



УКРАЇНА

(19) UA (11) 26739 (13) U
(51) МПК (2006)
B61D 1/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОЦІНКИ РЕЗУЛЬТАТІВ ЦИТОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ РАН У СОБАК

1

2

(21) u200703706

(22) 03.04.2007

(24) 10.10.2007

(72) РУБЛЕНКО МИХАЙЛО ВАСИЛЬОВИЧ, UA,
ЯРЕМЧУК АНДРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, UA(73) РУБЛЕНКО МИХАЙЛО ВАСИЛЬОВИЧ, UA,
ЯРЕМЧУК АНДРІЙ ВАСИЛЬОВИЧ, UA

(56)

(57) Спосіб оцінки результатів цитологічних досліджень ран у собак, що включає мікроскопію ранових мазків відбитків, який відрізняється тим, що облік результатів проводиться за показниками ранових цитологічних коефіцієнтів.

Корисна модель належить до галузі сільського господарства, зокрема до ветеринарної медицини та може бути використана для діагностики перебігу ранового процесу у собак.

В сучасній ветеринарній хірургії істотною проблемою як при обґрунтуванні нових засобів місцевої терапії ран, так і в повсякденній клінічній практиці, є недостатнє використання об'єктивних методів контролю за перебігом ранового процесу. Зазвичай із всього їх загалу застосовують визначення швидкості загоєння ран, бактеріологічне, цитологічне та гістологічне дослідження, і лише останнім часом - ехографічне [Гльницький М.Г. Використання методу ультразвукової діагностики для контролю за перебігом ранового процесу у свиней //Вет. медицина України. - 2000. -№11. -С.36-37; Слободенюк Н.М. Фармакологічні властивості та лікувальна ефективність мазі "Офлодерм" при гнійно-некротичних ураженнях шкіри: Дис. канд. вет. наук: 16.00.04. -Львів, 2003. -172с; Кулешов Р.С. Морфофункціональна оцінка заживлення ран при применении гистолізатов из пантов северного и пятнистого оленей: Автореф. дисс. к-та вет. наук: 16.00.02 /Дальневосточный гос. аграр. ун-т. - Благовещенск, 2004. -23с.]. Однак вони здебільшого мають ряд недоліків: відсутність видових стандартів, технічних умов для виконання та доказових корелятивних взаємовідносин, описовий характер оцінки результатів.

Одним із об'єктивних методів оцінки динаміки загоєння ран вважається оригінальний спосіб вивчення цитологічних елементів ранового ексудату шляхом мікроскопічного дослідження мазків-відбитків, запропонований у 1942р. М.П. Покровською та М.С. Макаровим [Покровская М.П., Макаров М.С. Цитология раневого эксудата

как показатель процесса заживления ран. -М.: Медгиз, 1942. -42с.]. Систематичне дослідження мазків-відбитків із ран відображає хід розвитку морфологічних змін ранового ексудату та поверхневого шару грануляційної тканини, дає можливість не тільки оцінювати характер цих змін, але й стан місцевих факторів захисту та до певної міри чітко визначати фазу перебігу ранового процесу й показання до застосування лікувальних заходів.

Цінність цитологічного мазка-відбитка ще й у тому, що на скло потрапляють молоді клітини грануляційної тканини, не зв'язані між собою і основною речовиною сполучної тканини. Це дозволяє вивчити клітинний склад поверхневих шарів рани, за рахунок яких нарощується тканина та заміщується дефект. На препарат-відбиток потрапляють клітинні елементи з верхніх шарів рани (лейкоцитарного та судинного), які переважно складаються з недиференційованих елементів сполучної тканини в різноманітних перехідних формах свого розвитку, що адекватно відображають динаміку репаративної регенерації. Метод доступний, але на його результативність значний вплив справляють дотримання єдиного стандарту при взятті матеріалу для дослідження, методика підготовки та фарбування препарату і класифікація клітинного складу ранового ексудату [Тамм Т.И. Методы диагностики и контроля течения раневого процесса //Теория и практика лечения гнойных ран; Под ред. Б.М. Даценко. -К.: Здоров'я, 1995. -С.60-90]. Істотним недоліком є відсутність об'єктивних кількісних показників, які свідчать про частоту наявності різних клітинних елементів та представників мікрофлори в рані. У зв'язку з цим Д.М. Штейнбергом (1948) [цит. за Фенчин К.М. Заживление ран. -К.: Здоров'я, 1979. -

(13) U

(11) 26739

(19) UA

166с.] запропоновано модифікацію методу "ранових відбитків", за яким проводиться кількісна оцінка клітин, що зустрічаються в рані, у вигляді цитограм. При цьому оцінка цитограм здійснюється з умовним визначенням кількості клітинних елементів у полі зору від (-) до (++++). Застосування цитограм мазків-відбитків дозволяє значно підвищити об'єктивність та інформативність методу. Водночас це не дозволяє дати статистичну оцінку вірогідності отриманих результатів.

