

43

На правах рукописи



МАКЕЕВ Николай Григорьевич

**ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ЦИДИСЕПТ-ГЕЛЯ ПРИ ЛЕЧЕНИИ СЛУЧАЙНЫХ РАН У МЕЛКИХ
ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ**

16.00.04 - ветеринарная фармакология с токсикологией

16.00.05 - ветеринарная хирургия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

A handwritten signature in black ink, consisting of a stylized, cursive script that appears to be the author's name, Nikolai Grigorievich Makeyev.

Воронеж – 2007

Работа выполнена в отделах биотехнологии и физико-химических исследований ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии и на кафедре хирургии ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки»

Научные руководители: доктор ветеринарных наук, профессор
Шабунин Сергей Викторович

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор ветеринарных наук, профессор
Черванев Василий Александрович

Официальные оппоненты: доктор ветеринарных наук, профессор
Аргунов Муаед Нурдинович
кандидат ветеринарных наук
Емельянова Татьяна Михайловна

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

Защита состоится «1» марта 2007 г. в 13 часов на заседании диссертационного совета Д 006.004.01 при ГНУ Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии (394087, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114-6)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ ВНИВИПФит

Автореферат разослан 24 «января» 2007 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета



Ермакова Т.И.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Среди большого количества различных способов лечения ран до сих пор продолжается поиск оптимальных методов стимуляции заживления обширных ран, ожогов, трофических язв (Г.В. Афиногенов, 1987; П.Г. Брюсов, 1996; В.С. В.И. Булынин, с соавт., 1998; М.Е. Lait, 1998).

В настоящее время в гуманитарной медицине 35-40% больных хирургического профиля составляют пациенты с гнойно-воспалительными заболеваниями, а в ветеринарии частота нагноения ран составляет более 70% (М.В. Плахотин, 1992; В.К. Гостищев, 1996; А.В. Лебедев, 2000; Э.И. Веремей, 2001; А.П. Плотников, 2002; С.Г. Mayhall, 1993). Отмечается тенденция к повышению частоты гнойно-воспалительных процессов, осложняющих лечение послеоперационного периода у хирургических больных (Г.Н. Берченко, 1995; В.Д. Бадиков с соавт., 1997; И.В. Домосканова, 2000; А.С. Кашин с соавт., 2001). Хирургические болезни мелких домашних животных составляют большие неудобства и материальные затраты их владельцам. В период болезни животным требуется индивидуальный уход и содержание.

Снижение эффективности химиотерапии, наблюдаемое в различных областях инфекционной патологии человека и животных, объясняется, прежде всего, селекцией лекарственно-устойчивых, полирезистентных форм возбудителей, обусловленное более чем полувековым применением антибиотиков (Г.И. Истомина с соавт., 1990; А.А. Адарченко с соавт., 1991; А.П. Красильников с соавт., 1992; М.Т. Е.П. Безуглая с соавт., 1995).

Поиск новых, эффективных средств борьбы с раневой инфекцией, ускоряющих заживление ран, является одним из решений проблемы хирургической инфекции. Актуальным является поиск новых фармакологических субстанций, обладающих антимикробными свойствами широкого спектра действия против микроорганизмов с минимальными побочными эффектами.

Относительно новым и перспективным направлением в разработке современных препаратов для профилактики и лечения хирургической инфекции являются препараты неантибиотической природы, как, например: соли четвертичных аммониевых соединений, гуанидиновой кислоты и др. (В.И. Стручков с соавт., 1991; М.И. Кузин, 1990; М.М. Астраханова, 1997; С.Ф. Антонов, 1999; К.В. Алексеев с соавт., 2000; D.R. Harris, 1994).

Несмотря на достигнутые успехи в разработке и изучении новых препаратов для лечения случайных ран у мелких домашних животных (левомеколь, левосин и др.), повышенный спрос и небольшой выбор мазей на водорастворимой основе требуют решения проблемы дальнейшего расширения их ассортимента.

Одним из перспективных препаратов в этом направлении является препарат на основе п-нитро- α -хлоркоричного альдегида (циминаля). Он активен в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, способствует эпителизации и заживлению ран. В медицине его применяют наружно для лечения пиодермии, трофических язв, осложненных инфекций ожогов, ран и т.п.

Все вышеизложенное и определило общую направленность работы, выбор методических подходов и экспериментальных моделей.

Цель и задачи исследований. Целью настоящей работы явилось разработка и изучение фармако-токсикологических свойств нового кожного антисептика цидисепт-гель, а также исследование особенностей течения раневого процесса при лечении им случайных ран у мелких домашних животных.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Разработать состав и лекарственную форму нового кожного антисептика цидисепт-гель.
2. Изучить антибактериальные свойства цидисепт-геля в отношении основных возбудителей раневых инфекций.
3. Изучить фармако-токсикологические свойства цидисепт-геля.
4. Изучить клинико-морфологические показатели течения раневого процесса при лечении случайных ран у мелких домашних животных цидисепт-гелем.
5. Изучить терапевтическую эффективность цидисепт-геля при лечении случайных ран у мелких домашних животных;
6. Разработать технические условия и инструкцию по применению цидисепт-геля при лечении случайных ран у мелких домашних животных.

Научная новизна. Впервые разработан, теоретически и экспериментально обоснован состав нового кожного антисептика цидисепт-гель. Изучены его фармако-токсикологические свойства, дана клинико-морфологическая характеристика экспериментальных ран у собак при лечении цидисепт-

гелем, определена его эффективность при терапии случайных ран у мелких домашних животных.

Практическая значимость и внедрение. Полученные результаты послужили основанием для разработки нового кожного антисептика, технологии его производства, контроля качества и инструкции по применению для лечения случайных ран у мелких домашних животных, которые вошли в разработанную и утвержденную нормативно-техническая документация на препарат цидисепт-гель (ТУУ 24.4-3129351-030:2005 согласованными с Государственным Департаментом ветеринарной медицины аграрной политики Украины от 07.05.2005 г.; СТО 10590965-0004-2006 и инструкции, утверждённой заместителем руководителя Россельхознадзора РФ за №ПВР-2-1.6/01688 от 11.12.2006 г.

