



*На правах рукописи*

**ГЛУЩЕНКО ВАСИЛИЙ ВЯЧЕСЛАВОВИЧ**

**МИКРОБИОЦЕНОЗ ИНФИЦИРОВАННЫХ РАН  
И ДИНАМИКА ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
У СОБАК ПРИ ЛЕЧЕНИИ ПЕРКУТАНОМ**

16 00 03 – ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология,  
микология с микотоксикологией и иммунология  
16 00 05 – ветеринарная хирургия

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

Барнаул - 2007

Работа выполнена в ФГОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет»

**Научный руководитель**

**доктор ветеринарных наук, доцент  
Попов Юрий Геннадьевич**

**Официальные оппоненты**

**доктор ветеринарных наук, профессор  
Кашин Александр Сергеевич**

**кандидат ветеринарных наук  
Бокова Татьяна Владимировна**

**Ведущая организация**

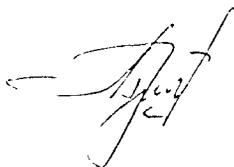
**ФГОУ ВПО «Красноярский  
государственный аграрный университет»**

Защита диссертации состоится «20» апреля 2007 г в «12<sup>00</sup>» часов на заседании диссертационного совета Д 220 002 02 при ФГОУ ВПО «Алтайский государственный аграрный университет» в институте ветеринарной медицины по адресу 656922, г Барнаул, ул Попова, 276

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

Автореферат разослан «19» марта 2007 г

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор ветеринарных наук,  
профессор



П И Барышников

## 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность проблемы** В настоящее время одно из ведущих мест у собак в городах занимают хирургические болезни, которые стоят на втором месте после внутренних незаразных болезней. Среди хирургических болезней наиболее часто встречаются случайные раны (Э И Веремей, В М Лакисов, 1992, А С Кашин, Н И Левченко, 1994, Е М Козлов, 1997, С Я Бережной, 1999, И Н Никитин, Е Н Трофимова, 2005).

В результате несвоевременного обращения к ветеринарным специалистам поздней обработки случайных ран, низкой резистентности привыкшего к «комнатным» условиям организма, они часто осложняются хирургической инфекцией, которую вызывают ассоциации условно-патогенной микрофлоры (В Борисевич с соавт., 1998, М И Карсонова с соавт., 1998, А М Наметов, 2003).

Основными представителями условно-патогенной микрофлоры, которые выделяют при инфицированных ранах у собак, являются золотистый и белый стафилококки, пиогенный и эпидермальный стрептококки, реже колиформные бактерии (В Н Виденин, Е Ю Антонен, 2001, А И Карамалак с соавт., 2002, В В Тиханин, Н Л Карпецкая, 2004, Н В Клицунова с соавт., 2004, Т В Ермакова, 2005).

Закрывать метод лечения ран сводится к наложению швов и защитных отсасывающих, асептических или антисептических повязок. Так лечат операционные и свежие случайные раны после хирургической обработки (П А Тарасенко с соавт., 2001, N J McGlennon, 1988, Н Hufnagel, F Grimm, 1989, P R Watt, 1990, J R Melfsen et al., 1995).

При наличии в ране признаков инфекции применяется открытый метод лечения, который выполняется без наложения швов и повязок. Он обеспечивает возможность аэрации, воздействия солнечной радиации, предупреждает развитие анаэробной инфекции (R M Pearl et al., 1985).

Лечение ран должно быть комплексным. Общеизвестно, что химическая антисептика всегда включается в комплекс лечения ран. Сущность ее заключается в применении антисептических и бактериостатических средств для подавления активности микрофлоры в ране.

Но широкое применение антибиотиков привело к усилению резистентности большинства микробов, угнетению иммуногенеза, развитию суперинфекции (S J Eukyn, 1988, F Annont et al., 1989).

Применение таких средств показано преимущественно в первую фазу раневого процесса. Лучшие результаты достигаются при глубокой антисептике, т.е. введении антисептических и бактериостатических средств в ткани, что создает оптимальные условия для их контакта с микрофлорой, проникшей в поврежденные и здоровые ткани.

Перспективным направлением в лечении инфицированных ран является аэрозольный способ применения антимикробных и антисептических средств, включающих пенетраторы, помогающие действующим веществам проникать в ткани, в

том числе и вокруг области раны (В Ф Ковалев с соавт , 1988, В М Лаки-сов с соавт , 1990, И Ф Кленова с соавт , 2004)

Вышеуказанным требованиям в полной мере отвечает комплексный препарат перкутан, разработанный профессором Ю Я Дольниковым с сотрудниками и предложенный для лечения маститов у коров доктором ветеринарных наук Ю Г Поповым (2000, 2001) Препарат выпускается в аэрозольных баллончиках, применяется просто и технологично путем нанесения на кожу пораженных долей вымени из аэрозольного баллончика с расстояния 10-15 см в течение 2-3 с

В связи с вышеизложенным актуальным является изучение действия перкутана на микрофлору и процесс заживления инфицированных ран у собак, а также влияние его на организм раненых животных

**Цель и задачи исследований** Цель настоящей работы – изучить эффективность применения перкутана при лечении инфицированных ран у собак, определить его влияние на организм раненых животных

При этом в задачи исследований входило

- 1 Изучить распространенность травматизма у собак в г Новосибирске
- 2 Изучить состав микрофлоры инфицированных ран у собак и его динамику при применении перкутана
- 3 Изучить действие препарата на процесс заживления инфицированных ран у собак
- 4 Исследовать динамику гематологических показателей у собак с инфицированными ранами в процессе лечения

