Полученные данные, отражают содержание селена в кормах и организме животных в различных агроклиматических зонах Ставропольского края, свидетельствуют о необходимости фармакологической коррекции селенового статуса животных. В процессе выполнения работы разработаны технические условия «Препарат для лечения и профилактики болезней связанных с дефицитом селена для сельскохозяйственных животных Концентрат нульвалентного наноселена «Экстраселен», временная инструкция по применению препарата «Экстраселен» утвержденные Управлением ветеринарии Ставропольского края и методические рекомендации «Профилактика и лечение селенодефицитных заболеваний животных и птиц» рассмотренные и одобренные к изданию научно-техническим советом Министерства сельского хозяйства Ставропольского края (Протокол №15 от 15.12.2006 г.) .

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Содержание селена в кормах растительного происхождения и крови крупного рогатого скота в различных агроклиматических зонах Ставропольского края.
2. Фармако-токсикологическая оценка «Экстраселена» и его влияние на организм животных.
3. Обоснование применения «Экстраселена» в качестве лечебно-профилактического средства в ветеринарии.

Апробация результатов исследований. Материалы научной работы доложены на заседаниях Ученого совета ФГОУ ВПО Ставропольский ГАУ (2006–2009 гг), заседаниях кафедры терапии и фармакологии Ставропольского ГАУ(2007–2009 гг); 71, 72 и 73-й Научно-практических конференциях Ставропольского ГАУ (2007–2009 гг); Международных научно-практических конференциях Ставропольского НИИЖК (2006, 2007

гг); Юбилейной международной научно-практической конференции УГАВМ (Троицк, 2007); Первом съезде ветеринарных фармакологов России (ВНИИПФиТ, Воронеж, 2007); Научно-практической конференции фармакологов Российской Федерации (УГАВМ, Троицк, 2007); Первом международном конгрессе ветеринарных фармакологов (СпбГАВМ, Санкт-Петербург, 2008).

Реализация результатов исследований.

Разработаны методические рекомендации «Профилактика и лечение селенодефицитных заболеваний животных и птиц» в соавторстве с В.А. Оробец, В.А. Беляевым, В.А. Антиповым, Г.А. Джиалиди, рассмотренные и утвержденные Министерством сельского хозяйства Ставропольского края (протокол №15 от 15.12.2006 года). Разработан новый селеносодержащий препарат «Экстраселен» (получено положительное решение на выдачу патента РФ). Отдельные фрагменты диссертационной работы используются в учебном процессе факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВПО «Ставропольский государственный аграрный университет» при чтении лекций и проведении практических занятий по курсам «Ветеринарная фармакология. Токсикология» и «Внутренние незаразные болезни животных».

Публикация результатов исследований. По теме диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе 2 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Разработаны и выпущены методические рекомендации. Получено положительное решение на выдачу патента РФ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 157 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов, практических предложений, списка литературы включающего 214 источников из которых 65 иностранных авторов и приложения. Работа содержит 33 таблицы, иллюстрирована 37 рисунками.

2. Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2006 по 2009 годы на кафедре терапии и фармакологии Ставропольского ГАУ, кафедре органической и физической химии СевКавГТУ, лаборатории патологии обмена веществ Ставропольского НИИЖК и сельхозпредприятиях Ставропольского, Краснодарского краев и Карачаево-Черкесской республики.

В лабораторных, научно-хозяйственных и производственных опытах использовано 124 белых лабораторных мышей, 68 белых беспородных крыс, 104 кролика, 175 коров, 80 голов молодняка крупного рогатого скота, 30 овец и 60 ягнят. Контрольные и опытные группы формировались с учетом принципа аналогов.

Характер, объект и объем исследований

№	Вид исследований	Объект и объем исследований
1	Определение содержания селена в кормах и крови животных в различных агроклиматических зонах Ставропольского края, Белоглинского района Краснодарского края и Прикубанского района Карачаево-Черкесской республики.	6 опытов: 60 лактирующих коров 3-5-летнего возраста. Проведено 240 биохимических исследований. 6 опытов: 31 проба кормов растительного происхождения. Проведено 186 исследований по определению содержания микроэлементов.
2	Оценка влияния Е-селена и селенолина на течение послеродового периода у коров и продуктивность молодняка крупного рогатого скота	3 опыта: 40 коров 3-6-летнего возраста, 50 голов молодняка крупного рогатого скота 6-месячного возраста. Проведено 1780 биохимических, 120 гематологических и 191 клинико-диагностических исследований. Испытано 2 препарата.
3	Изучение фармако-токсикологических свойств препарата «Экстраселен»	3 опыта: 84 белых мышей, 68 белых крыс, 4 кролика.
4	Определение терапевтической дозы	2 опыта: 40 белых мышей, 60 кроликов 8-месячного возраста. Проведено 480 гематологических и 3000 биохимических исследований.
5	Изучение влияния «Экстраселена» на основные показатели биохимического статуса кроликов	1 опыт: 40 кроликов возрастом 7 месяцев. Проведено 400 гематологических и 2100 биохимических исследований.
6	Изучение влияния «Экстраселена» на систему антиоксидантной защиты овец	1 опыт: 30 голов овец возрастом 10 месяцев. Проведено 240 гематологических и 1320 биохимических исследований.
7	Определение влияния «Экстраселена» на течение послеродового периода коров в сравнении с селенитом натрия	1 опыт: 75 голов коров на последних месяцах беременности возрастом 3-7 лет. Проведено 2700 гематологических, 4800 биохимических и 162 клинико-диагностических исследований.
8	Влияние «Экстраселена» на биохимические показатели и продуктивность телят в сравнении с селенитом натрия	1 опыт: 30 голов телят 2-недельного возраста. Проведено 360 гематологических, 2040 биохимических и 90 клинико-диагностических исследований.
9	Влияние «Экстраселена» на биохимические показатели и продуктивность ягнят в сравнении с селенитом натрия	1 опыт: 60 голов ягнят 2-месячного возраста. Проведено 1200 гематологических, 5400 биохимических и 180 клинико-диагностических исследований.

