ВЕТЕРИНАРИЯ И ЗООТЕХНИЯ

УДК 619:616.5-089

И.В. Ревякин, Л.В. Медведева

БАКТЕРИАЛЬНОЕ ОБСЕМЕНЕНИЕ КОЖНЫХ РАН У ОВЕЦ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДАХ ЛЕЧЕНИЯ В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ

I.V. Revyakin, L.V. Medvedeva

BACTERIAL SEEDING OF SKIN WOUNDS IN SHEEP AT DIFFERENT TREATMENT METHODS IN COMPARATIVE ASPECT

И.В. Ревякин – асп. каф. хирургии и акушерства Алтайского государственного аграрного университета, г. Барнаул. E-mail: Revyakin-igor1991 @yandex.ru

Л.В. Медведева – д-р вет. наук, доц., декан факультета ветеринарной медицины Алтайского государственного аграрного университета, г. Барнаул. E-mail: mlv@nm.ru

I.V. Revyakin – Post-Graduate Student,Chair of Surgery and Obstetrics, Altai State Agrarian University, Barnaul. E-mail: Revyakin-igor1991@yandex.ru.

L.V. Medvedeva – Dr. Vet. Sci., Assoc. Prof., Dean, Department of Veterinary Medicine, Altai State Agrarian University, Barnaul. E-mail: mlv@nm.ru.

Течение регенеративных процессов в кожной ране зависит от степени микробного обсеменения раневой поверхности. На основании проведенных нами исследований по лечению кожных ран у овец предлагаемыми способами: клеевой композицией «Сульфакрилат», антисептическим раствором для лечения ран у сельскохозяйственных животных (РА), гидрофильной мазью на основе термированных опилок (ГМТ) и спреем «Террамицин», – мы выявили, что непосредственно после травмирования кожного покрова раны были контаминированы воздушной и кожной микрофлорой, а также представителями микрофлоры желудочно-кишечного тракта в незначительном количестве – 10^1–10^4 КОЕ. После применения клеевой композиции «Сульфакрилат», наличие условно-патогенной микрофлоры на 7, 14, и 21-й дни было выявлено, в основном, в виде монокультуры. При использовании ГМТ на 14-й и 21-й дни количество микробных тел наблюдалось в концентрации 10^1–10^2 КОЕ. При применении спрея «Террамицин» и РА микрофлора присутствовала преимущественно в ассоциации и с большим количеством колониеобразующих единиц на 3-й и 14-й дни. Использование биоклея и ГМТ сокращает кратность обработок ран у овец за счет образования плотной пленки, поэтому применение клеевой композиции «Сульфакрилат» и ГМТ, с этой точки зрения, более целесообразно.

Ключевые слова*: раневой процесс, кожные раны, бактериальная обсемененность, регенерация, условно-патогенная микрофлора, стрижка овец, овцы.*

Regenerative processes in skin wound depends on the degree of microbial for semination wound surface. Based on our research into the treatment of skin wounds in sheep by proposed ways: an adhesive composition "Sulfacrylate", antiseptic solution for the treatment of wounds in farm animals (RA), hydrophilic ointment based thermally modified sawdust (GMT) and spray "Terramycin" we found out that after injury to the skin, wounds were contaminated by air and skin microflora, as well as representatives of the microflora of the gastrointestinal tract in small quantities - 10^1 -10^4 CFU. After applying adhesive compositions "Sulfacrylate", the presence of conditionally pathogenic microflora on 7. 14 and 21 days it was found mainly in the form of monoculture. When using the GMT on 14 and 21 days the number of microbial bodies observed in concentrations of 10^1–10^4CFU. After applying spray "Terramycin" and RA microflora were present, mainly in associations with a large number of colony forming units on the 3rd and 14th days. The use of bio adhesive and GMT reduces the multiplicity of

treatments of wounds in sheep, due to the formation of a dense film, which prevents recontamination, therefore the use of the adhesive composition "Sulfacrylate" and GMT, with this point of view, is more appropriate.

***Keywords**: wound process, skin wound, bacterial contamination, regeneration, conditionally pathogenic microflora, sheep shearing, sheep.*

Введение. В Российской Федерации последние несколько лет наблюдаются положительные тенденции в развитии отечественного овцеводства, особенно в регионах, где оно традиционно развито [1]. Интенсификация и увеличение производства шерсти неизбежно ведет к повышению уровня травматизации кожного покрова животных во время проведения ежегодных стрижек овец. Несмотря на то, что во многих хозяйствах с целью увеличения производительности труда применяют новые методы стрижки с использованием современных электрических машинок, травмы кожного покрова неизбежны. Такие раны ведут к снижению продуктивности животных и даже к их хозяйственной выбраковке [2].