5 Определить токсикологические параметры перкутана

6 Определить экономическую эффективность применения перкутана

**Научная новизна.** Впервые определено, что перкутан обладает высокой терапевтической эффективностью при лечении инфицированных ран у собак Его применение сокращает сроки заживления инфицированных ран, нормализует гематологические показатели раненых собак

Доказано, что перкутан обладает высокой антимикробной активностью в отношении раневой микрофлоры Изучена динамика микробиоценоза инфицированных ран у собак под действием перкутана и традиционных средств лечения

Установлено, что перкутан умеренно токсичен, не кумулируется в организме, не обладает аллергенным, тератогенным и эмбриотоксическим действием

Подана заявка на изобретение «Способ лечения инфицированных ран у домашних животных» № 2006104742/13(005136) от 15 02 2006 г и получено уведомление о положительном результате экспертизы

**Практическая значимость работы.** Разработан простой и технологичный способ лечения инфицированных ран у собак препаратом перкутан Изучена динамика микробиоценоза ран и гематологических показателей у раненых собак в процессе лечения препаратом

Результаты проведенных исследований используются в учебном процессе по дисциплине ветеринарная хирургия в институте ветеринарной медицины Новосибирского государственного аграрного университета

По результатам проведенной работы научно-методическим советом Института ветеринарной медицины Новосибирского ГАУ утверждены методические рекомендации «Способ лечения инфицированных ран у собак» (протокол № 13 от 12.03.2007г.)

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на юбилейной конференции, посвященной 55-летию Краснодарской НИВС (Краснодар, 2001), межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы ветеринарной медицины мелких домашних животных» (Новосибирск, 2002), 6-й Сибирской ветеринарной конференции «Актуальные проблемы ветеринарной медицины» (Новосибирск, 2006), международной конференции, посвященной 60-летию Краснодарского НИВИ (Краснодар, 2006), заседаниях научно-методического совета Института ветеринарной медицины НГАУ в 2000-2006 гг.

**Публикации.** Основные положения диссертации изложены в 6 печатных работах, опубликованных в журналах «Сибирский вестник сельскохозяйственной науки», «Практик», материалах международных, Всероссийских и межрегиональных конференций

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 121 странице компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты исследований, обсуждение результатов исследований, выводы, практические предложения, список использованной литературы и приложения. Диссертационная работа иллюстрирована 17 таблицами и 16 рисунками. Список использованной литературы включает 216 источников, в том числе 46 иностранных авторов.

#### **Основные положения, выносимые на защиту**

- 1 Данные о распространенности травматизма у собак в г. Новосибирске
- 2 Результаты изучения терапевтической эффективности перкутана при лечении инфицированных ран у собак
- 3 Данные экспериментальных исследований, характеризующие антимикробные и токсикологические свойства препарата перкутан
- 4 Динамика гематологических показателей у собак с инфицированными ранами в процессе лечения перкутаном
- 5 Динамика иммунологических показателей у собак с инфицированными ранами в процессе лечения перкутаном

## **2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

Экспериментальные исследования проведены в 1998-2005 гг. в клинике «Болезни мелких домашних животных» и на кафедре хирургии и внутренних незаразных болезней Института ветеринарной медицины Новосибирского ГАУ.

Они проводились в рамках НИР НГАУ по теме «Разработка новых комплексных препаратов для профилактики и лечения болезней животных, вызванных потенциально-патогенной микрофлорой» (№ гос. регистрации 01.200.113908)

Научно-исследовательская работа включала анализ распространения хирургических заболеваний и случайных ран у собак в г Новосибирске, изучение состава микрофлоры инфицированных ран и ее устойчивости к антимикробным средствам *in vitro* и *in vivo*, исследование антимикробного действия и токсикологических свойств препарата перкутан, оценку его терапевтической эффективности при лечении инфицированных ран у собак, изучение влияния препарата на клиническое состояние, морфологические и иммунологические показатели крови собак с инфицированными ранами, проведение клинических испытаний препарата при лечении инфицированных ран у собак

Перкутан - комплексный химиотерапевтический препарат, в составе которого фурацилин, этакридина лактат, димексид и вода. Препарат выпускают в аэрозольных беспропелентных баллонах. Перкутан применяли для лечения собак при случайных ранах, осложненных хирургической инфекцией. Перед его применением проводили хирургическую обработку ран. Препарат наносили на поверхность раны 1-2 раза в день с расстояния 10-15 см в течение 2-3 с.

Распространенность хирургических болезней и случайных ран у собак определяли по данным учетной документации ветеринарных клиник г Новосибирска.

Изоляты микрофлоры ран брали стерильным ватным тампоном и проводили их микроскопию и посев раневого содержимого на МПА и МПБ. Для индикации их использовали высев на элективные питательные среды, изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств по общепринятым методикам. Идентификацию проводили, используя «Определитель бактерий Берджи» (1997). Патогенность выделенной микрофлоры изучали на мышах при внутрибрюшинном введении.

Для определения чувствительности выделенной микрофлоры к антибиотикам и перкутану использовали метод диффузии препарата с бумажного диска в МПА (В Ф Ковалев с соавт., 1988, М С Поляк, 1997).

Для определения чувствительности-устойчивости выделенных изолятов бактерий к антисептикам использовали рекомендации А А Адарченко с соавт. (1989).

Для исследований динамики микробиоценоза ран брали собак из приюта Общества защиты животных. Для лечения ран использовали отдельные компоненты препарата перкутан: растворы фурацилина, этакридина лактата, димексиды, сам препарат, а также мази Вишневского и левомеколь. Исходное состояние микробного обсеменения ран принимали за 100 %. На 5-й и 10-й дни лечения раневое содержимое исследовали в соответствии с рекомендациями Д Д Меньшикова с соавт. (1990). Определяли динамику микробиоценоза и процент уменьшения количества микробных тел в ране под воздействием применяемых препаратов.