Апробация работы. Основные результаты исследований были представлены на заседании методической комиссии ФГУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» протокол № 1 от 25.01.2006 года; международной научно-практической конференции «Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных» (Воронеж, 2004); международном координационном совещании «Новые биотропные препараты и косметологические средства для лечения и ухода непродуктивных домашних животных» (Харьков, 2004); заседаниях научно-технического совета научно-производственного предприятия «Агрофарм» 2003-2005 г.г.; международной научно-производственной конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А. «Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных» (Воронеж, 2006).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 3 статьи в материалах конференций, 1 информлисток, 1 статья в журнале «Ветеринария».

Основные положения, выносимые на защиту:

- результаты разработки стандартизации и контроля нового кожного антисептика цидисепт-гель;
- фармакологическая активность и низкая токсичность нового кожного антисептика цидисепт-гель;
- клинико-морфологические особенности течения раневого процесса при лечении цидисепт-гелем;
- терапевтическая эффективность цидисепт-геля при лечении случайных ран у мелких домашних животных.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 146 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, результатов собственных исследований, их обсуждения, выводов и приложения. Список использованной литературы содержит 309 источника, из них 231 отечественных и 78 иностранных. Иллюстративный материал включает 18 рисунков и 39 таблиц.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Материал и методы исследований

Работа выполнена в 2003-2006 годах в отделах биотехнологии и физико-химических исследований ГНУ Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии и на кафедре хирургии ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени К.Д. Глинки» и в Правобережной участковой ветлечебнице города Воронежа.

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

Объем проведенных исследований представлен в таблице 1.

Антимикробную активность цидисепт-геля изучали *in vitro* методом серийных разведений (В.И. Антонов, 1986) в отношении референтных и полевых штаммов микроорганизмов – основных потенциальных возбудителей раневых гнойных процессов. Минимальную бактериостатическую концентрацию (МБсК) определяли в мясоептонном бульоне, минимальную бактерицидную концентрацию (МБцК) путем посева из пробирок с МПБ на плотные питательные среды. Содержание микробных клеток в 1 мл среды составляло 200 тыс. Определение оптимального содержания циминая в цидисепт-геле было проведено в клиническом опыте на трех группах собак со случайными ранами. Результат учитывали по терапевтической эффективности.

Изучение острой токсичности цидисепт-геля проводили общепринятыми методами (М.П. Беленький, 1963; О.Н. Елизарова, 1971; И.В. Саноцкий, 1970). Хроническую токсичность цидисепт-геля изучали на беспородных белых крысах обоего пола массой 100-110г. при длительном накожном применении. Препарат наносили ежедневно один раз в день в течение 21 суток. Наблюдение за клиническим состоянием животных вели на протяжении 31 суток от начала опыта.

Таблица 1

Схема и краткая характеристика опытов

Цель, задачи и объем исследования	Количество	
	Животных, штаммов, опытов	Исследований
Изучение антимикробной активности	10	-
Изучение оптимального содержания ДВ в цидисепт-геле	15	15
Изучение резорбции циминаля из изучаемой лекарственной формы	2	-
Изучение стабильности цидисепт-геля	3	-
Определение острой токсичности цидисепт-геля		
белые мыши	60	60
белые крысы	60	60
Определение хронической токсичности цидисепт-геля:		
крысы	40	40
Гематологические исследования	66	620
Биохимические исследования	52	616
Изучение общего действия цидисепт-геля на организм мелких домашних животных*		
собаки	8	64
кошки	8	64
Раздражающее действие цидисепт-геля: кролики	14	14
Местно-раздражающее действие цидисепт-геля, кролики	12	12
Изучение аллергенных свойств препарата:		
крысы	16	16
Изучение ранозаживляющего действия препарата.		
Модель кожной раны: крысы	60	60
Модель ожоговой раны: крысы	16	16
Клинико-морфологическая характеристика экспериментальных ран у собак при лечении цидисепт-гелем	30	30
Цитологические исследования	30	270
Морфологические исследования	30	30
Клинические исследования	386	526
Терапевтическая эффективность применения цидисепт-геля при случайных ранах у мелких домашних животных	80	80

Определение массы тела животных проводили до начала нанесения препарата на 7, 14 и 21 сутки. На 21 сутки от начала применения цидисепт-геля у 10 крыс из каждой группы определяли относительную массу (коэффициенты) внутренних органов – печени, почек, легких, сердца, селезенки, надпочечников, тимуса и семенников (В.М. Гацура, 1974).

Общее действие цидисепт-геля на организм мелких домашних животных (собаки и кошки) при его длительном накожном применении, оценивали по клиническому состоянию. Цидисепт-гель равномерно наносили на участки кожи животных с плотностью нанесения препарата $0,1 \text{ г/см}^2$, в течение 14 дней. Наблюдение вели в течение 21 дня от начала опыта.

Раздражающее действие цидисепт-геля на кожу изучали в опытах на кроликах, которым наносили препарат в чистом виде. Площадь нанесения составляла 5% от общей поверхности тела животных. Реакцию кожи на воздействие препарата оценивали через 1 и 16 часов после однократного нанесения. Учитывали функциональные нарушения кожи, характеризующиеся появлением различной степени выраженности эритемы, отека, трещин, изъязвлений, изменением температуры.

В экспериментах степень эритемы учитывалась визуально и оценивалась в баллах. Величина отека определялась путем измерения толщины кожной складки и также оценивалась в баллах.

Для изучения влияния цидисепт-геля на конъюнктиву глаз кролика были проведены опыты на животных породы белый великан. Клиническое состояние животных (температуру тела, частоту пульса, количество дыхательных движений), а также изменение кровенаполнения конъюнктивы, наличие выделений, состояние роговицы и век, оценивали через 0,5; 1; 2; 3; 4; 5 и 6 часов после инстилляций препарата.

Аллергенность цидисепт-геля определяли с помощью кожно-провокационной пробы (О.Л. Алексеева, Л.А. Дуева, 1978) при накожной аппликации, реакцию кожи учитывали по шкале оценки проб (С.В. Суворов, 1974)

Репаративные свойства цидисепт-геля изучены на моделях кожных ран и ожогов (П.Н. Толстых, 1976). В качестве препарата сравнения использовали мазь эритромициновую.

За течением репаративного процесса в ранах и дачи объективной оценки эффективности проводимого лечения использовали цитологический анализ мазков-отпечатков (М.П. Покровская, М.С. Макаров, 1942). Исследования проводили на 3, 5, 7, 9 и 11 сутки после начала лечения.