В частных и небольших фермерских хозяйствах в настоящее время продолжают использовать механические ножницы. Стрижка ножницами менее затратный метод, но требующий большего мастерства от стригаля. Раны от повреждения кожного покрова ножницами обширней и заживают более длительно, нежели раны, нанесенные электрическими машинками для стрижки [3].

Лечение кожных ран, полученных во время стрижки животных, проводится по открытому типу. В овцеводческих хозяйствах Алтайского края для обработки таких ран применяют самые различные методы: антисептические спреи – террамицин, чеми, кубатол; подручные средства – отработанное машинное масло; токсичные препараты – креолин бесфенольный. Несовершенство таких методов лечения приводит к увеличению сроков репаративной регенерации и говорит об актуальности данной проблемы.

Цель исследования: сокращение сроков реабилитации раненых животных путем оптимизации процессов репаративной регенерации, которая, в частности, зависит от микробного загрязнения раневой поверхности.

Для достижения поставленной цели мы решили следующие **задачи**: определили степень микробной обсемененности раневой поверхности при лечении кожных ран у овец новыми методами: клеевой композицией «Сульфакрилат», антисептическим раствором для лечения ран у сельскохозяйственных животных (РА), гидрофильной мазью на основе термированных опилок (ГМТ), – в сравнении с одним из традиционных методов лечения, применяемых на территории Алтайского края, – спрея «Террамицин», в день операции, на 1, 3, 7, 14 и 21-й дни послеоперационного периода.

Объекты и методы исследования. Работу выполняли на кафедре хирургии и акушерства факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Алтайский ГАУ» и в лаборатории кафедры микробиологии ФГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет». Исследование проводилось на 44 клинически здоровых овцах, в возрасте от 1 года до 3 лет. Кожную рану овальной формы моделировали на внешней поверхности бедра по трафарету размером 6×3 см, без соблюдения правил асептики, так как стремились создать условия максимально приближенные к производственным (рис. 1). Все экспериментальные животные были разделены на 4 группы по типу аналогов: в 1-й опытной группе на раневую поверхность тонким слоем наносили клеевую композицию «Сульфакрилат», однократно сразу после моделирования раны; во 2-й опытной группе рану обрабатывали антисептическим раствором для лечения ран у сельскохозяйственных животных (РА) сразу после моделирования раны и ежедневно в течение 21 дня, с интервалом между обработками 24 ч; в 3-й опытной группе рану покрывали гидрофильной мазью на основе термированных опилок (ГМТ), однократно сразу после моделирования раны; в контрольной группе на раневую поверхность распыляли спрей «Террамицин» сразу после моделирования раны и ежедневно в течение 21 дня, с интервалом между обработками 24 ч.

Забор проб осуществляли с раневой поверхности с помощью стерильных тампонов с транспортной средой Amies в день операции и на 1, 3, 7, 14 и 21-й дни послеоперационного периода во время биопсии тканей раны и паравульнарных тканей. Посев исследуемого материала

производили на плотные питательные среды (МПА с глюкозой, кровяной агар, среду Левина, сывороточный агар, ГРМ-10) и мясо-пептонный бульон. Чашки Петри и пробирки культивировали при 37 ºС в течение 18–24 ч.

Рис. 1. Кожная рана на внешней поверхности бедра овцы

Забор проб осуществляли с раневой поверхности с помощью стерильных тампонов с транспортной средой Amies в день операции и на 1, 3, 7, 14 и 21-й дни послеоперационного периода во время биопсии тканей раны и паравульнарных тканей. Посев исследуемого материала производили на плотные питательные среды (МПА с глюкозой, кровяной агар, среду Левина, сывороточный агар, ГРМ-10) и мясо-пептонный бульон. Чашки Петри и пробирки культивировали при 37 ºС в течение 18–24 ч.

Для определения количества микробных тел в одном грамме исследуемого материала пользовались следующими расчетами:

1. Рост наблюдается только в жидкой питательной среде и отсутствует на чашке с плотной питательной средой – 10 микробных клеток/г.
2. На чашке с плотной средой наблюдается рост 1–10 колоний – 100 микробных клеток/г.
3. На чашке с плотной питательной средой наблюдается рост 11–30 колоний – 10^3 микробных клеток/г.
4. На чашке отмечен рост более 30 колоний – 10^4 микробных клеток/г [4].