При определении токсикологических параметров перкутана руководствовались «Методическими указаниями по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве» (1988). О токсических свойствах препарата судили по результатам исследованиям острой токсичности на белых мышах и белых крысах и хронической токсичности на белых мышах. ЛД<sub>50</sub> рассчитывали по методу Г Н Першина (1950). Сенсибилизирующие и аллергенные свойства препарата определяли на морских свинках способом эпикутанных аппликаций.

Тератогенные и эмбриотоксические свойства перкутана изучали на крысах линии Вистар на базе лаборатории токсикологии ИЭВСиДВ СО РАСХН

Всего для проведения исследований токсикологических характеристик препарата было использовано 130 белых нелинейных мышей с массой тела 18-22 г, 56 белых нелинейных крыс с массой тела 150-200 г, 30 крыс линии «Вистар» с массой тела 180-220 г, 15 морских свинок с массой тела 400-500 г

Ранозаживляющие свойства перкутана изучали на собаках с инфицированными ранами, в сравнении с применением бальзамического линимента по Вишневскому. Препараты применяли ежедневно до полного заживления ран у животных

Раневую поверхность оценивали планиметрически каждые 5 дней. Изменение площади ран рассчитывали по формуле  $(S - S_n) / 100 / S \cdot t$ , где  $S$  – площадь раны при предыдущем измерении,  $S_n$  – площадь раны при данном измерении,  $t$  – число дней между измерениями (Методические рекомендации, 1989)

В ходе эксперимента подсчитывали процент животных с полным заживлением раневой поверхности и процент заживления раневой поверхности

Критериями оценки эффективности препаратов являлись 1) исчезновение признаков травматического отека и воспаления краев раневой поверхности, 2) очищение раны от мертвых тканей 3) уменьшение площади поверхности раны (по данным планиметрии) и улучшение общего состояния животного

В крови собак определяли содержание гемоглобина (колориметрически), количество эритроцитов и лейкоцитов (в счетной камере Горяева), лейкограмму (общепринятым методом), в сыворотке крови – количество общего белка (рефрактометрически) и белковых фракций (нефелометрически)

Кроме этого была использована методика Я Я Кальф-Калифа (1982), характеризующая лейкоцитарный индекс инфильтрации - ЛИИ (цит по Э К Абатуровой, В Н Байматову, 2001) ЛИИ определяли по формуле

$$\text{ЛИИ} = (4\text{Ми} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) \times (\text{Пл} + 1) / (\text{Л} + \text{Мо}) \times (\text{Э} + 1)$$
, где

Ми – миелоциты, Ю – юные, П – палочкоядерные, С – сегментоядерные нейтрофилы, Пл – плазматические клетки Тюрка, Л – лимфоциты, Мо – моноциты, Э – эозинофилы

Бактерицидную активность сыворотки крови изучали по О В Смирновой и Т И Кузьминой (1966), активность лизоцима в сыворотке крови – по В Г Дорофейчук (1968), показатели фагоцитоза (фагоцитарная активность нейтрофилов, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс) – по П Н Никонорову (1979) Все методики использовали в модификации П Н Смирнова с соавт (1989)

Клинические испытания эффективности перкутана при лечении инфицированных ран у собак в сравнении с традиционными средствами проведены в клиниках г Новосибирска. Препарат испытан на поголовье 200 собак при 160 в контроле

Экономическую эффективность применения препарата определяли по методике, утвержденной Департаментом ветеринарии МСХиП РФ (1997)

Методики отдельных экспериментов, научно-производственных опытов и наблюдений изложены в соответствующих разделах диссертации

Все цифровые материалы обработаны методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине (Г Ф Лакин, 1990)

Автор выражает благодарность научному руководителю доктору ветеринарных наук Ю Г Попову, директору Института ветеринарной медицины НГАУ доктору биологических наук С Н Магери, сотрудникам лабораторий токсикологии и микробиологии ГНУ ИЭВСиДВ СО РАСХН за методическую и практическую помощь в проведении некоторых исследований

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Распространенность раневых повреждений у собак

Нами проанализированы учетные документы трех наиболее крупных ветеринарных клиник г Новосибирска - «Евровет», «Энималт» и клиники «Болезни мелких домашних животных» Института ветеринарной медицины НГАУ за 2003-2005 гг

Установлено, что хирургические патологии занимают второе место по значимости после внутренних незаразных и составляют от 29,3 до 39,4 % в структуре болезней собак

При этом случайные раневые повреждения занимают второе место по значимости, уступая только количеству переломов костей, и составляют от 25,8 до 35,2 % в структуре хирургических патологий у собак

#### 3.2. Изучение состава микрофлоры инфицированных ран у собак и ее чувствительности к антимикробным средствам

Исследовали раневое содержимое от 15 собак со случайными инфицированными ранами Для определения родовой принадлежности выделенных бактерий использовали «Определитель бактерий Берджи» (1997)

Нами было выделено 40 изолятов бактерий, отнесенных по результатам исследований к 6 родам (табл 1)

##### 1. Микрофлора инфицированных ран у собак

Род бактерий	Количество изолятов	% случаев выделения	Патогенность для мышей
Staphylococcus	15	37,5	+
Streptococcus	10	25,0	+
Micrococcus	3	7,5	
Proteus	2	5,0	-
Pseudomonas	4	10,0	-
Escherichia	4	10,0	-
Неидентифицированные	2	5,0	-
Всего выделено	40	100,0	

Установлено, что наиболее часто выделяется из проб раневого содержимого при инфицированных ранах у собак грамположительная кокковая микрофлора