При цитологическом изучении мазков-отпечатков использовали 5-бальную полуколичественную шкалу и подсчет клеточных элементов с последующим построением цитограмм. Для морфологического изучения использовали общепринятые методы (Г.А. Меркулов, 1969; А.И. Кононский, 1976).

Нанесение ожоговой травмы, взятие биологического материала от экспериментальных животных проводили в соответствии с существующими требованиями проведения экспериментов на животных.

Общее действие препарата при его наружном применении на белых крыс и мелких домашних животных (собаки и кошки) оценивали по клиническому состоянию, морфологическим, биохимическим и иммунологическим показателям крови. С целью характеристики общего состояния животных при проведении модельных опытов общепринятыми методами, описанными в соответствующих руководствах (В.Г. Предтеченский, 1964; И.П. Кондрахин с соавт., 1983; И.М. Карпуть, 1986) определяли в крови количество эритроцитов, гемоглобина, СОЭ, лейкоцитов, тромбоцитов, общий белок – рефрактометрически, фракции белка – по Оллу и Маккорду (С.А. Карпюк, 1962) или электрофорезом в агарозном геле. В сыворотке крови определяли концентрацию общих липидов, холестерина, мочевины, глюкозы, креатинина, активность аспартат и аланинаминотрансферазы (АсАТ и АлАТ), щелочной фосфатазы – наборами фирмы «Ляхема», билирубин – набором фирмы «КОНЕ» (Финляндия). Содержание (мкМ/л) малонового диальдегида (МДА) – по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977; В.С. Бузлама с соавт., 1997).

Статистическая обработка полученных данных проведена методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине (Г.Ф.Лакин, 1973; Е.В. Гублер, 1978), а также с использованием прикладных программ «Statistica 5.0» и «Microsoft Excel» на PC «Pentium III».

2.2. Разработка лекарственной формы препарата на основе циминая

2.2.1. Сравнительная оценка антимикробной активности циминая

Изучение сравнительной антимикробной активности циминая проведено в параллельных опытах с левомицетином, эритромицином, стрептоцидом и тетрациклином в отношении протей, золотистого стафилококка и кишечной палочки.

Установлено, что наименьшая чувствительность данного штамма *Proteus vulgaris* (п) к стрептоциду (МБсК 250 мкг/мл). При этом стрептоцид был менее активен циминая в 16 раз, эритромицин и тетрациклин - в 8 раз, а левомицетин - в 2 раза (табл. 2).

Таблица 2

Бактериостатическое действие препаратов на тест-культурах

Препарат	МБсК мкг/мл		
	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>St. aureus</i> 209 P	<i>E. coli</i> 1257
Циминаль	15,6	7,8	7,80
Стрептоцид	250,0	62,5	125,0
Левомецитин	31,2	3,9	15,6
Эритромицин	125,0	62,5	125,0
Тетрациклин	125,0	31,2	31,2

Исследования показали, что циминаль превосходил по бактериостатической активности в отношении культуры золотистого стафилококка тетрациклин в 4 раза, эритромицин и стрептоцид - в 8 раз. Однако левомецитин в данном случае проявил в 2 раза большее бактериостатическое действие по сравнению с циминалем. Наименьшая чувствительность данного штамма *E. coli* была к стрептоциду и эритромицину (МБсК = 125 мкг/мл). При этом циминаль был в 16 раз активнее стрептоцида и эритромицина, в 4 раза - тетрациклина и в 2 раза - левомецитина.

2.2.2. Изучение резорбции циминаля из цидисепт-геля

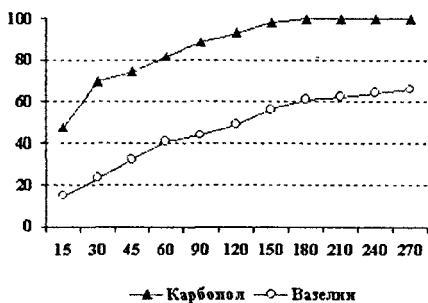


Рис.1. Высвобождение циминаля из основы, %
(по оси абсцисс время диализа в минутах)

При изучении резорбции циминаля из цидисепт-геля установлено, что высвобождение циминаля из карбополовой основы, состоящей из этилового спирта, глицерина, полиэтиленоксида 400, 1,2-пропиленгликоля и воды происходит за 3 часа на 100%. При этом из основы на вазелине за тоже время только на 61,1% (рис.1).

2.2.3. Изучение оптимального содержания ДВ в цидисепт-геле

На основании изучения сроков и характера течения раневого процесса в группах животных, которых лечили 0,3% цидисепт-гелем установлено, что наиболее оптимальным содержанием циминаля в цидисепт-геле является его концентрация 0,3% (табл.3). При этом отёчность и гиперемия исчезали на 4-й,

образование грануляций - на 7-й дни, а на 14-й день рана полностью эпителизировалась.

Таблица 3

Эффективность применения цидисепт-геля с различным содержанием циминала при лечении гнойных ран у собак

Показатели	Содержание циминала, %		
	0,1	0,3	0,5
Исчезновение признаков воспаления, дн.	7,3±1,11	4,4±0,42	4,7±0,26
Образование грануляций, дней	8,6±1,08	6,9±0,63	7,2±0,18
Эпителизация раны, дней	14,9±5,5	13,1±2,7	13,9±3,8
Степень заживления	Вторичное натяжение	Вторичное натяжение	Вторичное натяжение
Переносимость препарата	хорошая	хорошая	Незначительное раздражение по краям раны

2.2.4. Изучение стабильности цидисепт-геля

Стабильность цидисепт-геля изучалась на трёх опытных партиях препарата при его хранении при температуре от +5 до +20°C через 3, 6, 9 и 12 месяцев после изготовления. Установлено, что все количественные и качественные показатели отвечали требованиям ТУ. При этом консистенция всех образцов была однородная, сметанообразная со специфическим запахом. Массовая доля циминала в хранившихся образцах осталась без изменения и составила 0,28 - 0,32%.

2.3. Фармако-токсикология цидисепт-геля

2.3.1. Острая токсичность

Установлено, что впервые 2 часа после введения в желудок цидисепт-геля в дозах 25,0, 30,0 г/кг массы тела у белых мышей и крыс наблюдались вялость, учащенное дыхание, заторможенность, которые в последующем исчезали. При применении препарата в более низких дозах не отмечено изменений в поведении и клиническом состоянии мышей и крыс. Гибели мышей и крыс не наблюдалось в течение всего периода наблюдения.

