



003479217

На правах рукописи

КОЛОМИЕЦ ЮРИЙ ВЛАДИМИРОВИЧ

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ РАЗРАБОТКИ
ЛИНИМЕНТА «АСК» И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИ ЛЕЧЕНИИ РАН
КОШЕК В КОМБИНАЦИИ С ФОТОКАТАЛИЗОМ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

- 8 ОКТ 2009

Воронеж – 2009

Работа выполнена на кафедре фармакологии, токсикологии и паразитологии ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет им К.Д. Глинки».

Научный руководитель: Заслуженный деятель науки РФ,
доктор ветеринарных наук, профессор
Аргунов Мурад Нурдинович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук
Жуков Иван Васильевич
кандидат биологических наук
Долгополов Виктор Николаевич

Ведущая организация: Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им К.И. Скрябина

Защита состоится «23» октября 2009 года в ____ часов на заседании диссертационного совета ДМ.006.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском ветеринарном институте патологии, фармакологии и терапии (394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-б).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии.

Автореферат разослан «__» _____ 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук, доцент

Ермакова Т.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В течение последних десятилетий основополагающие принципы и традиционные методы лечения гнойных ран подверглись существенному пересмотру. Необходимость этого шага была обусловлена в первую очередь ростом числа заболеваний и послеоперационных гнойных осложнений, а так же ухудшением общих результатов лечения при гнойной хирургической инфекции.

В тоже время Heinrich P., Fleischer G.M., Peter K.H. (1982) связывают появление новых форм резистентных микроорганизмов с созданием новых, более эффективных, но нередко токсичных антибиотиков. Применение антибиотиков обуславливает увеличение числа осложнений и аллергических реакций (Кашкин К.П., Каряев З.О., 1984; Борхин Е.Б., 1986; Заматаев И.П. с соавт., 1987; Булыгин В.И. с соавт., 1998; Виденин В.Н., 2000; Шахов А.Г., 2005).

Возрастающее влияние антропогенных факторов, таких как многомиллионные выбросы в воду, атмосферу вредных химических токсикантов, применение пестицидов, нитратов и накопление во внешней среде патогенных биологических объектов – грибов, бактерий, вирусов, паразитов и т.д. отрицательно сказывается на биологической природе организма животных, на функциональном состоянии и резервах органов и систем, на его реактивности, резистентности, на его способности адекватно адаптироваться к изменяющимся условиям среды (Антипов В.А., 2000; Желтов В.А., 2003, 2007; Аргунов М.Н., 2005; Бузлама В.С., 2005; Шабунин С.В. с соавт., 2006; и др.).

Экотоксиканты, при попадании в организм, способны образовывать устойчивые комплексы с биологически активными соединениями, что в свою очередь вызывает нарушение обменных процессов, подавление функционального состояния нервной системы, печени, желез внутренней секреции, пищеварительного тракта, мочевыводящих путей, органов воспроизводства (Самохин В.Т., 2003; Новиков В.А., Тремасов М.Я., 2004; Нежданов А.Г. с соавт., 2007). Развитие в организме патобиохимических процессов приводит к снижению общей неспецифической резистентности и иммунологической реактивности животных.

Параллельно с фармакологическими средствами при лечении хирургических ран применяют физико-химические способы стерилизации воздуха лечебниц (Михайлов Н.В., 1985; Атясов Н.И., 1991; Редкий М.И. с соавт., 1999; Аргунов М.Н. с соавт., 2004 и др.). Такие, как использование угольных фильтров, аэрозолей, кварцевых ламп и лазерного излучения имеют существенные недостатки. Перспективным в этом плане может быть разработка комбинированного способа лечения ран у животных, включающего физический способ воздействия для ускорения лечебного процесса в сочетании с фармакологическим средством, влияющим на все стадии заживления ран, данная проблема и определила тему нашего исследования.

Цель и задачи исследований. Основная цель работы – разработка, фармако-токсикологическое обоснование состава линимента «АСК» и изучение его эффективности в комбинированном лечении ран у кошек.

Поставленная цель была достигнута решением следующих задач:

1. Разработан состав и лекарственная форма линимента «АСК».
2. Дана фармако-токсикологическая оценка линимента «АСК».
3. Изучена эффективность «АСК» при лечении ран у кошек.
4. Изучена эффективность линимента «АСК» в сочетании с фотокатализом при лечении ран у кошек.

Научная новизна результатов работы. Впервые разработан состав и дано фармако-токсикологическое обоснование использования линимента «АСК», изучена его эффективность для лечения ран у кошек в сочетании с фотокатализатором «Аэролайф». Новизна подтверждена патентом РФ № 2329036 «Способ комбинированного лечения ран у животных» от 20.07.2008.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты собственных исследований с учетом отечественного и зарубежного опыта позволили сделать научно-теоретическое обоснование разработки, подбор состава линимента «АСК» и использования его для лечения экспериментальных ран у кошек в комбинации с фотокатализом.