Определение острой токсичности, ускоренное определение кумулятивного эффекта и изучение раздражающего действия проводили согласно «Методических указаний по токсикологической оценке новых препаратов для лечения и профилактики незаразных болезней животных» (В.Т. Самохин, 1987). При определении острой токсичности препарат животным вводили внутримышечно в возрастающих дозах с равным интервалом между ними, учитывали количество павших и выживших животных, процент летальности и ее выражение в пробитах (по А.А. Ступникову, 1975). По классу опасности препарат классифицировали согласно ГОСТ 12.1.007-76. По кумулятивным свойствам препарат классифицировали согласно «Классификации химических веществ по степени кумуляции» (Л.Н. Медведь, 1964). Раздражающее действие определяли методом конъюнктивальных проб.

Количество лейкоцитов в крови определяли методом подсчета в счетной камере Горяева, количество эритроцитов и гемоглобина – эритрогемометром. Лейкоцитарную формулу выводили при подсчете лейкоцитов в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимзе (И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, 1985).

Определение содержания глюкозы в крови проводили ортотолуидиновым методом Гультмана в модификации Хиваринена-Никкила (О.Д. Кушманова, 1983).

При определении показателей системы антиоксидантной защиты организма и продуктов свободнорадикального окисления пользовались следующими методиками (И.П. Кондрахин, А.В. Архипов и др. 2004):

- активность каталазы в крови (КФ 1.11.1.6) определяли методом, основанным на способности H_2O_2 образовывать с молибдатом аммония стойкий окрашенный комплекс с максимумом поглощения при 410 нм;

- активность пероксидазы в крови (КФ 1.11.1.7) методом, основанным на определении скорости реакции окисления бензидина H_2O_2 при участии фермента с образованием окрашенного продукта реакции, имеющего максимум поглощения при 520 нм;

- активность глутатионпероксидазы в крови (КФ 1.11.1.9) определяли методом, принцип которого основан на том, что глутатионпероксидаза окисляет восстановленный глутатион, по уменьшению которого в среде инкубации определяется активность фермента;

- содержание восстановленного глутатиона в крови определяли методом, основанным на том, что SH-группа восстановленного глутатиона вступает в реакцию с 5,5-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой, в результате чего в эквимольных количествах образуется окрашенный в желтый цвет тионитрофенильный анион, имеющий максимум поглощения при 412 нм;

- концентрацию диеновых конъюгатов в крови определяли методом, в основе которого лежит принцип, заключающийся в том, что процесс перекисного окисления полиненасыщенных жирных кислот сопровождается перегруппировкой двойных связей и возникновением системы сопряженных

диеновых структур, имеющей максимум поглощения при 232-234 нм с плечом в области 260-280 нм;

- количество малонового диальдегида в крови определяли методом основанным на том, что при высокой температуре в кислой среде малоновый диальдегид реагирует с 2-тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного триметинового комплекса, экстрагируемого бутанолом, имеющего максимум поглощения при 532 нм.

Микро- и макроэлементы определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре ААС-1 (У. Славин, 1971).

Уровень общего белка сыворотки крови определяли рефрактометрическим методом, белковые фракции сыворотки крови турбидиметрическим (нефелометрическим) методом, количество общих липидов с сульфифосфованилиновым реактивом (по Целнеру–Киршу в изложении Л.В. Орловой). Содержание общего холестерина сыворотки крови – по реакции Любермана–Бурхарда в модификации Илька, билирубин определяли по методу Ендрассика–Клеггорна–Грофа (И.П. Кондрахин, А.В. Архипов и др., 2004).

Активность аминотрансфераз (АсАТ, АлАТ) определяли фотокалориметрическим способом с использованием стандартного набора БИО-ТЕСТ фирмы «Lachema» (И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, 1985).

Общий кальций сыворотки крови определяли комплексонометрическим методом с флуорексоном; неорганический фосфор – по Пулсу в модификации В.Ф. Коромылова и Л.А. Кудрявцевой с ванадат-молибденовым реактивом; магний – по цветной реакции с титановым желтым (по Кункелю, Пирсону, Швейгерту в модификации И.В. Петрухина) (И.П. Кондрахин, А.В. Архипов и др., 2004).

Данные, полученные в опытах, биометрически обработаны на ПК с помощью программы «Биостат».

3. Результаты исследований

3.1. Изучение микроэлементного статуса животных в Ставропольском крае

При оценке микроэлементного статуса животных по исследуемым показателям выявлено избыточное содержание железа в крови коров из всех обследованных районов более чем в два раза выше нормы. Установлен недостаток цинка, уровень которого в разных районах, за исключением Предгорного, был от 3,3 до 53,3% ниже нормы. Отмечен крайне низкий уровень меди во всех исследуемых пробах, дефицит которой составил около 98%. Содержание селена в крови коров была существенно ниже физиологической нормы.

Выявленный недостаток селена в крови животных может быть следствием двух причин: недостаточного поступления данного микроэлемента в организм животных с кормами или не усвоением его организмом по каким-либо причинам. Для выяснения этого нами был

проведен минеральный анализ кормов и установлено, что территория Ставропольского края является провинцией с пониженным содержанием селена.

3.2. Изучение действия известных селеносодержащих препаратов на организм крупного рогатого скота

3.2.1. Влияние Е-селена на частоту проявления акушерской патологии в послеродовой период у коров

В опыте по оценке влияния Е-селена на течение послеродового периода использовали две группы коров на последних месяцах беременности. Коровы первой группы служили контролем. Животным второй группы ввели Е-селен в дозе 1мл на 50 кг массы животного за 60, 30 дней до предполагаемого отела и после родов.

Применение Е-селена способствовало снижению заболеваемости на 10%, по сравнению с контролем, в том числе эндометритами – в 1,5 раза и субинволюции матки – в 2 раза. Животные опытной группы быстрее приходили в охоту и более плодотворно осеменялись в сравнении с контрольными. У коров опытной группы сервис-период сократился на 8 дней, а кратность осеменения в 1,4 раза.

Анализ морфологических и биохимических показателей крови подопытных животных показал, что Е-селен оказывает стабилизирующее действие на некоторые показатели обмена белков и липидов.