(70 % случаев), реже грамотрицательная палочковидная (25 %) Среди кокковой микрофлоры преобладали стафилококки (53,6 %) В большинстве случаев из ран выделяли ассоциации бактерии 2-3 видов

При анализе распределения выделенной микрофлоры по признаку чувствительности-устойчивости к антибиотикам и антисептикам испытанные препараты были отнесены к одной из пяти групп с очень высокой частотой чувствительных к ним микроорганизмов (более 80 % изолятов), высокой (61-80 %), средней (41-60%), умеренной (21-40 %), низкой (до 20 %) (табл 2)

## 2. Чувствительность микрофлоры к антибиотикам и антисептикам *in vitro*, %

Антимикробный препарат	Чувствительность микрофлоры к препаратам, %			
	Staphylococcus (n=15)	Streptococcus (n=10)	Escherihia (n=4)	Pseudomonas (n=4)
Ампициллин	13,3	устойчивы	25,0	устойчивы
Оксациллин	26,7	устойчивы	устойчивы	устойчивы
Левомецетин	13,3	20,0	25,0	устойчивы
Гентамицин	53,3	60,0	50,0	50,0
Тетрациклин	33,3	устойчивы	25,0	25,0
Фурацилин 1 5000	93,3	90,0	100,0	75,0
Этакридина лактат 1 1000	86,7	80,0	75,0	75,0
Перекись водорода 3%	73,3	70,0	75,0	50,0
Борная кислота 3 %	53,3	60,0	50,0	50,0
P-р йода спиртовой 5%	93,3	100,0	100,0	100,0

Результаты исследований показывают, что выделенные нами из инфицированных ран у собак изоляты микрофлоры имели низкую или умеренную чувствительность к антибиотикам (кроме гентамицина, чувствительность к которому была средней) В то же время они оказались чувствительны к антисептикам, особенно к растворам фурацилина 1 5000 и этакридина лактата 1 1000, к которым чувствительны более 80 % выделенных из инфицированных ран изолятов микрофлоры Эти антисептики являются действующими веществами препарата перкутан

### 3.3 Изучение антимикробного действия перкутана на микрофлору инфицированных ран у собак *in vitro*

Для изучения антимикробного действия перкутана были взяты два образца препарата с различным сроком хранения образец № 1 – 1 год, образец № 2 – 1 мес

В качестве контрольных были взяты референтные штаммы St albus, St aureus ATCC 25923 (F-49), Strept pyogenes 1972 гр A, E coli ATCC 25922 (F-50), E coli 078 производственный контрольный с режимом культивирования 24 ч при 37°С

Перкутан явился эффективным антимикробным средством в отношении референтной грамположительной (St albus, St aureus, Strept pyogenes) и грамотри-

цательной (*E coli*) микрофлоры Зоны задержки роста составили от 17,5 до 27 мм, антимикробная активность в пределах 65-80 % Длительный срок хранения (1 год) не оказывал заметного влияния на антибактериальную активность препарата Зоны задержки роста составили от 17 до 20 мм, антимикробная активность 60-70 %

На следующем этапе исследований в качестве контрольных были использованы изоляты, выделенные от собак с инфицированными ранами Установлено, что перкутан обладает высокой антимикробной активностью в отношении всех основных представителей микрофлоры, выделяемой из инфицированных ран у собак

Длительный срок хранения препарата (1 год) не влияет на его антимикробную активность

### 3.4 Изучение динамики микробиоценоза инфицированных ран у собак при лечении перкутаном и традиционными средствами

Для исследований использовали собак с инфицированными ранами, находящихся в приюте Общества защиты животных, которых разделили на семь групп Для лечения собак первых трех групп использовали основные действующие компоненты препарата перкутан в 1-й - раствор фурацилина 1 5000, во 2-й - раствор этакридина лактата 1 1000, в 3-й - раствор димексиды 1 4 В 4-й группе использовали перкутан, в 5-й - мазь Вишневского, в 6-й -левомеколь 7-я группа собак лечению не подвергалась и служила контролем

### 3. Динамика микрофлоры инфицированных ран у собак под действием антимикробных средств, %

Антимикробное средство	Вид микрофлоры			
	Стафилококки	Стрептококки	Кишечная палочка	Синегнойная палочка
Раствор фурацилина 1 5000	<u>64,4±11,3</u> 42,1±9,4	<u>52,6±14,3</u> 30,0±13,8	<u>62,6±13,4</u> 44,8±11,7	<u>56,6±9,8</u> 46,4±8,7
Раствор этакридина лактата 1 1000	<u>41,5±5,4</u> 25,6±5,1	<u>45,3±7,9</u> 15,3±4,1	<u>50,1±5,2</u> 23,3±3,1	<u>52,3±8,5</u> 25,1±7,3
Раствор димексиды 1 4	<u>53,0±8,1</u> 28,9±6,3	<u>48,9±8,8</u> 25,6±4,7	<u>50,7±9,2</u> 30,1±8,4	<u>54,2±10,1</u> 32,5±7,8
Перкутан	<u>26,2±4,5</u> 7,7±1,4	<u>34,0±7,4</u> 8,3±1,2	<u>37,9±5,9</u> 9,3±2,2	<u>28,3±6,7</u> 8,1±2,4
Мазь Вишневского	<u>32,7±7,4</u> 12,6±3,4	<u>49,3±6,2</u> 10,4±4,5	<u>44,6±6,2</u> 15,3±5,4	<u>36,4±12,1</u> 14,3±4,2
Мазь Левомеколь	<u>76,5±10,7</u> 53,1±8,6	<u>68,8±12,1</u> 50,2±10,2	<u>72,8±9,8</u> 54,8±7,7	<u>70,1±11,5</u> 51,9±10,8
Контроль	<u>92,4±9,5</u> 86,1±12,4	<u>94,6±10,2</u> 88,7±9,9	<u>96,3±13,5</u> 90,2±9,6	<u>95,7±7,9</u> 89,6±11,3