Для лечения хирургических ран рекомендован линимент «АСК» в комбинациях с фотокатализом, которые используются в ветеринарных клиниках Харькова, Воронежа, Москвы.

Материалы по теме диссертации использованы при подготовке «Методических рекомендаций по использованию фотокаталитического очистителя-обеззараживателя воздуха «Аэролайф» для профилактики заболеваний животных» (рассмотрены и одобрены секцией «Патология, фармакология и терапия» Отделения ветеринарной медицины РАСХН, протокол №1 от 03.03.2004 г.), учебного пособия для студентов вузов по специальности «Ветеринария», практикующих ветеринарных врачей и сотрудников НИУ «Экстренная ветеринарная помощь при острых интоксикациях» (рассмотрены и одобрены методической комиссией факультета ветеринарной медицины ВГАУ им. К. Д. Глинки, протокол №2 от 28.11.2006 г., получен гриф УМО ВУЗов РФ 2007 г.).

Материалы диссертации используются в учебном процессе студентов Воронежского ГАУ им. К.Д. Глинки и Харьковской государственной зооветеринарной академии.

Апробация материалов диссертации. Материалы диссертации изложены на: ежегодных отчетных ученых советах факультета ветеринарной медицины Воронежского ГАУ им. К.Д. Глинки 2006-2008 годов; заседании секции «Патология, фармакология и терапия» Отделения ветеринарной медицины РАСХН в 2004 году; научно-практических конференциях профессорско-преподавательского и аспирантского состава факультета ветеринарной медицины ВГАУ им. К.Д. Глинки 2006-2008 годов; всероссийской научно-практической конференции «Молочное и мясное скотоводство: состояние и перспективы развития в Южном федеральном округе» (Черкесск, 2007), международной конференции «Результаты научной деятельности факультета ветеринарной медицины Харьковской государственной зооветеринарной академии» (Харьков, 2007).

Публикация результатов исследований. Основные материалы диссертации изложены в 6 печатных работах, в том числе 4 статьи в рецензируемых изданиях, определенных перечнем ВАК РФ, учебном пособии «Экстренная ветеринарная помощь при острых интоксикациях» (гриф УМО ВУЗов РФ, 2007). Патент РФ на изобретение № 2329036 «Способ комбинированного лечения ран у животных» опубликован 20.07.2008 г.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, объектов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических предложений и списка литературы. Работа изложена на 127 страницах, содержит 21 таблицу и проиллюстрирована 14 рисунками. Список использованной литературы включает 165 отечественных и 47 зарубежных источников.

Основные положения, выносимые на защиту:

- обоснование состава и фармако-токсикологическая характеристика линимента «АСК»;
- эффективность линимента «АСК» при лечении ран у кошек;
- эффективность линимента «АСК» в сочетании с фотокатализом при лечении случайных ран у кошек.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования выполнены в 2004-2008 годах в условиях кафедры фармакологии, токсикологии и паразитологии ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки», в соответствии с планом НИР 3.6. «Разработка и внедрение высокоэффективных ветеринарных препаратов в практику» 2004-2008 гг, Харьковской государственной зооветеринарной академии.

Объектом исследований являлось новое композиционное средство (КС), в состав которого входят: кутикула мышечного желудка птицы - 19,0%; бентонит - 25,0%; ... - 10,0%; молочная кислота - 1,0%; метилцеллюлоза - 0,8% и дистиллированная вода - 44,2%. Препарат содержит комплекс биологически активных веществ.

Опыты были проведены на белых крысах, белых мышах, морских свинках, кошках (табл.1).

При проведении опытов на лабораторных и домашних животных соблюдались требования к врачебно-биологическому эксперименту (Фролов И.Т., 1965) по постановке контроля, подбору аналогов, одинаковому кормлению и содержанию животных в период исследований.

Антимикробную активность «АСК» изучали в соответствии с ГОСТ 25111-82. Метод бактериального анализа.

Токсикологическую оценку препарата «АСК» проводили согласно «Методическим рекомендациям по токсико-экологической оценке лекарственных средств, применяемых в ветеринарии» (Аргунов М.Н. с соавт., 1999) и «Положения о порядке токсиколого-гигиенической экспертизы и гигиенических исследований, проводимых с целью регистрации ветеринарных препаратов в РФ» (М., 2001).