Активация антиоксидантной системы организма характеризовалась уменьшением концентрации малонового диальдегида (МДА), уровень которого в крови животных опытной группы к концу беременности снизился на 14,5%, в то время как у животных контрольной группы регистрировали его увеличение на 2,9%. Концентрация диеновых конъюгатов (ДК) в крови коров опытной группы сократилась на 17,6%, в то время как в контроле этот показатель увеличился на 6,0%. Активность каталазы и пероксидазы в крови в опыте возросла на 14,4 и 4,9% соответственно, в контроле эти показатели незначительно уменьшились.

3.2.2. Влияние Е-селена и селенолина на продуктивность молодняка крупного рогатого скота

В опыте использовали телят в шестимесячном возрасте. Препараты вводили внутримышечно однократно в дозе на 50 кг живой массы: Е-селен – 1 мл, селенолин – 0,5 мл, селенит натрия в форме 0,5% водного раствора – 1 мл.

Применение Е-селена способствовало увеличению концентрации селена в крови телят в 2,7 раза, уменьшению ДК через 60 суток на 13,8% и было достоверно ниже, чем у животных контрольной группы. Активность каталазы и пероксидазы крови увеличилась соответственно на 12,9 и 8,6%, а

концентрация МДА уменьшилась через 60 дней на 15,5% и была достоверно ниже, чем у животных контрольной группы. За период наблюдения от 6 до 8 месяцев прирост живой массы у телят опытной группы составил 42,1 кг, что больше, чем в контроле на 7,3%.

Через два месяца после введения препаратов уровень селена возрос в группе получившей селенит натрия в 2,3, селенолин – в 4 раза. Содержание общих липидов у животных опытных групп имело выраженную тенденцию к снижению. Количество эритроцитов, уровень гемоглобина и общего белка изменялись в пределах физиологической нормы и не имели достоверных отличий относительно показателей у животных из контрольной группы.

Прирост живой массы телят получивших натрия селенит составил 42,1 кг, селенолин – 49,3 кг что больше, чем в контроле соответственно на 7,3% и 25,7%. Введение препаратов телятам в период доращивания оказывает ростостимулирующее действие, повышает концентрацию селена в крови, положительно влияет на липидный обмен и активность ферментов.

3.3. Определение токсикологических параметров

Учитывая преимущества и недостатки известных селенсодержащих препаратов, широко применяемых в ветеринарной практике, была разработана лекарственная форма препарата для лечения и профилактики нарушений обмена селена для сельскохозяйственных животных. Препарат является неорганическим производным селена и изготовлен на основе нанотехнологий; частицы действующего вещества имеют наноразмерное состояние и нулевую валентность.

Препарат «Экстраселен» получили восстановлением неорганического производного селена с образованием атомов селена в нулевой степени окисления или нульвалентных, которые затем конденсировали с образованием наночастиц селена размером 50 нм и стабилизировали полиэлектролитом. Таким образом, лекарственная форма имеет ряд принципиальных отличий от известных селенсодержащих препаратов:

- 1) действующее вещество препарата представлено селеном, а не его соединением;
- 2) действующее вещество препарата в наноразмерном состоянии;
- 3) селен в составе лекарственной формы находится в нулевой валентности (Se^0).

3.3.1. Определение острой токсичности

При введении различных доз экстраселена белым мышам установили, что максимально переносимой (МПД) является 9,4 мг/кг по ДВ.

Опыт по определению смертельных доз проводился на мышах и крысах, которые были разделены на опытные и контрольные группы методом случайной выборки, с учетом массы тела в качестве определяющего

показателя, по восемь разнополых особей в каждой. Препарат животным вводили внутримышечно в возрастающих дозах с равным интервалом между ними. Учитывали количество павших и выживших животных, процент летальности и ее выражение в пробитах (по А.А. Ступникову, 1975).

Величины LD₁₆ и LD₈₄ определили графически на основании доз в мг и соответствующих пробитов. Используя полученные данные в остром опыте построили пробитный график, на оси абсцисс отложили пробиты, на оси ординат – дозы эффекта, нашли связующие их точки в системе координат и провели через них линию. На графике нашли величины LD₁₆ и LD₈₄, причем первой соответствует пробит 4, второй пробит 6.

Показатель ошибки средней дозы эффекта SLD₅₀ рассчитали по следующей формуле: $SLD_{50} = \frac{LD_{84} - LD_{16}}{2n}$

LD₁₆ и LD₈₄ – дозы эффекта, мг/кг

Таблица 1 – Острая токсичность препарата «Экстраселен» при однократном внутримышечном введении (мг/кг).

Вид животных	Параметры токсичности					SLD ₅₀
	МПД	LD ₁₆	LD ₅₀	LD ₈₄	LD ₁₀₀	
Белые мыши	10,17	25,38	32,9	44,18	56,4	±0,29
Белые крысы	10,34	27,31	35,9	49,96	59,8	±0,35

Исходя из результатов опыта по изучению острой токсичности препарата «Экстраселен» (табл. 1) на белых лабораторных мышах и белых нелинейных крысах при однократном внутримышечном введении (табл. 8) его можно классифицировать по ГОСТ 12.1.007-76 и отнести ко 2 классу опасности.

3.3.2. Ускоренное определение кумулятивного эффекта

Первые 4 дня эксперимента препарат вводили в дозе равной 1/10 от LD₅₀ установленной в опыте по определению острой токсичности экстраселена для этого вида животных. Учитывая, что средний вес крыс при взвешивании до опыта составил 132 ± 9 гр доза эквивалентная 1/10 от LD₅₀ составила 0,46 мг на 1 животное или 3,59 мг/кг живой массы. Применение препарата в этой дозе в течение четырех дней не вызвало видимых изменений в поведении, приеме корма.

На пятые сутки проводимого опыта увеличили дозу экстраселена в 1,5 раза – до 0,67 мг на одну опытную крысу или 5,38 мг/кг живой массы и в таком количестве вводили препарат на протяжении четырех дней. На протяжении этих четырех дней также не наблюдали отклонений аппетита, поведения животных, изменений видимых слизистых оболочек и состояния шерстного покрова.

На следующем этапе дозу препарата увеличили в два раза от исходной – до 1,39 мг на 1 животное или 10,7 мг/кг живой массы. До 10 дня проведения опыта заметных изменений в поведении крыс из опытной и контрольной группы не отмечалось, за исключением отставания в среднесуточном приросте у тех, которым вводили препарат. С 10 суток у животных, которые получали экстраселен заметно снизился аппетит и поедаемость корма, животные стали малоподвижны. На 13 день стала заметна потеря эластичности кожного покрова в опытной группе, волос был взъерошен, крысы потеряли в весе (в среднем на 7 г). На 14 сутки пало одно животное из первой группы. У остальных крыс состояние осталось неизменным.

