

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

**PROTIMIKROBNI UČINEK MEDICINSKEGA MEDU
L-MESITRAN® IN NJEGOV VPLIV NA
ZDRAVLJENJE RAN**

**ANTIBACTERIAL EFFECT OF MEDICAL HONEY
L-MESITRAN® AND ITS EFFECT ON WOUND
HEALING**

Tončka Potokar

Ljubljana, september 2014

UNIVERZA V LJUBLJANI
VETERINARSKA FAKULTETA

UDK 636.7/.8.09:616–001.47:638.167(043.2)

**PROTIMIKROBNI UČINEK MEDICINSKEGA MEDU L-
MESITRAN® IN NJEGOV VPLIV NA ZDRAVLJENJE RAN**
**ANTIBACTERIAL EFFECT OF MEDICAL HONEY L-
MESITRAN® AND ITS EFFECT ON WOUND HEALING**

Tončka Potokar

Delo je pripravljeno v skladu s Pravilnikom o podeljevanju Prešernovih nagrad študentom, pod mentorstvom doc. dr. Vladimire Erjavec, dr. vet. med. in somentorstvom asist. dr. Barbare Lukanc, dr. vet. med., na Kliniki za kirurgijo in male živali in Inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo Veterinarske fakultete Univerze v Ljubljani.

Ljubljana, september 2014

POVZETEK

Ključne besede: Rana, infekcije – zdravljenje; celjenje ran – učinki zdravil; med – terapevtska raba; psi; mačke.

Namen raziskave je bil dokazati ugodno delovanje medicinskega medu na celjenje ran in njegovo protimikrobnno delovanje pri zdravljenju ran. V raziskavo smo vključili 14 živali, 6 psov in 8 mačk, ki so imeli skupaj 22 ran, ki so se celile *per secundam*. Na rane smo po nekreptomiji, spiranju s sterilno fiziološko raztopino in osušitvi s sterilnimi zloženci vsakodnevno nanesli medicinski med L-Mesitran® Soft, po enem tednu pa na tri dni. Celjenje rane smo spremljali z odstotki zmanjšanja površine rane, oceno nekroze, kraste, hipergranulacije, vonja, eksudata in vrsto prizadetega tkiva v rani. Pred začetkom zdravljenja z medicinskim medom, tretji in sedmi dan, smo iz rane vzeli bris za mikrobiološko preiskavo. Rane, ki so segale do podkožja, so se v povprečju zacelile v 27. dneh, rane, ki so segale do kosti, pa v 63. dneh pri mačkah in 71. dneh pri psih. Sedmi dan zdravljenja z medicinskim medom je bilo sterilnih brisov iz ran enako število kot pred začetkom zdravljenja, in sicer 18 %. Z analizo preživetja in krivuljami po Kaplan-Meierjevi metodi smo ugotovili, da ni bilo statistično značilnih razlik v času celjenja ran med psi in mačkami ($P > 0,05$). Prav tako nismo ugotovili statistično značilnih razlik v času celjenja ran glede na tip rane pri mačkah, medtem ko se rane s prizadeto kožo in podkožjem pri psih celile hitreje kot rane, ki so imele poleg tega prizadete še mišice, kite in kosti ($P < 0,05$). Na osnovi naših rezultatov sklepamo, da je zdravljenje ran z medicinskim medom dobro vplivalo na celjenje ran, saj je ostala funkcija prizadetega dela telesa nemotena, rane so se celile brez zapletov, estetski videz pa je bil zaradi majhne brazgotine minimalno spremenjen. Ugotovili smo, da pri zdravljenju ran z medicinskim medom uporaba antibiotikov kljub izolaciji bakterij iz rane ni potrebna, če niso sočasno prisotni drugi znaki okužbe rane, saj prisotnost bakterij še ne pomeni okužbe rane.

SUMMARY

Key words: Wound infection – therapy; wound healing – drug effects; honey – therapeutic use; dogs; cats.

The aim of the following study was to prove the beneficial effect of medical honey on wound healing and its antimicrobial activity in the treatment of wounds. In the research we included 14 animals, 6 dogs and 8 cats, with 22 wounds altogether, that were healing by second intention. After necrectomy, flushing with sterile saline solution and drying with sterile gauze pads, we daily applied L-Mesitran® Soft medical honey. After one week, the application of the medical honey was reduced to two times per week. Wound healing was assessed by the percentage reduction of the wound area, assessment of necrosis, scab formation, hypergranulation, smell, exudate and type of the affected tissue in the wound. Before the beginning of the treatment with medical honey, on the third and on the seventh day of wound treatment, we took a swab from the wound for microbiological examination. The wounds extending to the subcutaneous tissue were healed in average of 27 days and those extending to the bone in average of 63. days in cats and 71 days in dogs. The seventh day of treatment with medical honey the number of sterile swab was the same as before the beginning of the treatment, that is 18 %. Survival curves performed by Kaplan-Meier survival analysis revealed no difference in healing time between cats and dogs ($P > 0,05$). No difference was observed between healing time for different type of wounds in cats, whereas wounds with affected skin and subcutaneous tissue were healed earlier than wounds which have also affected muscles, tendons and bones ($P < 0,05$). Based on our results we conclude that the treatment of wounds with medical honey had positive impact on wound healing, because the function of the affected part of the body was not impaired, the wounds were healing without complications and the cosmetic appearance was minimally altered due to a minimal amount of scar tissue. We found that in the treatment of wounds with medical honey, the use of antibiotics, despite the positive swab from the wound, is not mandatory, ifno other signs of wound infection are present at the same time. Isolation of bacteria from the wound itself does not mean wound infection.