Таблица 1

Схема и краткая характеристика опытов

Цель, задачи и объем исследований	Вид и количество животных, гол.
Получение состава и изучение физико-химических свойств препарата	-
Определение оптимальной лекарственной формы «АСК», изучение ранозаживляющего действия препарата:	кошки -15
Изучение антимикробной активности препарата	
Определение острой токсичности «АСК»:	белые крысы -10
Изучение аллергенных свойств препарата:	морские свинки -15
Изучение местного раздражающего действия «АСК»:	белые крысы -10 кошки - 8
Определение подострой и хронической токсичности «АСК»:	белые мыши -40 белые крысы -40
Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств «АСК»	белые крысы -40
Изучение влияния «АСК» на постнатальное развитие потомства:	белые крысы -20
Изучение общего действия линимента «АСК» на организм мелких домашних животных при многократном применении	кошки -10
Терапевтическая эффективность применения линимента «АСК» в комбинации с фотокатализом при случайных ранах у домашних животных:	кошки -8

Определение оптимальной лекарственной формы «АСК» было проведено в клиническом опыте на пяти группах кошек с экспериментальными ранами. Результат учитывали по терапевтической эффективности. Репаративные свойства «АСК» изучены на моделях кожных ран (Толстых П.Н., 1976). В качестве препарата сравнения использовали комплексный препарат, состоящий из трициллина, натрия хлорида, сульфата магния в 10% спиртовом растворе, торфа оксидата.

Общее действие препарата при его наружном применении на опытных животных оценивали по клиническому состоянию, морфологическим, биохимическим и иммунологическим показателям крови.

С целью характеристики общего состояния животных при проведении опытов пользовались общепринятыми методами, описанными в соответствующих руководствах (Карпуть И.М., 1986; Кондрахин И.П. с соавт., 2004). Количество эритроцитов и лейкоцитов в крови - путем подсчета в камере Горяева (Кондрахин И.П. с соавт., 2004); определение количе-

ства гемоглобина гемоглобинцианидным методом; определение гематокритной величины с помощью микроцентрифуги; СОЭ, тромбоцитов, общий белок - рефрактометрическим методом (Филипович Ю.Б. с соавт., 1975); общие липиды - по цветной реакции сульфофосфованилиновым реактивом; мочевины в сыворотке крови - спектрофотометрическим методом с диацетилмонооксидом (Кондрахин И.П. с соавт., 2004); активность аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы - спектрофотометрически динитрофенилгидразиновым методом (Колб В.Г., 1986); глюкозу - энзиматическим методом; общих иммуноглобулинов - методом преципитации сульфатом цинка (Weaver D.M. et al., 2001); классы иммуноглобулинов - радиальной иммунодиффузии по Манчини; неорганический фосфор - в безбелковом экстракте с ванадат-молибденовым реактивом по Пулсу в модификации В.Ф. Коромыслова и Л.А. Кудрявцевой; натрий, кальций - методом пламенной фотометрии (Кондрахин И.П. с соавт., 2004); меди, цинка, марганца, железа на атомно-абсорбционном спектрофотометре «Perkin Elmer» модель 703 (США).

Морфологические исследования проводили в лабораториях кафедры фармакологии, токсикологии и паразитологии ВГАУ и в отделе патоморфологии ФГУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (г. Воронеж).

Для гистологического и гистохимического исследований, через 3, 5, 7, 10, 15 и 20 дней из области раны брали материал. Его фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и жидкости Карнуа. После проводки в спиртах восходящей крепости заливали в целлондин-касторовое масло-парафин. На ротационном микротоме делали срезы толщиной 8 мкм. Их окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, фибрин выявляли по Шуенинову, железо - по Перлсу, полисахариды - ШИК-реакцией, гликозаминогликаны - по методу Хейла и альцеановым синим. Бактерии выявляли карболовым тионином по Николаю. Для дифференцировки клеточных элементов крови срезы окрашивали азур П-эозином (Г.А. Меркулов, 1969).

Каждую пробу исследовали в 3-х аналитических повторностях. Полученный цифровой материал приведен в соответствие с государственной системой обеспечения единства измерений «Единицы физических величин» (в соответствии с Международной системой СИ) (ГОСТ 8.471-81). Использованы методы математической статистики, принятые в биологии и медицине (Гублер Е.В., 1978; Лакин Г.Ф., 1990). Расчеты, построение графиков и их описание осуществляли с помощью приложений Microsoft Office 10 и Excel 10 для Windows XP. Достоверность различий оценивали с использованием t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Получение, состав и физико-химические свойства препарата «АСК»

Препарат «АСК» является композиционным средством для лечения ран у животных, содержащий кутикулу мышечного желудка птицы, бентонит, фосфогипс, молочную кислоту, метилцеллюлозу, воду дистиллированную при следующем соотношении компонентов, мас. %:

кутикула мышечного желудка птицы – 19,0

бентонит – 25,0

фосфогипс – 10,0

молочная кислота – 1,0

метилцеллюлоза – 0,8

дистиллированная вода – 44,2

Линимент «АСК» изготавливается следующим образом. Бентонит и фосфогипс смешивают в сухом виде до получения однородной массы, которую доводят водой до кашицеобразного состояния. В остальной воде растворяют сначала молочную кислоту, а затем добавляют кутикулу и смешивают до получения однородности. Метилцеллюлозу заливают горячей водой, затем сливают и смешивают с молочнокислой смесью кутикулы. В заключительной стадии все компоненты смешиваются.