При выделении стафилококковой микрофлоры определяли ее гемолитическую, лецитиназную, коагулазную активность. Гемолитическую активность стафилококка определяли по способности лизировать эритроциты при росте на кровяном агаре. Лецитиназную активность стафилококков определяли по их способности образовывать перламутровый венчик вокруг колонии при росте на желточно-солевом агаре. Коагулазную активность стафилококков определяли по способности их образовывать сгусток при посеве на кроличью плазму. Стафилококки относили к виду *Staphylococcus aureus* при наличии у него коагулазной активности. При отсутствии таковой, но при наличии гемолитической и лецитиназной активности стафилококк относили к виду *Staphylococcus epidermidis*. При отсутствии у стафилококка перечисленных культуральных признаков его относили к виду *Staphylococcuss aprophyticus* [5].

Энтерококки идентифицировали по культуральным, морфологическим и тинкториальным свойствам. Грамотрицательные микроорганизмы идентифицировали с учетом биохимических свойств на средах Хью-Лейфсона, Клиглера, цитрата Симмонса, сред пестрого ряда.

Сапрофитную воздушную флору определяли по культуральным и морфологическим свойствам [6].

Вероятность возникновения гнойно-воспалительных осложнений прогнозировали по методу А.В. Воленко (1998).

Проводя опыты на 1185 белых крысах линии Вистар и на 28 беспородных собаках, А.В. Воленко вывел некий критический уровень, который составляет 10^5–10^6 колониеобразующих

единиц (КОЕ) или микробных клеток. Автор считает, что для развития воспалительного процесса в ране необходимо, чтобы количество микроорганизмов в 1 г ткани превысило данный критический уровень. На примере проведенных им исследований он показывает, что золотистый стафилококк вызывает гнойно-некротический процесс при введении в рану 10^7 колониеобразующих единиц (КОЕ), синегнойная палочка – также 10^7 КОЕ и кишечная палочка – 10^8 КОЕ. При одновременном введении в рану «критическая доза» указанных микроорганизмов снижается соответственно до 10^5 и 10^6 КОЕ, т. е. становится на два порядка ниже. Соответственно в ассоциации эти микроорганизмы проявляют большую патогенность. Использование методики А.В. Воленко облегчает изучение этиологии и генеза раневых осложнений [7].

Результаты исследования. На основании исследований бактериальной обсемененности раневой поверхности при лечении кожных ран у овец приведенными способами мы получили следующие результаты.

В день операции, выполненной без соблюдения правил асептики (аналогично производственным условиям), поверхность ран у всех экспериментальных животных была контаминирована представителями условно-патогенной микрофлоры, попавшей туда с поверхности кожи животных и из воздуха. У овец 1-й опытной группы после нанесения раны до ее обработки указанными средствами на раневой поверхности были выявлены: E. coli – 10^1 КОЕ, S. epidermidis – 10^4 КОЕ и дифтероиды – 10^4 КОЕ (колониеобразующих единиц, т. е. микробных клеток на 1 г исследуемого материала). Во 2-й опытной группе были обнаружены: Enterococcus –

10^2 КОЕ, E. coli – 10^2 КОЕ, S. epidermidis – 10^2 КОЕ. В 3-й опытной группе раневая поверхность была обсеменена: споровой палочкой – 10^1. В контрольной группе были выявлены Enterococcus – 10^2 КОЕ.

В 1-й день после нанесения раны до повторной обработки раны исследуемыми средствами у овец 2-й опытной и контрольной группы: в 1-й опытной группе были обнаружены E. coli – 10^3 КОЕ, S. epidermidis – 10^3 КОЕ. Во 2-й опытной группе перед нанесением РА выделили Enterococcus – 10^3 КОЕ, E. coli – 10^2 КОЕ. В 3-й опытной группе было наличие S. epidermidis – 10^4 КОЕ, Diplococcus – 10^2 КОЕ. В контрольной группе до повторной обработки раны спреем «Террамицин» определяли наличие Micrococcus agilis – 10^4 КОЕ.

На 3-й день выявили: в 1-й опытной группе E. coli – 10^2 КОЕ, S. epidermidis – 10^3 КОЕ; во 2-й опытной группе E. coli – 10^2 КОЕ; в 3-й опытной группе S. epidermidis – 10^2 КОЕ и дифтероидов – 10^2 КОЕ. В контрольной опытной группе, где использовали спрей «Террамицин», обнаружили наличие: Enterococcus – 10^4 КОЕ, E. coli – 10^3 КОЕ.

На 7-й день после нанесения раны в 1-й опытной группе выявляли E. coli – 10^3 КОЕ. Во 2-й опытной группе, где рану ежедневно обрабатывали антисептическим раствором для лечения ран, определяли наличие E. coli – 10^2 КОЕ. В 3-й опытной группе выделяли споровую палочку – 10^2 КОЕ, дифтероиды – 10^2 КОЕ. В контрольной группе было наличие Enterococcus – 10^2 КОЕ, E. coli – 10^2 КОЕ.