Патоморфологическое изучение по окончании эксперимента не выявило нарушений в структурной организации внутренних органов. LD₅₀ препарата определить не удалось, так как при введении внутрь цидисепт-геля в максимально возможных объемах (0,6 мл – белым мышам и 6,0 мл – белым крысам) в дозе 30,0 мл/кг массы тела не отмечалось гибели животных или развития

клинических признаков интоксикации. Цидисепт-гель по степени воздействия на организм согласно ГОСТ 12.1.007 отнесен к малоопасным веществам (IV класс опасности).

2.3.2. Хроническая токсичность

Многократное (в течение 21 дня) накожное применение цидисепт-гель на поверхность выстриженного участка по 0,5 г на площадь 5 см², не вызывало существенных изменений в клиническом состоянии животных. При изучении хронической токсичности в опытной и контрольной группах на протяжении всего опыта гибели белых крыс не регистрировали. Не выявлено существенных различий в потреблении воды и пищи. Препарат не вызывал изменений в поведенческих реакциях, реакции на внешние раздражители, а также нарушений в двигательной активности животных. Относительная масса внутренних органов крыс, которым применяли препарат, существенно не отличались от контроля. Цидисепт-гель не оказывает влияние на гематологические и основные биохимические показатели крови при длительном применении.

2.3.3. Общее действие цидисепт-геля на организм мелких домашних животных

Накожное нанесение Цидисепт-геля на поверхность выстриженного участка кожи собак и кошек один раз в сутки по 0,9 г на площадь 9 см² в течение 14 и 21 дня не вызывало изменений в общем состоянии и поведении собак и кошек, животные были не агрессивны и имели хороший аппетит. Кожные покровы опытных животных не отличались от исходного уровня. Частота дыхания и температура тела при применении цидисепт-геля практически не отличалась как от фоновых показателей, так и от показателей животных контрольной группы.

Цидисепт-гель при длительном применении на кожу собак хорошо переносится животными, не вызывает раздражения кожи на месте нанесения препарата, изменений общего состояния, не влияет на биохимические показатели крови животных (табл. 4).

2.3.4. Раздражающее действие цидисепт-геля

Установлено, что при однократной аппликации (плотность нанесения препарата от 0,02 г/см² до 0,1 г/см²) на кожные покровы цидисепт-гель не вызывает повреждения кожи в виде эритемы или её отёков. Препарат вызывает

слабое раздражение конъюнктивы спустя 2-3 часа после закапывания, которое проходит уже к 4 часу.

Таблица 4

Влияние многократного применения цидисепт-геля на некоторые биохимические показатели крови собак

Показатели	Фон	Гелевая основа, через		Цидисепт-гель, через	
		14 дней	21 день	14 дней	21 день
Общий белок, г/л	68,5±3,9	68,1±2,17	69,8±1,39	67,5±2,19	68,3±2,27
Альбумины, %	32,5±2,17	32,2±1,69	31,8±1,03	32,1±1,57	33,1±2,63
Мочевина, мм/л	5,2±1,09	4,7±0,17	4,6±2,08	4,4±1,42	4,5±0,88
Глюкоза, мм/л	4,6±0,57	4,5±0,22	4,4±0,76	4,4±0,57	4,4±0,18
Холестерин, мм/л	4,2±0,29	3,8±0,11	3,6±0,32	3,6±0,42	3,4±0,13
АсАТ, Ед/л	34,7±1,29	32,6±6,13	31,8±2,21	33,6±4,27	29,8±2,37
АлАТ, Ед/л	49,6±4,32	44,2±3,03	43,9±2,12	44,4±1,93	41,3±4,18
ЩФ, мккат/л	99,5±6,74	95,0±3,54	98,2±2,74	91,6±9,13	91,3±10,1
Креатинин, мкМ/л	101,2±10,9	98,0±8,77	90,6±5,17	87,0±3,54	89,9±7,12
Билирубин, мкМ/л	10,9±0,82	11,2±0,61	8,3±0,62	9,3±0,14	8,8±0,61

2.3.5. Местно-раздражающее действие цидисепт-геля при многократном применении

Установлено, что длительное накожное нанесение цидисепт-геля и гелевой основы не приводит к изменению поведения, аппетита, температуры тела животных. Происходит лишь незначительное увеличение толщины кожной складки в пределах 1,5-2,5% по отношению к контролю и к исходному состоянию к 30-му дню наблюдения (рис.2). Выстриженные и выбритые участки в период наблюдений у животных опытной группы зарастали шерстью, которая не отличалась по густоте от шерсти животных контрольной группы.

2.3.6. Аллергенные свойства цидисепт-геля

Изучение аллергенных свойств цидисепт-геля проводили при накожном применении. Животным опытной группы на выстриженные участки кожи боковой поверхности, ближе к середине туловища, наносили по 0,5 мл цидисепт-геля на площадь 5 см² (плотность нанесения препарата составляла 0,1 мл /см²).

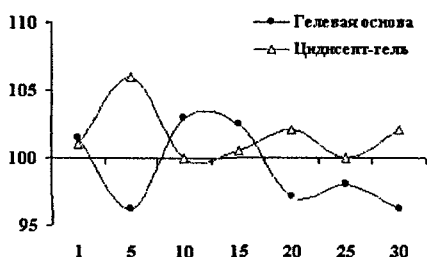


Рис.2. Толщина кожной складки у кроликов при действии цидисепт-геля (в % к контролю)

проб, предложенной С.В. Суворовым (1974). Животным контрольной группы применяли только разрешающие дозы. Установлено, что 20-кратная аппликация препарата не вызывает явлений сенсибилизации.

Цидисепт-гель наносили на протяжении трех недель по 6 раз в неделю. Первое тестирование путем нанесения цидисепт-геля в дозе в 5 раз превышающую сенсибилизирующую проводили после 10 аппликаций, затем – через 14 и 20 суток от начала аппликации. Реакцию кожи учитывали по шкале оценки

2.3.7. Антимикробная активность цидисепт-геля

Опыты по изучению антимикробной активности цидисепт-геля проведены на 7 тест-культурах основных возбудителей раневых инфекций. Проведённые исследования показали, что цидисепт-гель наиболее активен в отношении *Escherichia coli* (1257), *Bacillus subtilis* и *Salmonella cholerae suis*. МБЦК в отношении данных микроорганизмов составила 15,6 - 31,25 мкг/мл (табл. 5).