С 15 дня проведения эксперимента препарат вводили в дозе, равной 17,95 мг/кг. После первого введения препарата опытным крысам, у большинства из них были заметны возбуждение, чередовавшееся кратковременными периодами угнетения и потерей двигательной активности. Это возбуждение длилось у разных животных от 4 до 13 минут. Общее состояние крыс из опытной группы было угнетенным, они практически не поедали корм. На 16 сутки пало еще два животных, а на 18 сутки погибли четыре крысы. Так как на 18 день после третьего введения препарата в дозе 17,95 мг/кг живой массы в сумме погибло более половины животных из опытной группы, опыт по ускоренному определению кумулятивного эффекта был завершен. Дозу, которая была введена животным на 17 день, в суммарную токсическую не включили, а общую дозу, введенную одному животному за первые 16 дней эксперимента, определили как среднесмертельную при многократном введении. Состояние животных из контрольной группы, которым вводили соответствующий объем растворителя (вода для инъекций) на протяжении всего опыта было без видимых изменений.

Исходя из полученных результатов препарат «Экстраселен» можно отнести по степени кумуляции к 3 группе (по Л.Н. Медведю, 1964) то есть к веществам, обладающим умеренной кумуляцией.

3.3.3. Изучение раздражающего действия экстраселена.

Эксперимент по изучению раздражающего действия препарата «Экстраселен» проводили на кроликах, взятых из одного помета, методом конъюнктивальных проб. Препарат разведен из расчета в 1 мл воды для инъекций 1 мг ДВ. Кроликам под верхнее веко с помощью глазной пипетки ввели по одной капле препарата в правый глаз, а в левый глаз аналогично – воду для инъекций (контроль).

За опытными животными вели наблюдение в течение часа. Сразу, после введения, наблюдали незначительное возбуждение, которое длилось около минуты. Через 30 минут у трех животных в правом глазе отмечалось незначительное изменение цвета (конъюнктивы приобрела слабый бледно-розовый оттенок), что может свидетельствовать о небольшом увеличении

кровотока. В левом глазу изменений цвета конъюнктивы не зарегистрировано.

Осмотр животных проводили через 12 часов после введения, сутки и двое суток. Видимых различий между состоянием левого и правого глаза у опытных кроликов при этом не наблюдали. Таким образом, препарат «Экстраселен» не обладает выраженным раздражающим действием.

3.4. Отработка оптимальной терапевтической дозы экстраселена

В опыте использовали 6 групп кроликов, 1 из которых служила контролем, а группам 2, 3, 4, 5 и 6 вводили экстраселен в разных дозах. При анализе биохимических показателей отмечено, что уровень глюкозы в крови в контроле через 14 дней остался практически неизменным, а во второй группе увеличился на 2,78%. В третьей группе на данном этапе произошло незначительное снижение уровня глюкозы на 1,09% не выходящее за пределы физиологической нормы, в то время как в четвертой, пятой и шестой группах, снижение составило 17,8, 26,7 и 33,3% соответственно и уровень глюкозы в данных группах был ниже нормы для этого вида животных. Уменьшение уровня глюкозы можно объяснить проявлением токсичности повышенных доз препарата, пик которой приходится на 7 день после введения. Подтверждением этого может служить синхронное увеличение активности аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в тех группах, в которых понижался уровень глюкозы, что говорит о возрастающей нагрузке на печень при увеличении дозы препарата. Введение препаратов отразилось на системе антиоксидантной защиты организма. Так, концентрация малонового диальдегида (МДА) в крови на 14 сутки уменьшилась во второй, третьей, четвертой, пятой и шестой группах на 37,9%, 33,9%, 22,9% и 10,3% 1,9% соответственно, а в первой группе концентрация МДА была выше соответственно на 8,3% и 3,2%.

По совокупности изменений биохимических показателей в крови у подопытных кроликов установлено, что оптимальной препарата «Экстраселен» для лечения и профилактики селенодефицитных заболеваний сельскохозяйственных животных является 0,025 мг/кг, которая далее была испытана в опытах на коровах, молодняке крупного рогатого скота и овец.

3.5. Изучение действия экстраселена на организм животных

3.5.1. Изучение влияния препарата на организм кроликов.

Для изучения действия препарата «Экстраселен» сформировали четыре группы (две опытных и две контрольных) кроликов (n=10). Животным первой и второй групп препарат вводили внутримышечно, однократно в дозе 0,025 мг/кг. Животные третьей и четвертой групп препарат не получали и служили контролем, причем третья группа была контрольной по отношению к первой, а четвертая контрольной по отношению ко второй. В крови

животных первой и третьей групп исследовали показатели белкового и минерального обмена, содержание глюкозы и холестерина. В крови кроликов из второй и четвертой группы определяли гематологические показатели и показатели системы антиоксидантной защиты организма.

Отмечено повышение уровня гемоглобина в опытной группе на 9,5%, тогда как в контрольной всего на 0,7%. Параллельно с ростом уровня гемоглобина увеличилось количество эритроцитов в крови за 31 день проведения опыта на 12,8%.

При анализе белкового обмена установлено повышение содержания общего белка у животных опытной группы на 6,9 г/л или 10,1%, в контрольной группе – на 0,8 г/л или на 1,2%. Рассматривая процентное соотношение белковых фракций можно отметить, что разница между группами была в динамике изменения трех показателей. Так, в опытной группе содержание альбуминов увеличилось на 5,1%, в контрольной – на 1,9%. У животных опытной группы количество β -глобулинов было ниже через 31 день после введения относительно исходного на 13,0%, в то время как у контрольных наоборот произошло повышение их количества на 9,8%. Вероятно повышение количества общего белка у животных опытной группы произошло в результате увеличения содержания альбуминов, за счет активизации обменных процессов в организме и улучшению усвоения питательных веществ корма. Уровень глюкозы увеличился на 6,1%, а в контрольной уменьшился на 1,1%.