Примечание 1) Начальный уровень микробного обсеменения ран принят за 100 %

2) В числителе - % выделения микрофлоры через 5 дней, в знаменателе - через 10 дней

Исходное состояние микробного обсеменения ран было принято за 100 %. На 5-й и 10-й дни лечения у собак брали по 1 г раневого содержимого и исследовали в соответствии с «Методическими указаниями по унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» (1985)

Изучали динамику микробиоценоза и определяли процент уменьшения количества микробных тел в ране под воздействием применяемых антимикробных средств (табл 3)

Установлено, что применение перкутана обеспечивает значительное снижение количества основных представителей раневой микрофлоры на 5-й день лечения. Так, количество выделяемых из содержимого раны на 5-й день стафилококков ниже контроля (без лечения) в 3,5 раза, стрептококков - в 2,8, изолятов кишечной палочки - в 2,5, синегнойной палочки - в 3,4 раза

На 10-й день лечения различия в количестве выделяемой из содержимого раны микрофлоры еще более значительны (табл 3)

Количество выделяемых из раны на 10-й день стафилококков при применении перкутана было ниже контроля (без лечения) в 11,2 раза, стрептококков - в 10,7, изолятов кишечной палочки - в 9,7, синегнойной палочки - в 11,1 раза

Таким образом, нами установлено, что перкутан обладает более выраженным антимикробным действием, чем препараты сравнения – в 1,2-10 раз. Наиболее близким по антимикробной активности является мазь Вишневского, которую мы использовали в дальнейших опытах как препарат сравнения

### **3.5. Токсикологические параметры перкутана**

В экспериментах мы определили токсикологические параметры перкутана (мг/кг массы тела) для мышей при введении в желудок МПД – 60, LD<sub>100</sub> – 360, расчетная LD<sub>50</sub> – 198, для белых крыс МПД – 60, LD<sub>100</sub> – 360, расчетная LD<sub>50</sub> – 216

Следовательно, в соответствии с ГОСТ 12 1 007–76 перкутан относится к препаратам III класса опасности

В опыте на белых мышах нами установлено, что перкутан обладает умеренной хронической токсичностью

Проведенные нами экспериментальные исследования на морских свинках показывают, что препарат перкутан не обладает аллергенным и сенсибилизирующим действием и не оказывает раздражающего влияния на кожный покров

В экспериментах на половозрелых самках крыс линии «Вистар» с нормальным эстральным циклом нами были изучены тератогенное и эмбриотоксическое действие перкутана. О влиянии перкутана на эмбриогенез судили по следующим показателям: число живых плодов, величина общей, предимплантационной и постимплантационной эмбриональной смертности, масса и краниокаудальный размер плода, масса и диаметр плаценты, соотношение плодов по полу, наличие внешних пороков развития

Установлено, что показатели опытной группы не имели достоверных отличий от показателей контрольной, т.е. перкутан не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действием

Установленные токсикологические параметры перкутана позволили классифицировать его как малотоксичный препарат

### 3.6. Разработка способа применения перкутана для лечения инфицированных ран у собак

Собак с инфицированными ранами разделили на три группы по 8 животных в каждой. Контрольную группу лечили мазью Вишневского, животным опытных групп применяли перкутан, в 1-й – 2 раза в день, во 2-й – 1 раз в день до полного заживления ран

Раневую поверхность оценивали планиметрически в день начала лечения, на 5, 10, 15, 20 и 25 дни после начала лечения. Первоначальную площадь ран принимали за 100 %. Изменение ее рассчитывали по формуле  $(S-S_n) 100/S t$ , где S – площадь раны при предыдущем измерении,  $S_n$  – площадь раны при данном измерении, t – число дней между измерениями

Установлено, что процесс регенерации проходил у подопытных животных равномерно и к 20-му дню отмечалось полное заживление ран. Однако на первых стадиях лечения состояние ран было лучше в группе, которой перкутан применяли 2 раза в день. У контрольных собак заживление ран происходило медленнее и завершалось к 24-25-му дню (табл. 4)

#### 4. Динамика заживления ран при использовании различных способов применения перкутана

Группа собак	Дни после начала лечения					
	1	5	10	15	20	25
Контрольная	100,0	90,2±3,3	65,8±2,9	33,6±5,3	14,3±3,4	1,6±0,7
1-я опытная	100,0	76,2±3,7*	38,4±2,5*	11,8±3,8*	0	0
2-я опытная	100,0	80,7±2,4*	42,6±3,2*	14,2±2,6*	0,7±0,1*	0

Примечание \* - отличия с контролем достоверны ( $P < 0,05$ )

Таким образом, оптимальным является способ применения перкутана 1 раз в день, обеспечивающий процесс заживления инфицированных ран у собак в течение 20 дней. Использование перкутана 2 раза в день экономически нецелесообразно.

### 3.7. Влияние перкутана на клинико-гематологический статус и заживление инфицированных ран у собак

Использовали 16 собак с инфицированными ранами, владельцы которых обратились в клинику Института ветеринарной медицины Новосибирского ГАУ. Животные были разных пород в возрасте от 2 до 8 лет. Диагноз устанавливали по обще-

принятой методике, включающей исследование общего клинического состояния животного и состояния раны

Животных разделяли по принципу аналогов на 2 группы – опытную и контрольную по 8 голов. Собакам опытной группы после хирургической обработки раны ежедневно применяли перкутан. Лечение продолжали до выздоровления.