Бентонит – природный силикат алюминия (ТУ 5717-001-0049108-99), обогащен солями щелочных и щелочноземельных металлов, содержит в своем составе более 40 различных элементов, жизненно важных для животных: кремний, натрий, калий, кальций, магний, фосфор, железо, марганец, медь, цинк, кобальт, йод и др.

Фосфогипс – отход химического производства (ТУ 6-207-71 Уваровский химзавод), содержит в своем составе дигидрат сульфата кальция, не менее 92%, кремнефториды щелочных металлов, фториды кальция, фосфаты железа и алюминия фторапатиты и др.

Молочная кислота – органическая кислота, образуется в животных тканях, особенно в мышцах и растениях, при консервации, при брожении микроорганизмами.

Метилцеллюлоза – полисахарид, являющийся главной структурной частью клеток наземного и морского мира. В виде метилцеллюлозы связано более 50% всего органического углерода биосферы. Поэтому по распространенности ее можно поставить на первое место среди всех органических веществ живой природы (Цветикова О.Н., 1999).

Кутикула – слизистая оболочка куриного железистого желудка, высушенная при температуре 18-22 °С до 8% массовой доли влаги. Кутикулу получают от птиц как сразу после убоя, так и после хранения в замороженном виде.

В кутикуле содержится 3 вида пепсина: А, D, С, первые 2 содержат 21 и 22 основных аминокислот, а С – 6.

Наибольшая протеолитическая активность куриного пепсина по гидролизу гемоглобина проявляется при рН 2,0 и составляет 150% (И.Н. Щед-

ров, 2005 г.) при температуре 38-40 °С (Аргунов М.Н., Середа С.В., 2004 г.). Выход активного фермента составляет 80-100 г/кг сырья.

3.2. Определение антимикробной активности препарата

По данному этапу исследования проводили в соответствии с ГОСТ 2511-82. Метод бактериального анализа.

В результате проведения исследований данным методом оказалось, что чистый порошок кутикулы давал рост микрофлоры, а готовый препарат в различных разведениях (1:10, 1:50 и 1:100) роста микрофлоры не давал.

При хранении препаратов в течение двенадцати месяцев, в обычных условиях, бакобсемененность чистого порошка кутикулы составляла 18 клеток микроорганизма в 1 г порошка (общее содержание), что соответствует норме, а бакобсемененность готового препарата составляла 0 клеток микроорганизма в 1 г массы (общее содержание), что также соответствует норме.

Результаты данных исследований указывают на то, что «АСК» обладает бактерицидным свойством.

3.3. Определение острой токсичности и класса токсичности

Острую токсичность изучали на белых мышах массой 20-22 г. и крысах массой 200-220 г. Препарат вводили внутривентриально в диапазоне доз от 500 до 8000 мг/кг массы тела белых мышей и от 1000 до 10000 мг/кг массы тела белых крыс.

По истечении 14 дней гибели грызунов зарегистрировано не было. Исходя из результатов данного опыта, согласно общепринятой классификации химических веществ (Медведь Л.И., 1964) «АСК» является малотоксичным и относится к 4 классу токсичности.

При испытании острой токсичности препарата не выявлено признаков раздражающего действия, однако, для подтверждения безопасности применения препарата мы провели дополнительные исследования. Провокационные кожные пробы проводили на морских свинках методом эпикутанных аппликаций. Перед началом аппликаций проводили сенсibilизацию животных путём многократного нанесения на кожу «АСК». Ежедневно на выстриженный участок кожи трём морским свинкам наносили водный раствор препарата в разведениях 1:10; 1:100; 1:1000. На 14 день (время инкубационного периода) на свежесстриженный участок кожи наносили разрешающую дозу «АСК».

В течение всего периода опыта за морскими свинками вели наблюдения, проводили измерения температуры тела, толщины кожной складки на месте эпикутирования, определяли температуру на месте введения препарата. Изменений в клиническом статусе животных и на месте аппликаций «АСК» не выявлено. На основании этого ответную реакцию оценивали как отрицательную.