На протяжении 30 дней с момента введения экстраселена в крови у кроликов в динамике наблюдали устойчивую тенденцию к снижению содержания железа. К концу опыта уровень железа в крови опытных кроликов понизился на 15,6%, в то время как у контрольных зарегистрировано увеличение на 2,6%. Уровень гемоглобина и количество эритроцитов в опытной группе возрастали.

Уровень селена в крови опытных и контрольных животных до введения препарата был намного ниже физиологического. Так у опытных кроликов недостаток отмечен в 8,4 раза, а у контрольных в 10,9 раза. К концу опытного периода уровень селена в крови кроликов опытной группы увеличился в 8,8 раза, причем при рассмотрении динамики этого повышения видно, что уровень селена, увеличился уже через 8 дней после введения препарата в 9,4 раза, а через 15 дней этот показатель был в 9,8 раз больше исходного содержания. С 15 дня проведения опыта наблюдали постепенное уменьшение концентрации селена. Так через неделю его уровень сократился на 3,3%, а еще через неделю на 6,5%. Учитывая полученную картину изменения содержания селена в крови можно с уверенностью говорить о том, что в результате применения экстраселена в дозе 0,025 мг/кг уровень этого элемента увеличивается до физиологических показателей уже через неделю после введения.

Активность каталазы за 31 день возросла статистически достоверно по отношению к контрольной группе на 35,7%. Через 8 дней после введения экстраселена в крови животных опытной группы активность пероксидазы

достоверно увеличилась на 17,3%, а через 14 дней – на 36,3%. За опытный период активность глутатионпероксидазы (ГПО) у опытных кроликов возросла на 46,6% и статистически достоверно была выше чем в контрольной группе, в которой к концу опыта произошло снижение активности на 1,1%. Столь большое увеличение активности после введения экстраселена на наш взгляд обусловлено тем, что глутатионпероксидаза – селензависимый фермент, каждая молекула которого состоит из четырех субъединиц, в активном центре которых находится атом селена. Таким образом, на одну молекулу глутатионпероксидазы приходится 4 атома селена.

Активация ферментативного звена системы антиоксидантной защиты организма отразилась на ДК, концентрация которых в опытной группе к концу эксперимента уменьшилась на 18,5%, а МДА на 32,07%.

3.5.2. Изучение влияния препарата на систему антиоксидантной защиты организма овец.

В опыте использовали три группы овец (n=10). Животным первой группы препарат не вводили, они служили контролем. Овцам второй группы ввели экстраселен однократно внутримышечно в дозе 0,025 мг/кг живой массы. Овцам третьей группы аналогично ввели селенит натрия в дозе 0,1 мг/кг в растворе с апирогенной водой для инъекций (табл. 2). Установлено, что активность каталазы увеличилась в крови овец, которым вводили экстраселен в дозе 0,025 мг/кг живой массы, на 15,2%, а в крови овец, которым вводили селенит натрия – на 13,8%. Активность пероксидазы возросла в третьей группе на 15,0%, а во второй группе этот показатель увеличился на 14,6%, в то время как в первой группе произошло незначительное увеличение - на 2,1%. После введения обоих препаратов увеличилась активность ГПО через 45 дней на 45,3% в крови животных второй группы и на 37,6% в третьей группе. Количество восстановленного глутатиона в крови овец контрольной группы увеличилось на 5%, опытной – на 32,7%.

Таблица 2 – Гематологические и биохимические показатели крови овец (n=10)

Группа	Гемоглобин, г/л	Эритроциты, 10 ¹² /л	Холестерин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	АсАт, мккат./л	АлАт, мккат./л	Селен, мкмоль/л
До введения препарата «Экстраселен»							
1	111,73±7,21	8,21±0,34	3,95±0,22	2,07±0,15	1,34±0,09	1,91±0,12	0,11±0,01
2	108,16±4,42	7,95±0,15	3,89±0,13	1,98±0,18	1,26±0,11	1,88±0,13	0,12±0,02
3	105,34±5,37	7,68±0,23	3,81±0,23	2,02±0,07	1,39±0,11	2,02±0,17	0,10±0,09
Через 14 дней после введения препарата «Экстраселен»							
1	109,95±6,36	8,35±0,28	3,85±0,16	2,16±0,21	1,33±0,09	1,93±0,15	0,10±0,01
2	110,56±5,12	8,12±0,14	3,56±0,16	2,61±0,23	1,41±0,13	1,96±0,11	1,43±0,09*
3	107,73±6,11	7,87±0,26	3,36±0,22	2,46±0,14	1,46±0,15	2,07±0,18	1,27±0,12*
Через 30 день после введения препарата «Экстраселен»							
1	110,21±7,07	8,13±0,22	3,98±0,20	2,11±0,12	1,37±0,10	1,95±0,16	0,10±0,01
2	112,16±5,48	8,45±0,19	3,27±0,17*	2,69±0,21*	1,44±0,11	1,96±0,13	1,16±0,10*
3	112,13±7,23	8,03±0,31	3,30±0,24	2,53±0,17	1,47±0,14	2,04±0,18	1,00±0,08*
Через 45 дней после введения препарата «Экстраселен»							
1	110,64±7,74	8,15±0,17	3,89±0,23	2,18±0,16	0,35±0,09	1,93±0,14	0,09±0,01
2	115,09±6,46	8,56±0,18	3,34±0,16	2,70±0,18	1,48±0,12	2,00±0,16	0,96±0,11*
3	112,26±6,92	8,19±0,28	3,38±0,18	2,57±0,11	1,51±0,16	2,11±0,19	0,61±0,09*

Примечание: *p≤0,05 – разница статистически достоверна между данной и контрольной группой

После введения селеносодержащих препаратов концентрация ДК и МДА заметно снизилась на 37,5 и 34,3% соответственно во второй группе и на 27,02 и 26,4% в третьей, в то время как у животных контрольной группы эти показатели незначительно увеличились.