Контрольных животных лечили по традиционной методике после хирургической обработки раны применяли линимент Вишневского, внутримышечно вводили 4 % раствор гентамицина в рекомендуемых дозах с интервалом 12 ч.

В течение 20 дней за животными обеих групп вели ежедневные клинические наблюдения. О влиянии перкутана и контрольного лечения на раневой процесс судили по изменению площади поверхности раны на 5-й, 10-й, 15-й, 20-й и 25-й дни.

До начала лечения, на 10-й и 20-й дни у животных брали для исследования кровь. В крови определяли содержание гемоглобина (колориметрически), количество эритроцитов и лейкоцитов (в счетной камере Горяева), лейкограмму (общепринятым методом), в сыворотке крови – количество общего белка (рефрактометрически) и белковых фракций (нефелометрически).

В качестве нормативных данных использовали показатели, приведенные в справочнике И.П. Кондрахина с соавт. (1985).

Кроме этого была использована методика Я.Я. Кальф-Калифа (1982), характеризующая лейкоцитарный индекс инфильтрации - ЛИИ (цит. по Э.К. Абатуровой, В.Н. Байматову, 2001). ЛИИ определяли по формуле

$$\text{ЛИИ} = (4\text{Ми} + 3\text{Ю} + 2\text{П} + \text{С}) \times (\text{Пл} + 1) / (\text{Л} + \text{Мо}) \times (\text{Э} + 1), \text{ где}$$

Ми – миелоциты, Ю – юные, П – палочкоядерные, С – сегментоядерные нейтрофилы, Пл – плазматические клетки Тюрка, Л – лимфоциты, Мо – моноциты, Э – эозинофилы.

При первичном клиническом исследовании у всех животных отметили общую реакцию на раневую травму в виде угнетения, снижения аппетита, повышение показателей температуры тела, пульса и дыхания до верхних пределов физиологической нормы. Раны были инфицированы и выглядели следующим образом: края ран отечные, болезненные, неровные с нишами и карманами, на мышцах наложения зеленоватого цвета, развитие секвестрационного отторжения фибринозно-тканевой массы, наличие гнойного экссудата.

Площадь поверхности раны при первичном исследовании принимали за 100 %. Изменение площади ран рассчитывали в соответствии с «Методическими рекомендациями по экспериментальному (доклиническому) изучению лекарственных препаратов для местного лечения гнойных ран» (1989).

В опытной группе собак, начиная с 5-6 дня после начала лечения ран, отмечали постепенное исчезновение воспалительного отека, уменьшение площади раневой поверхности, сглаживание поверхности раны с уровнем кожи. К 10-11 дню заканчивался процесс очищения ран от некротизированных тканей и начиналось формирование грануляционного барьера. Заживление ран происходило к 20-21 дню.

В контрольной группе собак сходные результаты при лечении были получены на 3-4 дня позже: исчезновение воспалительного отека и уменьшение площади раневой

поверхности отмечали с 8-9 дня, процесс очищения раны от некротизированных тканей и формирование грануляционного барьера происходило, начиная с 13-15 дня, полное заживление раны происходило к 24-26 дню

Гематологические исследования собак с инфицированными ранами показали, что у них наблюдается достоверное ускорение СОЭ, снижение уровня гемоглобина и общего белка, увеличение количества лейкоцитов, фракций альфа- и гамма-глобулинов. Количество эритроцитов и фракции бета-глобулинов находится в пределах физиологических норм (табл. 5)

Изучение лейкограммы крови собак с инфицированными ранами показало, что она не имеет достоверных отличий от нормативных показателей здоровых животных

На основе изучения лейкограмм нами был определен ЛИИ (лейкоцитарный индекс инфильтрации). Учитывая, что при составлении лейкограмм миелоциты, юные и плазматические клетки в крови собак не были обнаружены, то показатель ЛИИ в нашем случае ниже, чем по литературным данным. В нашем случае он колеблется в пределах от 0,30 до 0,05, что соответствует гладкому течению раневого процесса и согласуется с нашими клиническими наблюдениями

#### 5. Гематологические показатели собак с инфицированными ранами при лечении перкутаном

Показатель	До начала опыта	На 10 день опыта	На 20 день опыта	Нормативные показатели
СОЭ, мм/ч	$\frac{6,4 \pm 0,4}{6,6 \pm 0,2}$	$\frac{5,5 \pm 0,6}{6,0 \pm 0,4}$	$\frac{4,3 \pm 0,4}{5,6 \pm 0,2}$	2-6
Гемоглобин, г/л	$\frac{96,4 \pm 6,0^*}{100,6 \pm 5,2^*}$	$\frac{118,2 \pm 4,4}{112,2 \pm 3,6}$	$\frac{126,0 \pm 8,0}{118,5 \pm 4,6}$	110-180
Эритроциты, $10^{12}/л$	$\frac{6,32 \pm 0,34}{6,25 \pm 0,28}$	$\frac{7,16 \pm 0,44}{6,82 \pm 0,24}$	$\frac{7,42 \pm 0,32}{7,04 \pm 0,26}$	5,8-8,4
Лейкоциты, $10^9/л$	$\frac{15,38 \pm 0,65^*}{14,42 \pm 0,44^*}$	$\frac{10,24 \pm 0,64}{10,76 \pm 0,36}$	$\frac{8,52 \pm 0,52}{9,70 \pm 0,40}$	8,5-10,5
Общий белок, г/л	$\frac{51,4 \pm 2,8^*}{50,7 \pm 2,5^*}$	$\frac{59,5 \pm 2,2}{54,5 \pm 3,0}$	$\frac{66,2 \pm 3,4}{58,8 \pm 2,6}$	58-76
Альбумины, %	$\frac{40,70 \pm 0,58^*}{41,09 \pm 0,41^*}$	$\frac{48,37 \pm 0,37}{46,78 \pm 0,32}$	$\frac{51,15 \pm 0,60}{49,58 \pm 0,43}$	48-55
$\alpha$ -глобулины, %	$\frac{18,32 \pm 0,15^*}{18,03 \pm 0,20^*}$	$\frac{14,25 \pm 0,29}{14,95 \pm 0,38}$	$\frac{13,10 \pm 0,22}{13,37 \pm 0,30}$	10-16
$\beta$ -глобулины, %	$\frac{24,58 \pm 0,23}{24,32 \pm 0,36}$	$\frac{23,12 \pm 0,28}{23,70 \pm 0,46}$	$\frac{23,50 \pm 0,30}{23,99 \pm 0,52}$	20-25
$\gamma$ -глобулины, %	$\frac{16,40 \pm 0,46^*}{16,56 \pm 0,28^*}$	$\frac{14,26 \pm 0,32}{14,57 \pm 0,29}$	$\frac{12,25 \pm 0,39}{13,06 \pm 0,42}$	10-14