Беручи до уваги вищесказане, є необхідність у вивченні цитологічної картини в динаміці перебігу ранового процесу у собак при застосуванні мазей на різних основах з елементами статистичної верифікації.

В основу нашої корисної моделі поставлено завдання розробити спосіб оцінки результатів цитологічних досліджень ранових мазків відбитків у собак, шляхом виведення ранових цитологічних коефіцієнтів, що дасть можливість статистично оцінити вірогідність отриманих результатів.

Мазки-відбитки одержують до початку лікування та на 5, 10, 15-ту добу. Препарати готують за методом М.П. Покровської та М.С. Макарова у модифікації Д.М. Штейнберга. Попередньо антисептичним розчином обробляють шкіру навколо рани та злегка розводять її краї. З ранової поверхні стерильним тампоном обережно видаляють гнійно-некротичні нашарування. Потім стерильне предметне скло послідовно прикладають до різних зон ранової поверхні з дублюванням відбитків з одного й того ж місця. Препарати фіксують в суміші спирт-формаліну 9:1 протягом 30с. Фарбування проводять за методом Романовського-Гімза, дослідження - методом світлової мікроскопії з фотографуванням. При аналізі цитограм здійснюють напівкількісну оцінку наявності дегенеративно змінених клітин, мікрофлори, лейкоцитів та фагоцитувальних нейтрофілів, елементів сполучної тканини. Її виконують в п'яти полях зору з різних ділянок відбитка та дають оцінку в хрестах.

Оцінка кількості дегенеративно змінених клітин в мазку-відбитку наступна: (-) - не виявлені; (+) - поодинокі клітинні тіні, по 5-10 у полі зору; (++) - окремі невеликі їх скопичення в усіх полях зору; (++++) - значні скопичення по всьому препарату значних мас зруйнованих клітин, які зливаються.

Загальна кількість лейкоцитів визначається за наступними критеріями: (-) - відсутні; (+) - поодинокі по 5-10 у полі зору; (++) - окремі невеликі скопичення в різних місцях препарату; (+++) - значні скопичення по всьому препарату; (++++) - по всьому препарату скопичення значних мас лейкоцитів, які зливаються.

Кількість фагоцитувальних нейтрофілів оцінюється так: (-) - відсутні; (+) - поодинокі в різних місцях препарату; (++) - у більшості полів зору 1-2; (+++) - в усіх полях 1-2 і більше; (++++) - по всьому препарату багато фагоцитувальних клітин.

При напівкількісному визначенні мікрофлори користуються наступними умовними ознаками: (-) - відсутня; (+) - поодинокі мікроби в різних місцях препарату; (++) - нечисленні розосереджені мікроби в більшості полів зору; (+++) - невеликі

скопичення мікробів, по кілька в кожному полі зору; (++++) - значна кількість мікробних клітин (великі скопичення або рівномірно вкривають весь препарат). Для наступної статистичної обробки цитограм вираховують рановий цитологічний коефіцієнт (РЦК):

$$РЦК = \frac{4a + 3б + 2в + 1г}{n},$$

де 4, 3, 2, 1 - бал кількісної оцінки в хрестах; а, б, в, г - кількість зареєстрованих полів зору з відповідним балом; n - загальна кількість досліджуваних полів зору.

Отримані коефіцієнти виражають кількісне значення даної нами якісної оцінки досліджуваних показників.

У мазках-відбитках, одержаних до початку лікування, виявляються переважно дегенеративно змінені клітини, які нагадують клітинні тіні. У них відсутня ядерна речовина, а цитоплазма клітин має вигляд округло-овальної, сіро-фіолетової тіні. У препаратах спостерігається скопичення некротичних мас та аморфної проміжної речовини. Дегенеративно змінені клітини виявляли у всіх полях зору і вони рівномірно покривали препарат, що відповідало РЦК $3,8 \pm 0,2$ (Фіг.1). Кокова флора в значній кількості, великими скупченнями вкриває весь препарат, РЦК складає $3,6 \pm 2,4$. Така картина відповідає некротичному типу цитограм та відображає початок гнійно-некротичної стадії ранового процесу (табл.1).