3.6. Сравнительное влияние экстраселена и селенита натрия на частоту проявления акушерской патологии в послеродовой период у коров

Сформировали три группы коров (n=25) на последних месяцах беременности. Животным первой группы вводили селенит натрия в дозе 10 мг на 100 кг живой массы за 60 и 30 дней до предполагаемого срока отела и после родов внутримышечно в виде водного раствора. По аналогичной схеме вводили Экстраселен коровам второй группы из расчета 2,5 мг на 100 кг массы тела животного внутримышечно в виде водного раствора. Третья группа животных препарат не получала и служила контролем. Кровь для исследования брали до введения препаратов, через 30 дней после введения, сразу после родов и через 30 дней. При регистрации послеродовых осложнений обращали внимание на проявление эндометрита, задержание последа, субинволюцию матки, а также подсчитывали кратность осеменения и продолжительность сервис-периода (табл. 3).

Таблица 3 – Влияние экстраселена и селенита натрия на течение родового и послеродового периодов у коров (n=25)

Группа	Патология родов и послеродового периода		Послеродовые осложнения, %			Кратность осеменения, раз	Сервис-период, дней
	гол	%	Задержание последа	Эндометрит	Субинволюция матки		
1	7	28	42,8	42,8	14,4	2,4	59,3±8,6
2	5	20	60,0	20,0	20,0	2,0	48,1±7,1
3	10	40	47,5	34,5	18,0	2,6	64,9±8,9

Примечание: *p≤0,05 – разница статистически достоверна между данной и контрольной группой

Акушерскую патологию у коров контрольной группы регистрировали в 40% случаев, в их числе 47,5% – задержание последа, 34,5% – эндометрит и в 18,0% случаев субинволюция матки. В это время в опытных группах наблюдается значительное уменьшение послеродовых осложнений. Так в группе, которой применяли селенит натрия, проявлений гинекологических отклонений было меньше на 30% чем в контроле. Зарегистрированы они

были у 7 голов, что составило 28% от количества животных в группе, а в числе осложнений 42,8% приходится на эндометрит, 42,8% на задержание последа и 14,4% – субинволюция матки. Во второй группе, которой вводили препарат «Экстраселен», заболевания половой сферы после родов выявлены у 5 коров, что составило 20%, из которых задержание последа – 60%, эндометрит – 20% и субинволюция матки – 20%. При сравнении видно, что во второй группе было меньше послеродовых осложнений на 50% и 28,5% по сравнению с контрольной и первой группе соответственно.

У коров третьей группы кратность осеменения была выше чем в остальных и составила 2,6 раза, в то время как у коров первой группы кратность осеменения была равна 2,4 раза и ниже чем в контроле на 7,69%, а у животных второй группы аналогичный показатель равен 2,0, что меньше чем в контрольной группе на 23,07%, а в группе, в которой применяли селенит натрия – на 16,6%.

Самый короткий сервис-период был у коров из группы, которой вводили «Экстраселен», и в среднем он составил 48,1 дней, а у коров из первой группы этот показатель был продолжительнее на 11,2 дня, то есть на 18,8% и составил в среднем 59,3 дня. У коров из контрольной группы сервис период был равен 64,9 дням и это больше чем в первой группе на 5,6 дня или на 8,2%, а относительно второй группы данный показатель в контроле выше на 25,9% или на 16,8 дня.

3.7. Влияние экстраселена на биохимические показатели и продуктивность телят в сравнении с селенитом натрия.

В опыте использовали три группы телят (n=10). Животные первой группы служили контролем. Телятам второй группы ввели селенит натрия в виде раствора внутримышечно из расчета 1 мг на 10 кг живой массы, третьей – аналогично ввели экстраселен из расчета 0,25 мг на 10 кг массы тела. Препараты вводили двукратно с интервалом 30 дней.

До введения препаратов количество эритроцитов и уровень гемоглобина были ниже физиологической нормы. За период опыта эти показатели постепенно увеличивались. Так количество эритроцитов во второй группе возросло на 20,98%, а в третьей на 24,09%. В контрольной группе, с момента первого отбора проб для анализа и до завершения эксперимента, число эритроцитов возросло на 18,48%. В это же время в опытных группах увеличение этого показателя было больше. Одновременно с увеличением количества эритроцитов повышался уровень гемоглобина, в контрольной группе – на 2,86%, во второй – на 7,49, в третьей – на 8,08%.

Применение препаратов способствовало повышению уровня общего белка в сыворотке крови животных опытных групп. У телят третьей группы количество его в начале опыта было равно 57,93 г/л, а в конце 65,37, увеличение составило 11,38%. В сыворотке крови животных из второй группы содержание общего белка выросло на 9,54%, а у контрольных на 2,78%.

При анализе протеинограммы установлено, что процентное содержание альбуминов во второй группе увеличилось на 7,9%, а в третьей группе на 11,38%. В первой группе увеличение этого показателя было незначительным и составило 3,4%. Увеличение альбуминовой фракции происходило за счет уменьшения содержания α -, β -, и γ -глобулинов.

За 60 дней проведения опыта средний прирост живой массы в первой группе составил 39,27 кг, во второй группе – 41,25 кг в третьей – 44,46 кг (табл. 4). Среднесуточный прирост в первой, второй и третьей группах был равен 654 г, 687 г и 741 г соответственно. Прирост живой массы у животных третьей группы был на 4,2 и 6,9% выше в сравнении с показателями первой и второй групп соответственно.

Таблица 4 – Динамика живой массы телят, кг

Группа	Количество животных в группе	Возраст, суток		
		14	44	74
1	10	36,89±1,94	52,73±2,39	76,16±3,38
2	10	37,12±2,06	54,01±2,56	78,37±3,95
3	10	37,35±1,88	55,08±2,45	81,81±3,68

3.8. Влияние экстраселена на биохимические показатели и продуктивность ягнят в сравнении с селенитом натрия.

В эксперименте использовали три группы ягнят ($n=20$) в возрасте 60 ± 9 дней. Животным первой группы ввели селенит натрия в виде водного раствора в дозе 1 мг на 10 кг живой массы. Ягнята второй группы – экстраселен в дозе 0,25 мг/кг. Животные третьей группы препарат не получали и служили контролем. Препараты вводили двукратно внутримышечно с интервалом в 45 дней. Кровь брали до введения препаратов и с интервалом 15 дней в течение двух месяцев.