Таблица 5

Антимикробная активность цидисепт-геля

Культура микроорганизмов	МБЦК, мкг/мл							
	500	250	125	62,5	31,25	15,6	7,8	3,9
<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	—	—	—	—	+	+	+	+
<i>Staphylococcus aureus</i> (п)	—	—	—	—	±	+	+	+
<i>Proteus vulgaris</i> (п)	—	—	—	—	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i> 1257	—	—	—	—	—	—	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	—	—	—	—	—	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosae</i>	—	—	—	+	+	+	+	+
<i>Salmonella cholerae suis</i>	—	—	—	—	—	+	+	+

Минимальная бактерицидная концентрация цидисепт-геля в отношении *Staphylococcus aureus* и *Proteus vulgaris* составила 62,5 мкг/мл. Наиболее устойчивой к действию цидисепт-геля оказалась *Pseudomonas aeruginosa*. МБЦК в отношении данного микроорганизма составила 125,0 мкг/мл.

2.3.8. Изучение ранозаживляющего действия цидисепт-геля

2.3.8.1. Модель кожной раны

На модели кожной раны у контрольных крыс только на 12-е сутки после начала эксперимента начинается образование грануляционной ткани, которая постепенно заполняла раневой дефект. На 20-е сутки наблюдалось плоскостная эпителизация, окончательное заживление происходило в результате рубцевания раны на 26-30е сутки (табл. 6).

Таблица 6

Заживление ран у крыс при применении цидисепт-геля

Условия лечения	Время наблюдения, сут.					Срок заживления, сут. (эпителизация)	Индекс ускорения по сравнению с контролем, %
	7	12	17	20	25		
Нелеченная рана	26,2±6,1	47,3±5,3	59,3±4,7	68,3±6,2	92,4±5,3	25,1±1,2	–
Цидисепт-гель	79,3±4,7	97,4±6,2	100,0	–	–	14,3±0,7	49,7±1,4
Гелевая основа	34,3±6,7	68,3±5,7	78,5±4,8	97,1±5,3	100,0	19,3±1,4	26,1±0,7

Заживление раны у крыс под действием цидисепт-геля наступало к 17 дню (100% заживление), а под действием гелевой основы - только к 20-му дню (100 эффект). У нелеченых крыс процесс заживления раны наблюдался к 30-му дню.

2.3.8.2. Модель ожоговой раны

По данным планиметрического исследования, заживление раны у крыс, не получавших препарат, протекает в три периода: 1-й, относительно медленный, заканчивающийся к 10 дню, характеризуется уменьшением площади раны примерно на 73,7 мм²; 2-й, более быстрый, длится до 14-25 дней, когда по сравнению с 10 днем площадь раны уменьшается в 3,9 раза; 3-й продолжается до 30-го дня и является более медленным, чем второй: площадь раны уменьшается в 2,7 раза по сравнению с 25 днем. Особенностью струпа в контрольной группе является его неравномерная толщина. При травмировании струп легко «сползает» с раны, из трещин часто выделяется сукровичная жидкость.

При термическом ожоге у крыс, леченных цидисепт-гелем, на 5-й день края раны покрывались эпителием, становились неподвижными, плотно спаянными с дном. При лечении препаратом различия в скорости заживления ран

начинали проявляться на 5-е сутки. В этот период средняя скорость заживления ран в опытной группе была выше, чем в контроле в 1,1 раза.

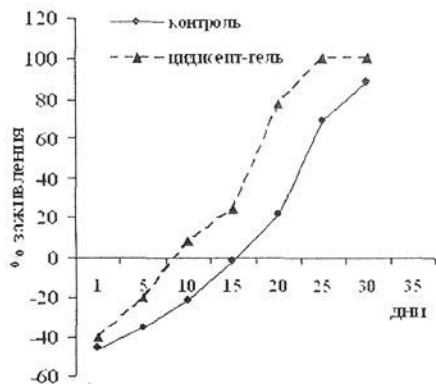


Рис. 3. Динамика заживления ожоговых ран у крыс при лечении цидисепт-гелем

ше, чем у контрольных крыс, на 10,0% ($P < 0,05$). К 20-му дню отмечалась самая высокая скорость заживления ожогов.

При сравнении средней площади ран в этот период установлено, что в опытной группе, по сравнению с 10-м днем от начала опыта, площадь раны уменьшилась на 69,0%, в то время как в контрольной — на 30,4%. Течение раневого процесса в контрольной группе характеризовалось удлинением сроков заживления и усилением воспалительной реакции, выраженных в большей степени, чем при применении цидисепт-геля. У отдельных животных из опытной группы наблюдали полное заживление ожогов и образование нежного рубца уже на 20-25-е сутки.

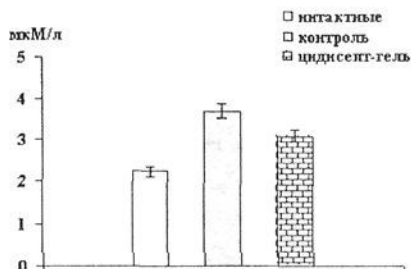


Рис. 4. Влияние цидисепт-геля на уровень МДА у крыс (3-и сутки после нанесения ожога)

При применении цидисепт-геля различия между контрольными и опытными животными становятся статистически достоверными через 9 дней после нанесения ожога и начала применения (рис. 3).

Наиболее явно противоожоговое действие препарата проявляется на 5-6-е сутки постожогового периода. К этому времени площадь ожоговой раны у крыс, которым вводили цидисепт-гель, была мень-

С целью, оценки терапевтического эффекта цидисепт-геля, было изучено влияние препарата на интенсивность процессов перекисного окисления липидов у крыс в опыте, после нанесения ожоговой травмы (рис. 4). Так, если на 3-и сутки после нанесения ожога уровень МДА в контрольной группе возрос на 67% по сравнению с интактными живот-

ными, то у крыс, которым применяли цидисепт-гель – уровень МДА повысился только на 39,4%.

Таким образом, в условиях ожогового поражения применение цидисепт-геля препятствует избыточному накоплению в организме продуктов перекисидации липидов, нормализует реакцию со стороны системы антиоксидантной защиты в организме в ответ на ожоговую травму.