3.4. Аллергенные и местно-раздражающие свойства препарата «АСК»

В следующем опыте 2 группы по 3 головы в каждой. Животных сенсibilизировали аппликациями линимента по следующей схеме: 2 раза в день

10 суток подряд. Животных первой опытной группы обрабатывали линиментом, животных второй контрольной группы - вазелином медицинским очищенным. Препараты наносили в количестве 0,3-0,5 г на предварительно выстриженный участок кожи спины в межлопаточной области размером 4x4 см. Аппликации делали в направлении от шеи к хвосту, через 4 часа удаляли стерильными тампонами. Через 14 дней с момента последней аппликации вновь эпилировали кожу на участке сенсibilизации и наносили разрешающую дозу изучаемого препарата, соответствующей концентрации. Через 24 часа учитывали клинико-морфологические изменения. Согласно полученным данным констатировали отсутствие воспалительной реакции на месте аппликации препарата зуда (расчесов), изъязвлений, пигментации, аллопедий не наблюдалось, толщина кожной складки не изменялась. Следовательно, линимент «АСК» не обладает местным токсическим и раздражающим действием.

3.5. Изучение эмбриотоксических и тератогенных свойств

В опыте по изучению эмбриотоксического действия «АСК» использовали 20 беременных самок белых беспородных крыс массой тела 205-220 г, которых в дальнейшем разделили на две равные группы. Всех самок спаривали с самцами. На 10-е сутки беременности (период имплантации) половине самок первой группы наносили однократно на выстриженный участок кожи «АСК» равномерным тонким слоем. На 10-е сутки беременности (период органогенеза) препарат нанесли пяти самкам второй группы. Оставшимся животным в таком же объеме наносили раствор, содержащий 25% бентонита, они служили контролем. На 20-е сутки беременности проводили убой 2 голов животных из каждой группы, при этом учитывали раннюю и позднюю резорбцию плода, общую плодовитость, количество желтых тел беременности, живых и мертвых эмбрионов, проводили обмер и взвешивание плодов. В результате, ни по одному из вышеперечисленных показателей между животными опытных и контрольных групп каких-либо отличий зарегистрировано не было.

Оставшихся самок оставили до наступления естественных родов. За развитием полученного потомства вели наблюдение: проводили взвешивание, замеры длины тела, хвоста, учитывали сроки отлипания ушей, прорезывания глаз, обрастания шерстным покровом, подвижность и активность высасывания молока матери в течение первых дней жизни. На данном этапе, каких-либо различий в изучаемых показателях выявлено не было.

3.6. Изучение подострой и хронической токсичности «АСК»

Целью изучения подострой токсичности является выявление избирательного влияния вещества на функциональное состояние отдельных органов, тканей и систем, а также его способность к кумуляции.

Кумулятивные свойства «АСК» изучали в эксперименте на белых крысах, которым апплицировали в течение 45 дней «АСК» в разведениях: 1-ой группе -

1:10; 2-ой группе - 1:100; 3-ей группе - 1:1000, 4-я группа животных служила контролем. Все животные содержались на едином рационе.

В течение всего опыта за подопытными животными вели наблюдение, учитывали поедаемость корма, прием воды, состояние слизистых оболочек, волосяного покрова, поведение, взвешивали в начале и в конце эксперимента.

В результате у грызунов не зарегистрировали гибели, не отмечали признаков интоксикации и заболеваний. Динамика массы тела представлена на рисунке 1.

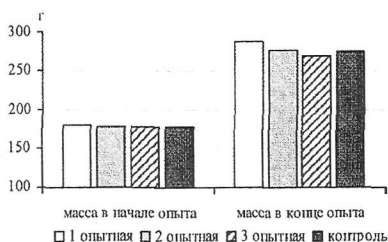


Рис.1. Динамика массы тела крыс при применении «АСК» в течение 45 дней, г

Таким образом, применение «АСК» в течение 45 дней не вызвало значимых различий в массе тела животных.

В конце опыта были проведены: убой всех грызунов, анатомическое вскрытие и взвешивание внутренних органов. Патологических изменений во внутренних органах опытных животных не выявлено. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2
Весовые индексы внутренних органов белых крыс при применении «АСК» в течение 45 дней (в % к массе тела)

Наименование органа	№ группы			
	1	2	3	4
Тушка	78,8±0,852	77,18±0,351	76,95±0,641	77,1±0,41
Печень	3,97±0,140	4,1±0,180	3,94±0,153	3,86±0,23
Сердце	0,38±0,050	0,38±0,021	0,36±0,024	0,39±0,041
Почки	0,75±0,033	0,74±0,031	0,74±0,042	0,71±0,022
Семенники	1,18±0,028	1,16±0,087	1,21±0,051	1,13±0,011
Селезенка	0,43±0,032	0,41±0,051	0,38±0,042	0,38±0,042
Желудочно-кишечный тракт	10,1±0,350	9,92±0,221	10,11±0,361	13,21±0,182

Из таблицы видно, что достоверных различий по массе тушек и внутренних органов у белых крыс в опытных и контрольных группах не выявлено.