На 14-й день периода наблюдения в 1-й опытной группе, где проводилась однократная обработка биоклеем «Сульфакрилат» сразу после нанесения раны, выявляли споровую палочку – 10^2 КОЕ. Во 2-й опытной группе, где у животных ежедневно обрабатывали раны РА, обнаруживали E. coli – 10^1 КОЕ, S. epidermidis – 10^3 КОЕ. В 3-й опытной группе было наличие споровой палочки –10^1 КОЕ, S. epidermidis – 10^2 КОЕ. В контрольной группе определяли наличие S. epidermidis – 10^2 КОЕ.

На 21-й день после нанесения раны в 1-й опытной группе овец выявляли споровую палочку – 10^2 КОЕ; во 2-й опытной группе – S. epidermidis – 10^4 КОЕ; в 3-й опытной группе – споровую палочку – 10^1 КОЕ, S. epidermidis – 10^1 КОЕ. В контрольной группе определяли наличие Enterococcus – 10^2 КОЕ.

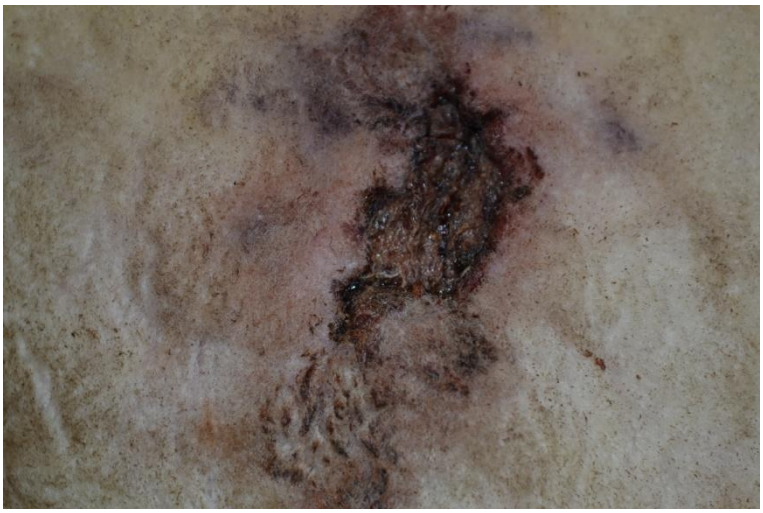

Рис. 2. Защитная пленка на поверхности раны на 7-й день после применения клеевой композиции «Сульфакрилат»

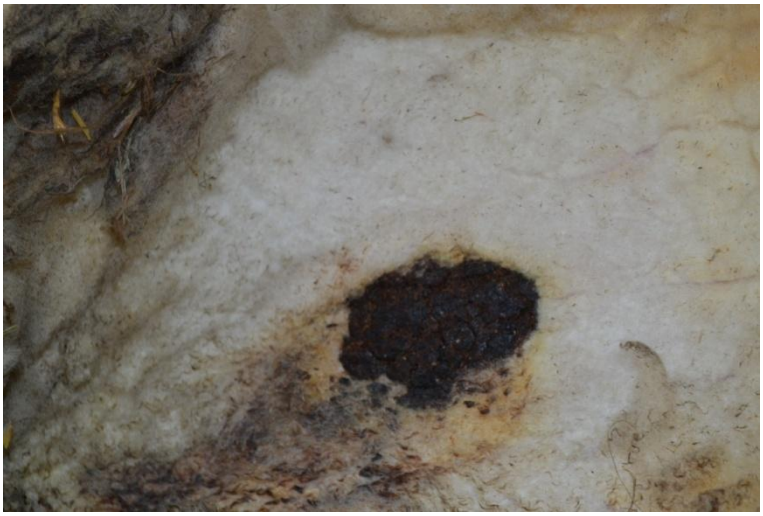

Рис. 3. Защитная пленка на поверхности раны на 7-й день после применения ГМТ

Заключение. Микробная обсемененность раневой поверхности является одним из основополагающих факторов в возникновении и развитии гнойно-воспалительных процессов [8, 9]. По результатам проведенного бактериологического исследования нами установлено, что в зоне кожных ран у овец, лечение которых проводилось тремя новыми (клеевая композиция «Сульфакрилат», РА, ГМТ) и одним традиционным способом (спрей «Террамицин»), непосредственно после травмирования кожного покрова раны были контаминированны воздушной и кожной микрофлорой, а также представителями микрофлоры желудочно-кишечного тракта в незначительном количестве – 10^1 –10^4 КОЕ.