2.4. Клинико-морфологическая характеристика экспериментальных ран у собак при лечении цидисепт-гелем

2.4.1. Клинические признаки течения раневого процесса и результаты планиметрических исследований экспериментальных ран у собак при лечении цидисепт-гелем.

Установлено, что при лечении экспериментальных ран у собак цидисепт-гелем определялась положительная динамика раневого процесса. Купирование гиперемии кожи при лечении цидисепт-гелем происходило в 1,3 раза быстрее, чем в базовой группе и в 2 раза быстрее, чем в контрольной группе. В тоже время купирование отека происходило при лечении цидисепт-гелем в среднем на $3,15 \pm 0,28$, эритромициновой мазью – на $4,74 \pm 0,68$, а в контроле – на $6,43 \pm 1,17$ сутки (табл. 7).

Таблица 7

Клинические признаки раневого процесса у беспородных собак при лечении гнойных ран цидисепт-гелем

Показатели	Контроль	Цидисепт-гель	Эритромициновая мазь
Купирование отека, дн.	$6,43 \pm 1,17$	$3,15 \pm 0,28^*$	$4,74 \pm 0,68$
Купирование гиперемии кожи, дн.	$5,29 \pm 0,76$	$2,65 \pm 0,16^*$	$3,19 \pm 0,52^*$
Некролиз, дн.	$6,21 \pm 0,58$	$2,05 \pm 0,22$	$4,27 \pm 0,71$
Фибринолиз, дн.	$8,36 \pm 2,11$	$4,30 \pm 0,93$	$6,85 \pm 0,35$
Уменьшение отделяемого до скудного, дн.	$13,2 \pm 3,65$	$7,02 \pm 1,14$	$10,5 \pm 3,24$
Появление грануляций, дн.	$5,48 \pm 0,32$	$2,24 \pm 0,38^*$	$3,69 \pm 0,32^*$
Заполнение грануляциями всей раны, дн.	$15,2 \pm 2,77$	$9,20 \pm 0,89$	$13,7 \pm 4,13$
Начало краевой эпителизации, дн.	$8,76 \pm 1,03$	$4,62 \pm 0,30^*$	$6,44 \pm 0,78$
Полная эпителизация ран, дн	$23,7 \pm 4,51$	$11,0 \pm 1,37^*$	$17,3 \pm 3,59^*$

* - $P < 0,05-0,001$ по сравнению с контролем

Некролиз у опытных собак наступил на $2,05 \pm 0,22$ сутки, что более чем в два раза быстрее, чем у собак, леченных эритромициновой мазью и в три раза -

по сравнению с контролем. Полный фибринолиз наступал на $4,3 \pm 0,93$ сутки, что в 1,6 раза быстрее, чем в базовой группе и почти в два раза, чем в контроле.

Переход раневого процесса с первой фазы во вторую фазу заживления наблюдался в опытной группе на третий день, а в базовой и контрольных группах на пятый- седьмой день. Во вторую фазу течения раневого процесса во всех ранах происходило дальнейшее уменьшение воспалительной реакции и развитие регенеративных процессов. Так, при лечении цидисепт-гелем отмечалось уменьшение отделяемого экссудата до скудного количества на $7,02 \pm 1,14$ сутки, тогда как в контрольной группе этот показатель был выше в 1,9 раза, а при лечении эритромициновой мазью - в 1,5 раза. Заполнение грануляциями всей раны при лечении цидисепт-гелем наблюдалось к 9-м суткам. К этому времени площадь ран уменьшилась на 80,8%. У животных, которым применяли эритромициновую мазь, площадь ран уменьшилась на 28,6%, у собак контрольной группы - на 23,1%. Полное заживление с качественной эпителизацией в опытной группе отмечено к 11 суткам, в базовой группе - на 18, а в контроле - на 24 сутки.

2.4.2. Результаты гематологических и цитологических исследований

Установлено, что в течение первых трёх суток после хирургического вмешательства в крови животных наблюдалось снижение уровня эритроцитов на 19,19% и гемоглобина на 20,73 % соответственно.

К 9-му дню после травмы отмечалась нормализация показателей красной крови. На 11-й день у животных, которых лечили цидисепт-гелем, количество эритроцитов было больше, чем у животных контрольной и базовой групп. Количество лейкоцитов в течение первых трёх суток увеличилось на 23,97%. Лейкоцитоз наблюдался до 9-го дня. После хирургического вмешательства имел место нейтрофилёз, сопровождающийся увеличением на 21,7% количества гранулоцитов вплоть до юных форм на третьи сутки после развития раневой инфекции. Одновременно уменьшился на 4,06% уровень сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов с одновременным увеличением на 23,5% числа моноцитов. Все показатели белой крови к 9-му дню нормализовались. При цитологическом изучении течения раневого процесса при лечении цидисепт-гелем через 3 суток установлено снижение числа нейтрофильных лейкоцитов, главным образом за счёт снижения их дегенеративных форм, а также уменьшение бактериальной флоры и увеличение макрофагов и фибробластов (табл. 8).

Таблица 8

Содержание клеточных элементов (%) в мазках с раневой поверхности собак

Показатели	Через 3 суток			Через 5 суток			Через 7 суток		
	Контроль	Цидисепт-гель	Мазь эритромициновая	Контроль	Цидисепт-гель	Мазь эритромициновая	Контроль	Цидисепт-гель	Мазь эритромициновая
Нейтрофилы	87,6±11,7	73,2±12,6	82,3±9,5	70,1±4,2	53,4±2,7*	74,2±4,1	69,3±3,2	36,1±2,7*	61,4±1,3
Макрофаги	2,1±0,61	7,4±0,39	2,6±0,24	6,4±1,14	10,6±1,32*	7,2±3,19	6,9±1,11	7,2±1,3	6,3±1,39
Лимфоциты	1,1±0,39	4,3±0,67	1,7±0,31	4,2±0,76	6,21±1,13	5,07±0,91	3,6±0,62	5,23±1,12	3,5±0,76
Фибробласты	(±)	++	(±)	1,1±0,82	12,3±3,17*	2,8±1,03	7,3±3,0	29,7±3,63*	10,2±2,15
Эозинофилы	(±)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Тучные клетки	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Эпителий	(-)	(+)	(±)	(+)	(++)	(+)	(+)	(+++)	(++)
Эритроциты	(+++)	(-)	(++)	(+++)	(++)	(+++)	(++)	(±)	(+)
Бактериальная флора (кокки)	(+++)	(++)	(++)	(++)	(±)	(++)	(+)	(-)	(±)

* - P< 0,05-0,001 по сравнению с животными, которых лечили эритромициновой мазью

На 5-е сутки количество фибробластов при лечении цидисепт-гелем увеличилось до 12,3%, а животных, которых лечили эритромициновой мазью, и контрольной группе соответственно до 2,8% и 1,1%.