Ранові цитологічні коефіцієнти в мазках

Рановий цитологічний коефіцієнт	Термін лік	
	до початку лікування, n=5	5-а доба
Дегенеративно-змінені клітини	$3,8 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2^{**}$
Мікробна флора	$3,6 \pm 2,4$	$1,7 \pm 0,18^{**}$
Лейкоцити	0	$2,2 \pm 0,2^{*}$
Фагоцитувальні нейтрофіли	0	$3 \pm 0,32^{**}$

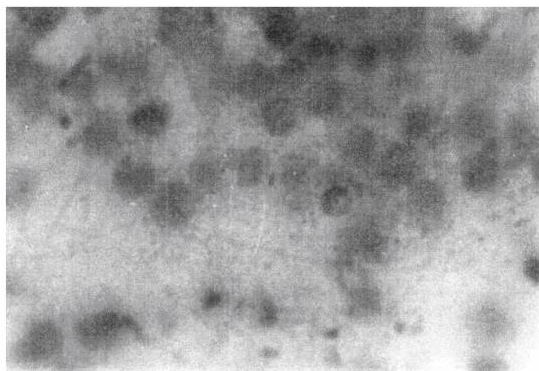
На 5-ту добу лікування маззю "Левосин" цитологічно рани характеризуються зменшенням майже вдвічі дегенеративно змінених клітин та у 2,1 рази мікробної флори, яка повністю фагоцитована нейтрофілами. Такий тип цитограм є регенеративно-запальним, хоча клітини мононуклеарного та проліферативного ряду зустрічалися поодинокі (Фіг.2).

У наступний період, на 10-ту добу лікування, на цитологічних препаратах були відсутні дегенеративно змінені клітини та мікрофлора, виявляються поодинокі нейтрофіли в стані фагоцитозу, дещо збільшується кількість клітинних елементів сполучної тканини, проте останні важко диференціювалися. Такі цитограми відносяться до регенеративного типу другої фази (Фіг.3).

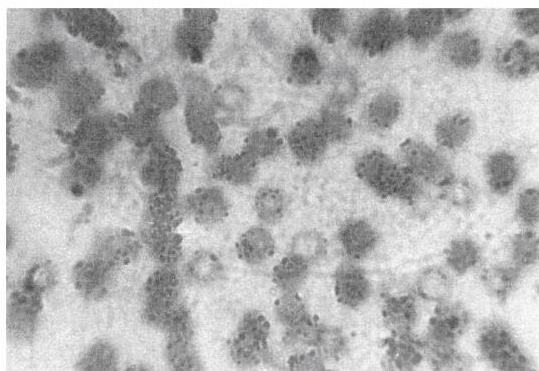
До 15-ї доби рани повністю загоюються, тому їх цитологічне дослідження не проводиться.

Отже, запропоновані ранові цитологічні коефіцієнти підвищують об'єктивність методу М.П.

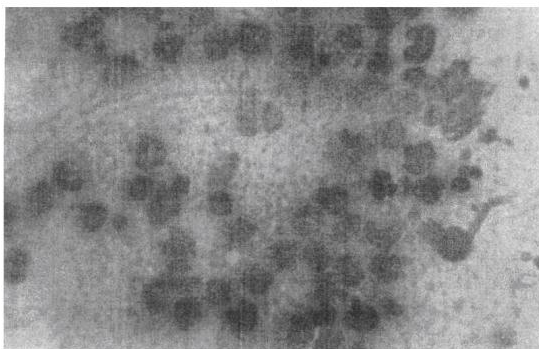
Покровської та М.С. Макарова у модифікації Д.М. Штейнберга в оцінці перебігу ранового процесу та дозволяють провести статистичну обробку отриманих результатів.



Фіг. 1 - Мазок-відбиток до початку лікування. Зб. 1200



Фіг. 2 - Мазок-відбиток на 5-у добу лікування. Зб. 1200



Фіг. 3 - Мазок-відбиток на 10-у добу лікування. Зб. 1200