Установлено, что количество эритроцитов в крови ягнят из второй группы увеличилось через 30 дней после введения экстраселена на 7,14% и составило 10,22 млн/мкл, это значение было самым высоким на протяжении всего опытного периода. В целом от начала и до завершения эксперимента в данной группе увеличение составило 12,21%. После применения натрия селенита животным первой группы, за опытный промежуток времени, этот показатель увеличился на 7,81%. В контрольной группе произошли менее значительные изменения, там число эритроцитов возросло на 2,98%.

Уровень гемоглобина повышался постепенно в крови животных опытных групп на протяжении всего периода наблюдения. Так, во второй группе увеличение составило 6,03%, в первой группе – 3,15%, в третьей – на 0,24%.

Уровень глюкозы в контрольной группе практически не изменялся на протяжении всего эксперимента, а в опытных группах увеличился: в первой группе – на 8,30%, во второй – на 9,72%.

Таблица 5 – Содержание общего белка и его фракций в сыворотке крови ягнят

№ группы	Количество животных в группе	Общий белок, г/л	Белковые фракции, %			
			альбумины	глобулины		
				α	β	γ
До введения препаратов						
1	20	64,73±4,31	39,56±1,88	19,27±1,11	12,99±0,90	26,33±1,89
2	20	64,18±3,95	38,93±2,29	19,34±1,19	12,54±0,76	27,13±2,07
3	20	65,11±4,11	39,42±2,12	19,62±1,03	13,35±0,88	26,68±0,76
Через 15 дней после введения препаратов						
1	20	65,19±3,83	39,71±2,07	19,12±1,06	13,41±0,94	26,84±2,11
2	20	65,02±4,25	39,26±2,35	20,71±1,28	12,32±0,81	27,35±1,98
3	20	65,24±4,16	39,27±2,23	20,46±1,21	13,71±0,91	26,73±0,82
Через 30 дней после введения препаратов						
1	20	67,97±4,47	42,13±2,54	18,79±1,17	11,83±1,11	27,21±1,93
2	20	68,14±4,51	42,89±2,40	17,41±1,42	11,13±0,97	28,69±1,95
3	20	65,17±4,24	39,76±2,31	19,21±1,30	13,48±0,82	27,12±0,69
Через 45 дней после первого введения						
1	20	68,42±4,53	42,34±2,48	19,43±1,58	12,07±1,02	26,67±1,75
2	20	68,77±4,38	42,97±2,61	18,26±1,25	11,53±1,16	28,49±1,91
3	20	65,54±4,32	40,19±2,37	19,52±1,15	12,76±0,94	26,43±1,03
Через 60 дней после первого введения						
1	20	68,36±4,48	43,49±2,52	18,71±1,36	11,28±1,09	27,40±1,94
2	20	69,44±4,57	44,01±2,59	17,15±1,43	10,51±1,21	29,64±2,02
3	20	65,59±4,29	40,14±2,25	19,17±1,37	12,89±0,99	26,57±1,79

У животных получавших селенит натрия, уровень общего белка увеличился на 4,75%, экстраселен – на 7,5%. Применение препаратов способствовало увеличению процентного содержания альбуминов, поскольку в контрольной группе оно было больше в конце опыта, чем в начале на 1,79%, а в первой группе – на 9,03%, во второй – на 11,54%. Также в первой и второй группах увеличилось количество γ-глобулинов на 3,90% и 8,46% соответственно. Происходило это на фоне уменьшения количества α-глобулинов, которых в конце опыта было меньше, чем в начале на 2,90% в первой группе, на 11,32 во второй, и β-глобулинов на 13,16% и 14,82% соответственно (табл. 5).

Концентрация ДК за 60 дней в первой группе достоверно уменьшилась на 15,15%, а во второй – на 31,42%, в то время как в третьей группе наоборот возросла на 13,51%. Уровень МДА в контрольной группе увеличился на 7,24%. У ягнят, получавших селенит натрия, данный показатель снизился на 13,56%, экстраселен – на 25,80% за счет активации антиоксидантных ферментов. Так, активность каталазы в крови животных первой группы увеличилась на 11,9%, во второй – на 14,24%, а разница была статистически достоверна по отношению к контрольной группе. Активность пероксидазы возросла в первой группе на 6,45%, во второй на 7,96% и в третьей на 0,73%. У животных второй группы активность ГПО увеличилась на 27,75%, первой – у ягнят контрольной группы уменьшилась на 5,79%.

Через 15 дней после введения препаратов в опытных группах был ликвидирован дефицит селена, уровень которого в первых пробах крови был ниже физиологического в 8 раз и более. Так, в крови ягнят второй группы к концу опыта уровень селена увеличился в 14,1 раза, первой – в 9,6 раз.

За период наблюдения прирост живой массы у ягнят первой группы составил 5,01 кг, второй – 5,74 кг, третьей – 4,57 кг.

4. Выводы

1. Ставропольский край, Белоглинский район Краснодарского края и Прикубанский район Карачаево-Черкесской Республики – провинции с низким содержанием селена в кормах растительного происхождения и крови животных. Нормализация обмена селена в организме животных может быть достигнута при помощи фармакологической коррекции.

2. Препарат «Е-селен» оказывает профилактический эффект, предупреждая возникновение родовых и послеродовых осложнений у коров, при введении за 60, 30 дней до предполагаемого срока отела и после родов. Применение Е-селена и селенолина способствует увеличению прироста живой массы молодняка крупного рогатого скота.

3. Селеносодержащий препарат «Экстраселен» созданный с использованием нанотехнологий относится ко второму классу опасности по ГОСТу 12.1.007-76, не обладает выраженным кумулятивным эффектом и раздражающими свойствами. Его токсичность в три раза меньше, чем у селенита натрия.

4. Повышение усвояемости, биологической доступности и следовательно, эффективности экстраселена достигается за счет наноразмерного состояния частиц селена в его составе при синергическом снижении токсичности за счет нульвалентного состояния селена.

5. Введение экстраселена в дозе 0,025 мг/кг массы тела животным способствует нормализации уровня селена в их организме, активизации ферментативного звена антиоксидантной системы защиты, за счет повышения активности каталазы, пероксидазы и глутатионпероксидазы и снижению концентрации продуктов перекисного окисления в крови.

6. Применение экстраселена в терапевтической дозе (0,025 мг/кг) коровам за 60, 30 дней до предполагаемого срока отела и после родов способствует уменьшению развития акушерской патологии, сокращает сервис-период и уменьшает кратность осеменения. При этом экстраселен более эффективен в сравнении с селенитом натрия.