В процессе лечения ран указанными средствами микробная обсемененность прогрессивно снижалась во всех группах экспериментальных животных.

Однако в случаях применения клеевой композиции «Сульфакрилат» наличие условно-патогенной микрофлоры на 7, 14 и 21-й дни было выявлено в основном в виде монокультуры. При использовании ГМТ на 14-й и 21-й дни количество микробных тел наблюдалось в концентрации 10^1–10^2 КОЕ.

При применении спрея «Террамицин» и РА микрофлора присутствовала преимущественно в ассоциации и с большим количеством колониеобразующих единиц на 3-й и 14-й дни.

Мы считаем, что это связано с тем, что наличие плотной защитной пленки, которая образуется на поверхности раны после нанесения клеевой композиции «Сульфакрилат» (рис. 2) и гидрофильной мази на основе термированных опилок (рис. 3), несмотря на то, что у животных трех опытных и контрольной групп микрофлора присутствовала в этиологически незначимой (по А.В. Воленко (1998) – не вызывающей осложнений) концентрации, защищает поверхность раны от воздействия внешней среды и повторной микробной контаминации. Кроме того, использование биоклея и ГМТ сокращает кратность обработок ран у овец, поэтому применение клеевой композиции «Сульфакрилат» и ГМТ, с этой точки зрения, более целесообразно.

Литература

1. *Абонеев В.В., Квитко Ю.Д., Санников М.Ю.* Современное состояние и задачи научного обеспечения овцеводства в Российской Федерации // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2013. – № 2. – С. 1–8.
2. *Дорош М.В.* Болезни овец и коз / Вече, 2009. – 245 с.
3. *Васильев Н.А., Целютин В.К*. Овцеводство и технология производства шерсти и баранины. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 318.
4. *Меньшиков В.В*. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1983. – С. 24–29.
5. *Госманов Р.Г., Колычев Н.М., Барсков А.А.* Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии: учеб. пособие. – 2-е изд., перераб. и доп. – Омск: ЛЕО, 2008. – 312 с.
6. *Тимаков В.Д., Левашев В.С., Борисов Л.Б*. Микробиология: учебник. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1983. – 512 с.
7. *Воленко А.В.* Профилактика послеоперационных осложнений ран // Хирургия. – 1998. – № 9. – С. 65–68.
8. *Лебедев А.В., Лукьяновский В.А., Семенов Б.С.* и др. Практикум по общей и частной ветеринарной хирургии / под ред. *Б.С. Семенова* [и др.]. – М.: Колос, 2000. – С. 102–106.
9. *Шмитт В., Кинне С.* Хирургическая инфекция. – Лейпциг, 1981. – С. 16–18.

Literatura

1. *Aboneev V.V., Kvitko Ju.D., Sannikov M.Ju.* Sovremennoe sostojanie i zadachi nauchnogo obespechenija ovcevodstva v Rossijskoj Federacii // Ovcy, kozy, sherstjanoe delo. – 2013. – № 2. – S. 1–8.
2. *Dorosh M.V.* Bolezni ovec i koz / Veche, 2009. – 245 s.
3. *Vasil'ev N.A., Celjutin V.K.* Ovcevodstvo i tehnologija proizvodstva shersti i baraniny. – M.: Agropromizdat, 1990. – S. 318.
4. *Men'shikov V.V.* Laboratornye metody issledovanija v klinike. – M.: Medicina, 1983. – S. 24–29.
5. *Gosmanov R.G., Kolychev N.M., Barskov A.A.* Praktikum po veterinarnoj mikrobiologii i immunologii: ucheb. posobie. – 2-e izd., pererab. i dop. – Omsk: LEO, 2008. – 312 s.
6. *Timakov V.D., Levashev V.S., Borisov L.B.* Mikrobiologija: uchebnik. – 2-e izd. pererab. i dop. – M.: Medicina, 1983. – 512 s.
7. *Volenko A.V*. Profilaktika posleoperacionnyh oslozhnenij ran // Hirurgija. – 1998. – № 9. – S. 65–68.
8. *Lebedev A.V., Luk'janovskij V.A., Semenov B.S*. i dr. Praktikum po obshhej i chastnoj veterinarnoj hirurgii / pod red. *B.S. Semenova* [i dr.]. – M.: Kolos, 2000. – S. 102–106.
9. *Shmitt V., Kinne S*. Hirurgicheskaja infekcija. – Lejpcig, 1981. – S. 16–18.