На 7-е сутки от начала лечения животных цидисепт-гелем, количество нейтрофильных лейкоцитов в мазках-отпечатках уменьшилось до 36,1%, а количество фибробластов увеличилось в 2,5 раза, что составило 29,7%, наблюдалась выраженная пролиферация плоского эпителия.

При лечении эритромициновой мазью общее количество нейтрофильных лейкоцитов снизилось на 20,9%, количество фибробластов возросло до 10,2%, а также отмечено усиление пролиферации клеток плоского эпителия. В контроле общее количество нейтрофильных лейкоцитов составило - 69,3%, фибробластов до 7,3%. регенераторные процессы очень слабые. Тенденция заживления ран сохранилась и при исследовании мазков отпечатков на 9-11 сутки. Цидисепт-гель стимулирует неспецифический иммунный ответ при раневом процессе, увеличивая миграцию макрофагов и фибробластов в очаг воспаления.

2.4.3. Результаты гистологических исследований

При гистологическом исследовании в образцах кожи собак, которым для лечения ран применяли цидисепт - гель, в результате пролиферации и развития моноцитарных, макрофагальных, эпителиоидных, гигантских, лимфоцитарных и плазмочитарных клеток происходило формирование грануляционной ткани.

В то же время в образцах кожи собак, которым для лечения ран применяли эритромициновую мазь, встречались отдельные очаги пролиферации, а образцах ткани контрольных животных наблюдались лишь отдельные группы пролиферирующих клеток. На 7-е сутки в образцах опытной группы выявилась сформированная грануляционная ткань, а также частичное восстановление эпидермального слоя. В образцах кожи базовой группы животных отмечена активация формирования грануляционной ткани, в контрольных образцах выявились лишь отдельные очаги грануляционной ткани. На 11-е сутки в образцах кожи собак опытной группы произошло восстановление эпидермиса, замещение грануляционной ткани вновь формирующейся рыхлой подкожной клетчаткой (рис.5). В образцах кожи собак базовой группы отмечено восстановление структур кожи, а также сохранялись отдельных очагов пролиферации (рис.6). В контрольных образцах выявлялись не полностью сформирован-

ные грануляции, некоторая отёчность ткани и частичное восстановление структур эпидермиса (рис.7).

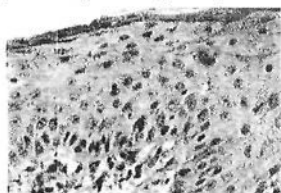


Рис. 5. Восстановление эпидермиса у собак при лечении ран цидисепт-гелем на 11-й день опыта.

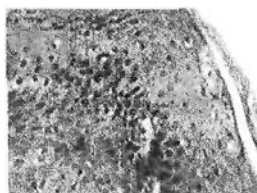


Рис. 6. Восстановление структуры и отдельные очаги пролиферации в коже собак при применении мази эритромициновой на 11-й день опыта.

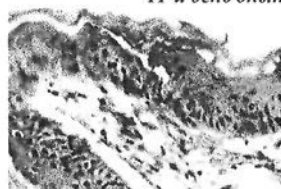


Рис. 2. Частичное восстановление эпидермиса кожи у контрольного животного на 11-й день опыта. Окраска гематоксилин-эозином. ок.×7, об.×40

2.5. Терапевтическая эффективность применения цидисепт-геля при случайных ранах у мелких домашних животных

Изучение терапевтической эффективности цидисепт-геля при лечении случайных ран у собак и кошек проведено в условиях Правобережной ветеринарной лечебницы г. Воронежа. Цидисепт-гель применяли, нанося его тонким равномерным слоем на пораженную поверхность или на марлевую салфетку, которой покрывали пораженный участок тела 1-2 раза в сутки до полного заживления, но не более 10 дней. В качестве препарата сравнения использовали эритромициновую мазь, которую применяли аналогично.

2.5.1. Применение цидисепт-геля при случайных ранах у собак

Установлено, что при лечении цидисепт-гелем воспалительные явления в ранах купируются быстрее, чем при лечении эритромициновой мазью. Купирование отёка при лечении цидисепт-гелем у собак эффективнее на 28,6%, гиперемии кожи – на 26,8%, чем при лечении эритромициновой мазью (табл. 9).

Поверхность ран собак при лечении цидисепт-гелем была чистая, фибринозно-лейкоцитарных масс не обнаруживалось, дно ран было образовано молодой грануляционной тканью бледно-розового цвета. Заполнение грануля-

циями всей раны при лечении цидисепт-гелем у собак эффективнее на 36,7%, чем при лечении эритромициновой мазью. Во вторую фазу раневого процесса во всех ранах наблюдалось дальнейшее уменьшение воспалительной реакции и развитие регенераторных процессов.

Таблица 9

Эффективность лечения гнойных ран у собак

Показатели	Цидисепт-гель	Мазь эритромициновая
Количество животных, гол.	20	20
Купирование отека, дн.	3,5±0,32*	4,9±0,20
Купирование гиперемии кожи, дн.	3,0±0,19	4,1±0,54
Появление грануляций, дн.	2,2±0,15*	4,4±0,27
Заполнение грануляциями всей раны, дн.	9,3±0,89*	14,7±0,92
Полная эпителизация раны, дн.	12,1±2,41	17,5±5,60
Переносимость препарата, дн.	хорошая	хорошая

* - $P < 0,05-0,001$ по сравнению с животными, которых лечили эритромициновой мазью

При лечении цидисепт-гелем грануляции были зернистые, плотные, полнокровные, не кровоточили. Отделяемое из раны было с небольшим количеством секрета. Полная эпителизация случайных ран у собак при лечении цидисепт-гелем происходила на 13-й день, что было эффективнее на 30,9%, чем при лечении эритромициновой мазью.