7. Применение экстраселена положительно влияет на прирост живой массы молодняка крупного рогатого скота. Введение препарата ягнятам в двухмесячном возрасте повышает их мясную продуктивность, а также способствует стабилизации гемопоеза, повышает содержание общего белка и глюкозы, защищает организм от повреждающего действия свободных радикалов. При этом применение экстраселена оказывает больший эффект по сравнению с селенитом натрия.

5. Практические предложения

Для практического применения в качестве лечебно-профилактического средства рекомендуется применение экстраселена при селенодефицитных состояниях у крупного рогатого скота и овец для профилактики послеродовых осложнений и повышения продуктивности животных.

Материалы исследований могут быть использованы при написании соответствующих разделов справочных и методических пособий по диагностике болезней и терапии животных, ветеринарной фармакологии, токсикологии, а также в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий в высших и средних специальных учебных заведениях.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Оробец, В.А. Влияние Е-селена на молочную продуктивность / В.А. Оробец, И.В. Киреев // Животноводство - продовольственная безопасность страны: Материалы международной науч.-практ. конф. / СНИИЖК. – Ставрополь, 2006. – С. 134-135.

2. Оробец, В.А. Влияние Е-селена на репродуктивную функцию коров / В.А. Оробец, В.А. Беляев, И.В. Киреев // Российский ветеринарный журнал. – 2007. – С. 18-19.

3. Оробец, В.А. Профилактика селенодефицита у коров / В.А. Оробец, И.В. Киреев // Современные проблемы ветеринарной терапии и диагностики болезней животных: Материалы юбилейн. международн. научн.-практич. конференции. – Троицк, 2007. – С. 71-73.

4. Оробец, В.А. Селенодефицит и его коррекция у телят / В.А. Оробец, В.А. Беляев, И.В. Киреев // Достижения ветеринарной науки – на вооружение практическому животноводству: Материалы первого съезда ветеринарных фармакологов России. – Воронеж, 2007. – С. 474-476.

5. Киреев, И.В. Влияние препарата Интровит ES-100 на продуктивность молодняка крупного рогатого скота / И.В. Киреев, В.А.

Оробец // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: Материалы 71-й научной конференции СтГАУ. – Ставрополь, 2007. – С. 27-29.

6. Оробец, В.А. Влияние селенолина на прирост живой массы и биохимический статус молодняка крупного рогатого скота / В.А. Оробец, В.А. Беляев, И.В. Киреев // Фармакологические и экотоксикологические аспекты ветеринарной медицины: Материалы научно-практической конференции фармакологов Российской Федерации. – Троицк, 2007. – С. 231-234.

7. Оробец, В.А. Влияние Е-селена на прирост живой массы ягнят / В.А. Оробец, И.В. Киреев // Состояние, перспективы, стратегия развития и научного обеспечения овцеводства и козоводства Российской Федерации. Часть II: Материалы Международной научно-практической конференции посвященной 75-летию со дня основания ВНИИОК. – Ставрополь, 2007. – С. 141-142.

8. Оробец, В.А. Влияние препарата интровит ES-100 на воспроизводительные функции коров / В.А. Оробец, В.А. Беляев, И.В. Киреев // Ветеринария Кубани. – 2007. – №5. – С. 21.

9. Беляев, В.А. Влияние селемага на продуктивность молодняка крупного рогатого скота / В.А. Беляев, В.А. Оробец, И.В. Киреев // Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. по матер. V Междунар. Науч.-практ. Конф. – Ставрополь, 2007. – С. 249-252.

10. Оробец, В.А. Влияние Е-селена на репродуктивную функцию и продуктивность крупного рогатого скота / В.А. Оробец, В.А. Беляев, И.В. Киреев, В.А. Сидоркин // Эффективные и безопасные лекарственные средства: Материалы первого международного конгресса ветеринарных фармакологов. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 20-21.

11. Киреев, И.В. Определение параметров токсичности нового селенсодержащего препарата «Селевит» и оценка его влияния на организм кроликов / И.В. Киреев // Современные проблемы устойчивого развития агропромышленного комплекса России: Мат. Пятой Всероссийской дистанционной науч.-практ. Конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – пос. Персиановский, 2008. – С. 56-58.

12. Киреев, И.В. Влияние экстраселена на течение родов и послеродового периода у коров / И.В. Киреев, В.А. Оробец, В.А. Беляев // Международный вестник ветеринарии – 2008. – №3. – С.55-56.

13. Киреев, И.В. Определение параметров острой токсичности новых селенсодержащих препаратов / И.В. Киреев, В.А. Оробец // Диагностика, лечение и профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: Сб. научных статей 72 научно-практической конф. – Ставрополь, 2008. – С. 46-48.

14. Беляев, В.А. Профилактика и лечение селенодефицитных заболеваний животных и птиц: метод. рекомендации / В.А. Беляев, В.А.

Орбец, И.В. Киреев, Г.А. Джиалиди, В.А. Антипов. – Ставрополь. – 2008. – 41 с.

15. Орбец, В.А. Оценка влияния нового селенсодержащего препарата «Экстраселен» на биохимический статус и продуктивность молодняка крупного рогатого скота / В.А. Орбец, А.В. Серов, И.В. Киреев // Актуальные проблемы болезней молодняка в современных условиях: Мат. Международной научно-практической конференции. – Воронеж, 2008. – С. 202-204.

16. Орбец, В.А. Оценка влияния нового селенсодержащего препарата «Экстраселен» на продуктивность и биохимический статус овец. / В.А. Орбец, И.В. Киреев // Паразитарные, инфекционные и неинфекционные заболевания животных: Сб. науч. тр. по материалам Международной научно-практической Интернет конференции. – Ставрополь.: АГРУС, 2009. – С. 82-85.

17. Орбец, В.А. Влияние экстраселена на систему антиоксидантной защиты организма овец. / В.А. Орбец, И.В. Киреев, Е.И. Лавренчук // Ветеринарная медицина. Современные проблемы и перспективы развития: материалы IX Всероссийской научно-практической конференции. – Саратов.: ИЦ НАУКА, 2009. – С. 276-279.