Морфологические и биохимические показатели сыворотки крови белых крыс при применении «АСК» в течение 45 дней.

Исследования показали, что в сыворотке крови животных не имеют существенных различий и находятся в пределах нормы колебания. У опытных животных наблюдали увеличение в крови всех исследуемых показателей, очевидно, это связано с улучшением обменных процессов в организме.

Исходными данными для исследования хронического действия препарата служат результаты острого и подострого опытов. Целью хронического эксперимента являлось выявление отдаленных последствий применения химических веществ на животных.

Изучение отдаленных последствий влияния «АСК» проводили на белых мышах в течение 8 месяцев. Препарат наносили ежедневно в разведениях: 1-ой группе - 1:10; 2-ой группе - 1:100; 3-ей группе - 1:1000, 4-я группа животных служила контролем. В период эксперимента за животными вели наблюдение, проводили учет поедаемости корма и приема воды, ежемесячно взвешивали.

В результате, у животных не выявили ухудшения поедаемости корма и приема воды, клинических признаков интоксикации. Достоверно значимых различий массы тела животных разных групп нами не отмечено.

3.7. Изучение общего действия линимента «АСК» на организм кошек при многократном применении

Эксперимент проводился на кошках различных пород возрастом 10-12 месяцев. Препараты наносили в количестве 0,3-0,5 г на предварительно выстриженный участок кожи спины в межлопаточной области размером 4x4 см. Аппликации делали в направлении от шеи к хвосту. Нанесение линимента на поверхность выстриженного участка кожи кошек осуществлялось один раз в сутки в течение 14 и 21 суток.

Препарат при длительном нанесении на кожу кошек не приводит к изменению биохимических показателей крови животных (табл.3).

Таблица 3

Биохимические показатели крови кошек

показатели	фон	через 1 сутки	через 7 суток	через 14 суток	через 21 сутки
Щелочной резерв, мэкв/л	18,5±0,21	18,5±0,13	18,3±0,14	18,1±0,22	18,3±0,22
Общий белок, г/л	73,9±0,64	77,02±0,32	75,6±0,12	72,16±0,33	74,1±0,15
Глюкоза, ммоль/л	4,6±0,16	4,62±0,31	4,67±0,12	4,57±0,21	4,62±0,11
Лактат, ммоль/л	2,23±0,04	2,31±0,1	2,20±0,31	2,41±0,20	2,34±0,11
Мочевина, ммоль/л	8,47±0,3	8,52±0,31	8,60±0,22	8,31±0,14	8,36±0,16

Установлено, что длительное накожное нанесение препарата не приводит к изменению поведения и аппетита. Частота дыхания и температура тела при применении линимента практически не отличались от фоновых показателей и находились в пределах физиологических норм.

3.8. Оценка экологической безопасности использования линимента «АСК»

Оценку экологической безопасности использования «АСК» проводили по методике (Аргунов М.Н., 1999) по следующим этапам:

1. Производство. Производство линимента «АСК» не имеет отходов.
2. Транспортировка и хранение. Линимент «АСК» транспортируют по ГОСТ. Препарат хранят в сухих, темных помещениях. При хранении, в течение гарантийного срока, препарат не теряет активности и не подвергается деградации.
3. Применение. Линимент «АСК» применяют для лечения ран у животных.
4. Внешняя среда. Линимент «АСК» не образует стойких соединений, влияющих отрицательно на окружающую среду.

Согласно полученным результатам, применение линимента «АСК» в ветеринарии является экологически безопасным.

3.9. Лечение ран линиментом «АСК»

Опыт по изучению эффективности лечения ран препаратом проводился на кошках, у которых были зарегистрированы случайные раны.

Контрольные животные получали известное лечение: мазь ихтиоловая наносилась наружно ровным тонким слоем 2 раза в сутки ежедневно до выздоровления; раствор гентамицина сульфат 4% вводился внутримышечно два раза в сутки с интервалом 10-12 часов в дозе 2,5 мг/кг в течение 7 суток. Опытные животные ($n = 5$) получали только линимент «АСК» ежедневно один раз в сутки. Перевязки делали ежедневно. Кошки получали только местное лечение по одному из двух описанных выше способов. Другого лечения животные не имели.

Основным критерием оценки течения заживления ран является его клиническая характеристика: гиперемия, отечность ткани в области раны, ее размеры, количество и характер отделяемого, температура тела, общее состояние травмированного организма.

При анализе данных, представленных в таблице 4, видно, что стихание воспалительных явлений и заживление ран происходит более активно в опытной группе.