2.5.2. Применение цидисепт-геля при случайных ранах у кошек

При лечении цидисепт-гелем воспалительные явления в ранах купируются быстрее, чем при лечении эритромициновой мазью. Купирование отёка при лечении цидисепт-гелем на 28,9 %, а купирования гиперемии кожи на 29,7% быстрее, чем при лечении эритромициновой мазью (табл.10).

Во вторую фазу раневого процесса во всех ранах наблюдалось уменьшение воспалительной реакции и развитие регенераторных процессов. Восстанавливался аппетит, исчезал воспалительный отёк и активная гиперемия в области раны, количество отделяемого экссудата уменьшалось, раны заполнялись грануляционной тканью, у краев начиналась эпителизация.

Полная эпителизация случайных ран у кошек при лечении цидисепт-гелем происходила на 12 день, что быстрее, чем при лечении эритромициновой мазью на 5 дней или на 29,6%.

Таблица 10

Эффективность лечения гнойных ран у кошек

Показатели	Цидисепт-гель	Мазь эритромициновая
Количество животных, гол.	20	20
Купирование отека, дн.	3,2±0,21*	4,5±0,11
Купирование гиперемии кожи, дн.	2,6±0,09*	3,7±0,42
Появление грануляций, дн.	2,3±1,54	4,2±0,34
Заполнение грануляциями всей раны, дн.	9,1±0,78**	14,2±1,03
Полная эпителизация раны, дн.	11,9±1,28*	16,9±1,16
Переносимость препарата, дн.	хорошая	хорошая

* - $P < 0,05-0,001$ по сравнению с животными, которых лечили эритромициновой мазью

3. ВЫВОДЫ

1. Наиболее оптимальной основой для нового накожного антисептика на основе циминаля - цидисепт-геля является карбопол, т.к. освобождение циминаля из препарата на карбополовой основе происходит на 100% за 3 часа, а из препарат на вазелиновой основы - на 61,1% за тоже время.

2. Цидисепт-гель обладает широким спектром антимикробной активности в отношении, основных возбудителей раневой инфекции. Минимальная бактерицидная концентрация в отношении *E. coli*, *B. subtilis*, *S. sholerea suis* составляет 15,6-31,25 мкг/мл, в отношении *St. aureus*, *Pr. vulgaris* - 62,5 мкг/мл и в отношении *Ps. aeruginosa* - 125,0 мкг/мл.

3. Цидисепт-гель по степени токсичности относится по ГОСТ 12.1.007 к малоопасным веществам (IV класс опасности). Препарат не вызывает изменений в поведенческих реакциях, реакции на внешние раздражители, а также нарушений в двигательной активности животных. Он не обладает кожно-раздражающим и кожно-резорбтивным действием, не оказывает отрицательного влияния на гематологические и биохимические показатели крови животных при длительном применении.

4. Цидисепт-гель стабилен при хранении в течение одного года при температуре от +5 до +20°C и выше. Препарат отвечает всем качественным и количественным показателям ТУ в течение срока годности (12 месяцев).

5. Цидисепт-гель обладает выраженным ранозаживляющим действием как при кожных ранах (100 % заживление к 17-му дню против 30 дней в контроле), так и ожоговых ранах III степени (80% заживления ран к 20-му дню против 20% в контроле).

6. Цидисепт-гель стимулирует неспецифический иммунный ответ при раневом процессе, увеличивая к 7-му дню соответственно в 1,2 и 2,9 раза миграцию макрофагов и фибробластов в очаг воспаления (относительно мази эритромициновой).

7. Цидисепт-гель обладает выраженной терапевтической активностью при лечении экспериментальных и случайных ран у мелких домашних животных. В сравнении с лечением эритромициновой мазью купирование отёка при применении цидисепт-геля проходило эффективнее на 28,6-28,9%, развитие грануляций - на 35,9-36,7%, купирование гиперемии кожи на 26,8-29,7%, полная эпителизация случайных ран на 29,6 - 30,9%.

4. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для лечения случайных ран у мелких домашних животных рекомендуется применять новый антисептик цидисепт-гель наружно, нанося его тонким равномерным слоем на пораженную поверхность или на марлевую салфетку, которой покрывают пораженный участок тела 1-2 раза в сутки до полного заживления, но не более 10 дней в соответствии с листком вкладышем регистрационного удостоверения № 1743-02-640-06 от 04.05.06, выданного Государственным Департаментом ветеринарной медицины министерства аграрной политики Украины, а также инструкцией, утверждённой заместителем руководителя Россельхознадзора РФ за № ПВР-2-1.6/01688 от 11.12. 2006 г.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шабунин С.В. Влияние цидисепт-геля на интенсивность процессов свободнорадикального окисления у крупного рогатого скота в комплексной терапии раневых инфекций / С.В. Шабунин, Н.Г. Макеев, Ю.М. Косенко // Свободные радикалы, антиоксиданты и здоровье животных: материалы Международной научно-практической конференции.- Воронеж: изд-во ВГУ, 2004.- С.339-342.

2. Макеев Н.Г. Цидисепт-гель: влияние на репаративные процессы в тканях / Н.Г. Макеев, Г.А. Востроилова, А.П. Золототрубов, Ю.М. Косенко // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Международной научно-производственной конференции, посвящённой 100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.- Воронеж, 2006.- С.1064 - 1067.

3. Макеев Н.Г. Терапевтическая эффективность применения цидисепт-геля при случайных ранах у мелких домашних животных / Н.Г. Макеев // Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Международной научно-производственной конференции, посвящённой

100-летию со дня рождения профессора Авророва А.А.- Воронеж, 2006.- С.1067–1070.

4. Шабунин С.В. Применение цидисепт-геля при лечении случайных ран у собак / С.В. Шабунин, Г.А. Востроилова, А.П. Золототрубов, Н.Г. Макеев // Информационный листок № 79-039-06. - Воронеж, 2006. - 4 с.

5. Макеев Н.Г. Применение цидисепт-геля при лечении ран у мелких домашних животных / М.Г. Макеев, С.В. Шабунин // Ветеринария.- 2006.- № 12.- С. 52-53.

Подписано в печать 22 01 2007 г. Формат 60х84 1/16

Гарнитура "Times New Roman" Печать офсетная

Бумага офсетная Объем 1,0 п.л. Тираж 100 экз

Заказ № 137

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленного
оригинал-макета в типографии ВГАУ
394087, г. Воронеж, ул. Мичурина, 1