Примечание: в числителе – показатели опытной, в знаменателе – контрольной группы,

\* - различие с нормативными показателями достоверно ( $P < 0,05$ ),

Установлено, что у собак, лечение ран у которых осуществляли перкутаном, отмечается более быстрое клиническое выздоровление, которое наступает на 3-4 дня раньше, гематологические показатели у них достоверно не отличаются от нормативных к 10-му дню с начала лечения (табл 5)

### 3.8 Влияние перкутана на иммунологические показатели крови собак с инфицированными ранами

Для исследований использовали 16 собак разных пород в возрасте от 2 до 8 лет с инфицированными ранами. Диагноз устанавливали по общепринятой методике, включающей исследование общего клинического состояния и состояния раны.

Животных разделяли по принципу аналогов на 2 группы – опытную и контрольную по 8 голов. Собакам опытной группы после хирургической обработки раны применяли перкутан 1 раз в день до выздоровления.

Контрольных животных лечили по традиционной методике. После хирургической обработки применяли линимент Вишневского, внутримышечно вводили 4 % раствор гентамицина в рекомендуемых дозах с интервалом 12 ч.

Пробы крови для исследования брали перед началом применения препаратов, на 10-й и 20-й дни опыта. Определяли следующие показатели: бактерицидную активность сыворотки крови (БАСК) – по О В Смирновой и Т И Кузьминой (1966), активность лизоцима в сыворотке крови – по В Г Дорофейчук (1968), показатели фагоцитоза (фагоцитарная активность нейтрофилов, фагоцитарное число, фагоцитарный индекс) определяли по П Н Никонорову (1979). Все методики использовали в модификации П Н Смирнова с соавт. (1989).

### 6 Динамика гуморальных факторов иммунитета у собак с инфицированными ранами в процессе лечения перкутаном

Показатель	БАСК, %	ЛАСК, %
<u>Опытная группа</u>		
В начале опыта	42,45±3,16*	5,24±1,06*
На 10-й день	49,77±2,62	7,34±1,12
На 20-й день	55,65±2,05	8,98±0,61
<u>Контрольная группа</u>		
До начала опыта	40,71±2,47*	5,34±1,03*
На 10-й день	45,44±2,56*	6,48±0,86
На 20-й день	52,36±2,48	7,75±0,88
Здоровые животные	50-60	7-10

\* - различие с показателями здоровых животных достоверно (P < 0,05)

Установлено, что у собак с инфицированными ранами отмечается достоверное ( $P < 0,05$ ) снижение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови (табл 6)

Клеточный иммунитет у собак с инфицированными ранами характеризуется достоверным ( $P < 0,05$ ) снижением фагоцитарной активности нейтрофилов и их поглотительной способности (табл 7)

Установлено, что при лечении перкутаном по рекомендованной нами схеме иммунологические показатели крови собак достоверно не отличались от нормативных данных здоровых животных уже 10-му дню с начала лечения. В контрольной группе восстановление исследованных иммунологических показателей происходило в более поздние сроки

### 7. Динамика клеточных факторов иммунитета у собак с инфицированными ранами в процессе лечения перкутаном

Показатель	Фагоцитарная активность, %	Фагоцитарное число	Фагоцитарный индекс
<u>Опытная группа</u>			
В начале опыта	22,24±2,95*	2,83±0,32*	1,27±0,41*
На 10-й день	30,91±3,25	3,85±0,54	1,65±0,46*
На 20-й день	35,18±4,14	4,84±0,61	2,38±0,38
<u>Контрольная группа</u>			
В начале опыта	25,12±4,32*	3,05±0,45*	1,21±0,65*
На 10-й день	29,34±4,45	3,65±0,30	1,37±0,39*
На 20-й день	32,88±3,97	4,08±0,82	1,95±0,64
Здоровые животные	30-40	4-6	2-3

\* - различие с показателями здоровых животных достоверно ( $P < 0,05$ )

### 3.9. Клиническое испытание эффективности перкутана при инфицированных ранах у собак

Клинические испытания лечебной эффективности препарата перкутан при инфицированных ранах у собак проведены нами в нескольких клиниках г. Новосибирска. Препарат испытан на поголовье 200 собак при 160 в контроле.

Животных опытных групп лечили перкутаном, который наносили на рану 1 раз в день до выздоровления.

Животных контрольных групп лечили традиционными средствами.

В течение 30 дней учитывали количество выздоровевших животных и сроки выздоровления.

Результаты исследований представлены в табл. 8.