Достоверно установлено: быстрее происходит нормализация температуры тела (1,78 раза), купирование отека (1,7 раза) и гиперемии кожи (1,5 раза) в области раны, исчезновение фибрина (1,67 раза), уменьшение количества отделяемого из раны (1,31 раза), от обильного до скудного. Быстрее наступает полная эпителизация ран (1,44 раза) и исчезает болезненность во время перевязок (1,5 раза).

Гуморальными факторами иммунитета являются: фагоцитарная активность лейкоцитов (ФАЛ), фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ).

В опытной группе, где лечение проводилось препаратом «АСК», ФАЛ практически не изменялась во все сроки исследования. В контрольной груп-

пе, где лечение проводилось, ФАЛ снизилась уже через сутки в среднем на 2 % ($P < 0,05$). Нормализация показателя ФАЛ произошла на 10 сутки.

Изменение клеточных факторов защиты было типично для ФЧ и ФИ. Эти показатели характеризовались агрессивностью и активностью лейкоцитов, а также интенсивностью фагоцитоза.

При использовании для лечения препарата «АСК» достоверных количественных изменений в показателях общего белка и его фракций не установлено во все сроки исследования.

В то же время установлено достоверное снижение общего белка до 5 – 7 суток лечения ($P < 0,05$). При этом изменялся функциональный состав сыворотки крови травмированных животных, уменьшалось содержание количества альбуминов, α и γ – глобулинов, одновременно увеличивалось количество β – глобулинов в указанные сроки, изменялся альбумин – глобулиновый коэффициент. Все это является одним из показателей выраженного воспалительного процесса, приводящего к увеличению отеков в травмированных тканях.

3.10. Лечение ран линиментом «АСК» в комбинации с фотокатализом

Следующим этапом работы было изучение эффективности линимента «АСК» в сочетании с фотокатализом при лечении ран у кошек.

Группа «Опытная I» получала лечение по описанному выше способу, животные группы «Опытная II» дополнительно находились в помещениях оснащенных фотокаталитическим очистителем-обеззараживателем воздуха «Аэролайф». При этом нами учитывались следующие клинические проявления: отек и гиперемия кожи, наличие некротических тканей и фибрина в ранах, количество отделяемого из раны, появление грануляций и заполнение ими всей раны, а также характер грануляционной ткани, начало эпителизации и полная эпителизация ран, исчезновение болезненности во время перевязок, нормализация температуры тела (табл.4).

Таблица 4

Изменение клинических признаков течения раневого процесса при разных способах лечения, дни

Клинические признаки	Опытная I, n = 5	Опытная II, n = 5
Купирование отека	2,3±0,28	2,18±0,36
Купирование гиперемии кожи	2,0±0,18	1,87±0,23
Купирование болезненности	4,1±0,25	4,0±0,25
Уменьшение отделяемого до скудного	2,4±0,46	2,3±0,32
Некролиз	3,4±0,18	3,3±0,12
Фибринолиз	3,9±0,24	3,6±0,14
Появление грануляций	2,8±0,24	2,76±0,10
Начало краевой эпителизации	3,18±0,42	3,14±0,22
Полная эпителизация ран	15,6±0,43	13,4±0,30
Нормализация температуры тела	4,6±0,36	4,35±0,27

Сопоставление изученных клинических признаков показало, что во II опытной группе более интенсивно по сравнению с контрольной группой происходит купирование отека и гиперемии кожи в области раны, уменьшение количества отделяемого из раны от обильного до скудного. Имеет место довольно быстрое полное заполнение раны качественной грануляционной тканью, исчезновение болезненности во время перевязок

Через сутки после травмы отмечается снижение количества эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. Эти данные свидетельствуют об интраоперационной кровопотере, и в большей степени, связаны с развитием хирургического стресса.

Некоторое увеличение количества лейкоцитов в периферической крови в течение первых трёх суток можно объяснить общей реакцией организма на локальный воспалительный процесс.

Восстановление количества эритроцитов и гемоглобина до исходной величины при лечении раны препаратом «АСК» в комбинации с фотокатализом зарегистрировано нами к 7 дню – $7,08 \pm 0,45 \times 10^{12}/л$ и $12,50 \pm 1,35 г/л$, соответственно, а при использовании только линимента - лишь к 10 дню – $7,05 \pm 0,75 \times 10^{12}/л$ и $12,75 \pm 1,32 \pm 1,32 г/дл$.

Анализируя результаты морфологических и биохимических исследований крови, следует сказать, что препарат «АСК» в комбинации с фотокатализом довольно быстро снимает отрицательное воздействие на ткани со стороны хирургического стресса. Поэтому гомеостаз у животных опытной группы восстанавливался спустя 3–5 дней после ранения за счет расширения капилляров и увеличения количества функционирующих новообразованных сосудов. Высокая терапевтическая эффективность препарата «АСК» способствует заживлению гнойных ран у животных в среднем за 13-14 дней с хошим функциональным и косметическим результатом.

При комбинированном использовании фотокаталитического очистителя-обеззараживателя воздуха «Аэролайф» и композиционного средства «АСК» происходит, с одной стороны, высокoeffективная утилизация из воздуха помещений формальдегида, угарного газа, озона, окислов азота, бактерий, вирусов и спор грибов, а, с другой стороны, композиционный препарат способствует быстрейшему регенеративному процессу и улучшению трофики патологического очага.

Следовательно, апробированный метод лечения инфицированных ран у животных с использованием препарата «АСК» в сочетании с фотокатализом заслуживает широкого применения в ветеринарной практике, так как является физиологичным и эффективным.

ВЫВОДЫ

1. Обоснована и доказана необходимость разработки линимента «АСК». Он является новым средством для лечения ран у кошек. Сырьё для его изготовления доступное и дешёвое, технология производства не требует дорогостоящего сложного оборудования.

2. Линимент «АСК» по общепринятой классификации относится к малотоксичным препаратам. Внутривентрикулярное введение его в диапазоне доз от 500 до 8000 мг/кг массы тела белых мышей и от 1000 до 10000 мг/кг массы тела белых крыс не вызывало гибели грызунов.

3. Линимент «АСК» является малотоксичным препаратом, не обладает кожно-резорбтивными, аллергенными, эмбриотоксическими, тератогенными свойствами и кумулятивными действиями.

4. Биологическое влияние линимента «АСК» на организм обеспечивается комплексным действием его компонентов, которые обладают антимикробными свойствами, ощелачивают раневую среду, усиливают фагоцитарную активность, адсорбируют токсины и мертвый субстрат.

5. Длительное применение линимента «АСК» лабораторным животным на кожу (45 дней) в различных разведениях не вызывало заболеваний и гибели у грызунов.

6. Полная эпителизация ран при применении линимента «АСК» наступает на 16 день, у кошек контрольной группы - на 22 день.

7. Применение линимента «АСК» в комбинации с фотокаталитическим очистителем - обеззараживателем воздуха «Аэролайф» препятствует повторной микробной ассимиляции раны, сокращает количество обработок и сроки заживления, ускоряет полную эпителизацию ран на 2,2 дня.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Линимент «АСК» в комбинации с фотокатализом наносится наружно тонким равномерным слоем на раневую поверхность или на марлевую салфетку и покрывают пораженный участок тела 1 раз в сутки до полного заживления.

2. Содержать больных животных во время лечения в помещении, оборудованном фотокаталитическим очистителем – обеззараживателем воздуха «Аэролайф».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Доманский Н.К. Новые подходы в лечении ран животных / Н.К.Доманский, Ю.В. Азаров, Ю.В. Коломиец и др. // Молочное и мясное скотоводство: состояние и перспективы развития в Южном федеральном округе / Карачаево-Черкес. гос. технол. акад., 2007. - С. 241-242.
2. Коломиец Ю.В. Перспективы применения фотокатализа в ветеринарии и животноводстве /Ю.В. Коломиец // Ветеринарная медицина, 2007, №4. – С. 8-10.
3. Коломиец Ю.В. Средство для лечения ран у животных / Ю.В. Коломиец // Ветеринарная медицина, 2007, №4. – С. 14-15.
4. Аргунов М.Н. Экстренная ветеринарная помощь при острых интоксикациях: учебное пособие / М.Н. Аргунов, Р.В. Сащенко, К.В. Моргунова, Н.В. Бабкина, Н.К. Доманский, Ю.В. Коломиец. - Воронеж, 2007. – 102 с.
5. Аргунов М.Н., Сащенко Р.В., Коломиец Ю.В., Азаров Ю.В. Способ комбинированного лечения ран у животных. Патент РФ № 2329036. Опубл. 20. 06.08, Бюл. № 20.
6. Коломиец Ю.В. Зоогигиенические и ветеринарно-санитарные мероприятия при травматизме животных / Коломиец Ю.В. // Ветеринария и кормление, 2008, №2.- С.20-22.
7. Коломиец Ю.В. Средство для лечения ран у животных / Ю.В. Коломиец //Достижения науки и техники АПК, 2008, №9 - С. 42-43.

Подписано в печать 9.09.2009 г. Формат 60x80¹/₁₆. Бумага кн.-журн.
П.л. 1,0. Гарнитура Таймс. Тираж 100 экз. Заказ № 342
Типография ФГОУ ВПО ВГАУ 394087, Воронеж, ул. Мичурина, 1