Производственные испытания лечебной эффективности перкутана при инфицированных ранах у собак показали, что заживление ран при его применении наступает в более короткие сроки (обычно на 3-4 дня раньше, чем при лечении тра-

традиционными средствами) Аэрозольный способ применения перкутана значительно проще, чем часто используемое нанесение мазей и линиментов

#### 8. Эффективность перкутана при лечении инфицированных ран

Группы животных	Количество в группе	Сроки заживления ран, дней
Опытная	200	18,5±1,5
Контрольная	160	22,0±2,0

Экономия трудовых и материальных затрат при лечении перкутаном инфицированных ран у собак (в сравнении с линиментом Вишневого) составила 56,42 руб в расчете на 1 животное, экономический эффект составил 3,6 руб на 1 руб затрат

На разработанный нами способ лечения инфицированных ран у домашних животных с применением препарата перкутан подана заявка на изобретение № 2006104742/13(005136) от 15 февраля 2006 г Получено уведомление о положительном результате формальной экспертизы проводится экспертиза по существу изобретения

Материалы по изучению применения перкутана при инфицированных ранах у собак направлены в Россельхознадзор России для включения в новую редакцию инструкции по применению препарата

Мы полагаем, что перкутан найдет широкое применение в хирургической практике мелких домашних животных, о чем свидетельствует большой интерес врачей ветеринарных клиник, где препарат проходил испытания

#### 4. ВЫВОДЫ

1 Хирургические болезни составляют от 29,3 до 39,4 % в структуре болезней собак в г Новосибирске, в том числе от 25,8 до 35,2 % занимают случайные раны

2 Предложен способ лечения инфицированных ран у собак с применением комплексного препарата перкутан, который обеспечивает заживление ран на 3-4 дня раньше в сравнении с традиционным лечением

3 На фоне применения перкутана в крови собак с инфицированными ранами нормализуется количество эритроцитов, лейкоцитов, уровень гемоглобина, концентрацию общего белка и его фракций к 10-му дню, при лечении традиционными средствами – к 20-му дню

3 Препарат умеренно токсичен (ЛД<sub>50</sub> для мышей – 198, для крыс – 216 мг/кг), не оказывает аллергенного и сенсибилизирующего действия, не раздражает кожный покров, не обладает эмбриотоксическими и тератогенными свойствами

4 Перкутан обладает высокой антимикробной активностью in vitro в отношении референтных штаммов (*St albus*, *St aureus* ATCC 25923 (F-49), *Strept ruo-*

genes 1972 гр А, Е coli ATCC 25922 (F-50), Е coli 078) и полевых изолятов микрофлоры инфицированных ран у собак Зоны задержки роста составляют 17,5-21 мм, антимикробная активность 65-80 % Хранение в течение 1 года не оказывает влияния на антимикробную активность препарата

5 Применение перкутана значительно уменьшает количество микрофлоры в ране в период применения на 5-й день – в 2,5-3,5 раза, на 10-й день – в 9,7-11,2 раза Антимикробный эффект препарата в 1,2-10 раз выше, чем традиционных средств лечения и отдельных его компонентов

6 На фоне применения перкутана нормализуются иммунологические показатели крови собак с инфицированными ранами – фагоцитарная активность нейтрофилов, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови к 10-му дню, при лечении традиционными средствами – к 20-му дню

7 Экономия трудовых и материальных затрат при лечении перкутаном в сравнении с традиционными средствами составила 56,42 руб в расчете на 1 животное, экономический эффект составил 3,6 руб на 1 руб затрат

## **5. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

При лечении инфицированных ран у собак рекомендуем применять комплексный химиотерапевтический препарат перкутан, который обеспечивает очищение ран от микрофлоры и сокращает сроки их заживления Способ применения перкутана – нанесение на область раны из аэрозольного баллончика с расстояния 10-15 см 1 раз в день до полного заживления

По результатам проведенной работы научно-методическим советом Института ветеринарной медицины Новосибирского ГАУ утверждены методические рекомендации «Способ лечения инфицированных ран у собак» (протокол № 13 от 12 03 2007г )

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1 Применение препарата перкутан при лечении хирургических патологий у мелких домашних животных / Соавт Ю Г Попов, Е А Ефремова, А С Опанасюк, Т М Головатюк // Новые фармакологические средства для животноводства и ветеринарии Мат юбилей конф , посвящ 55-летию Краснодар НИВС – Краснодар, 2001 – Т 2 – С 108-110

2 Терапия хирургических и кожных патологий у мелких домашних животных / Соавт Ю Г Попов, Е А Ефремова // Актуальные вопросы ветеринарной медицины мелких домашних животных Мат межрегион науч -практ конф – Новосибирск, 2002 – С 29-31

3 Препарат перкутан в лечении инфицированных ран у собак / Соавт Ю Г Попов // Актуальные проблемы ветеринарной медицины Мат 6-й Сибирской вет конф , посвящ 70-летию НГАУ – Новосибирск, 2006 – С 35-37

4 Изучение микробиоценоза инфицированных ран у собак и его изменения в процессе лечения / Соавт Ю Г Попов // Практик – 2006 - № 3 – С 90-92

5 Микробиоценоз инфицированных ран у собак при лечении перкутаном и традиционными средствами / Соавт Ю Г Попов // Актуальные проблемы ветеринарии в современных условиях Мат междунар науч -практ конф , посвящ 60-летию Краснодарского НИВИ – Краснодар, 2006 – С 274-276

6 Микробиоценоз инфицированных ран и иммунный статус собак при лечении перкутаном / Соавт Ю Г Попов // Сиб вестник с -х науки – 2006 - № 4 – С 74-79

Подписано к печати 15 03 07

Заказ № 0242

Типография ООО «СибДизайн» Тираж 100 экз  
г Новосибирск, ул Народная 3 Тел 212-81-07