KAZALO

1	UVOD	11
1.1	Opredelitev problema.....	11
1.2	Cilj raziskovanja.....	11
1.3	Delovne hipoteze	11
2	PREGLED LITERATURE	12
2.1	Rana	12
2.1.1	Definicija rane.....	12
2.1.2	Vrste ran	12
2.1.3	Celjenje rane.....	13
2.1.4	Načini zdravljenja rane in zapleti.....	16
2.1.5	Naravna mikrobiota kože, kontaminacija in okužba rane	20
2.2	Zdravljenje ran z medom	22
2.2.1	Zgodovina uporabe medu v medicini	22
2.2.2	Sestava naravnega medu.....	22
2.2.3	Medicinski med.....	23
2.2.4	Vpliv medu na celjenje rane	23
3	MATERIALI IN METODE	26
3.1	Vključitveni in izključitveni dejavniki raziskave	27
3.2	Protokol zdravljenja ran.....	28
3.2.1	Odvzem brisov za mikrobiološko preiskavo	28
3.2.2	Merjenje pH vrednosti.....	29
3.2.3	Obdelava rane	29
3.2.4	Izpiranje rane	30

3.2.5	Merjenje velikosti rane.....	30
3.2.6	Ocenjevanje rane.....	30
3.2.7	Obveza	31
3.3	Mikrobiološka preiskava	32
3.4	Medikamentno zdravljenje živali.....	33
3.5	Statistično vrednotenje rezultatov - analiza preživetja	35
4	REZULTATI.....	36
4.1	Celjenje ran	36
4.1.1	Zmanjšanje površin ran	36
4.2	Ocena rane	40
4.2.1	Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0	40
4.2.2	Delež ran glede na stopnjo nekroze	42
4.2.3	Delež ran glede na površino kreste na rani	44
4.2.4	Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije.....	46
4.2.5	Delež ran glede na vonj rane	47
4.2.6	Delež ran glede na količino eksudata	48
4.2.7	Vrednosti pH eksudata ran	50
4.3	Izolirane bakterije na ranah	51
4.3.1	Izolirane bakterije na ranah pri mačkah.....	51
4.3.2	Izolirane bakterije na ranah pri psih.....	52
4.4	Časovna odvisnost celjenja ran pri psih in mačkah	53
4.4.1	Delež zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri mačkah	
	53	
4.4.2	Delež zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri psih...54	
4.4.3	Delež zaceljenih ran tipa 1 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih....55	

4.4.4	Delež zaceljenih ran tipa 2 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih.....	56
4.4.5	Delež zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane s površino pod 12 cm ² pri mačkah in psih.....	57
5	RAZPRAVA	58
6	SKLEPI	65
7	POVZETEK	66
8	ZAHVALE.....	68
9	LITERATURA.....	69
10	PRILOGE	77
	Priloga 1	77
	Priloga 2	78
	Priloga 3	79
	Priloga 4	81

KAZALO TABEL

Tabela 1: Stalne in prehodne bakterije na koži psov.....	20
Tabela 2: Stalni in prehodne bakterije na koži mačke	21
Tabela 3: Fekalni kontaminanti kože pri psih in mačkah.....	21
Tabela 4: Vrsta in lokacija ran pri živalih.....	26
Tabela 5: Ocenjevanje nekroze, kraste, hipergranulacije, vonja in eksudata ran ter vrste prizadetega tkiva s točkovanjem od 1 do 4.....	31
Tabela 6: Protimikrobnno zdravljenje, analgezija in anestezija pri živalih.....	34
Tabela 7: Izolirane bakterije iz ran pri mačkah.....	51
Tabela 8: Izolirane bakterije iz ran pri psih.....	52
Tabela 9: Površina ran v cm ² , po dnevih, pri mačkah.....	79
Tabela 10: Površina ran v cm ² , po dnevih, pri psih.....	79
Tabela 11: Delež zmanjšanja površine rane v odstotkih, po dnevih, pri mačkah.....	80
Tabela 12: Delež zmanjšanja površine rane v odstotkih po dnevih, pri psih.	80

KAZALO SLIK

Slika 1: Celjenje rane na distalnem delu zadnje okončine pri mački.	14
Slika 2: Meritev površin s programom Image J.	30
Slika 3: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran po dnevih pri mačkah.	36
Slika 4: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran po dnevih pri psih.	37
Slika 5: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran glede na prizadeto tkivo po dnevih pri mačkah.	38
Slika 6: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran glede na prizadeto tkivo po dnevih pri psih.	39
Slika 7: Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 v tednih pri mačkah (N = 11).	40
Slika 8: Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 v tednih pri psih (N = 11). ...	41
Slika 9: Delež ran glede na stopnjo nekroze po dnevih pri mačkah (N = 11)....	42
Slika 10: Delež ran glede na stopnjo nekroze po dnevih pri psih (N = 11).....	43
Slika 11: Delež ran glede na površino kraste na rani po dnevih pri mačkah (N = 11).....	44
Slika 12: Delež ran glede na površino kraste na rani po dnevih pri psih (N = 11).....	45
Slika 13: Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije po dnevih pri mačkah (N = 11).....	46
Slika 14: Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije po dnevih pri psih (N = 11).	46
Slika 15: Delež ran glede na vonj rane po dnevih pri mačkah (N = 11).	47
Slika 16: Delež ran glede na vonj rane po dnevih pri psih (N = 11).	47
Slika 17: Delež ran glede na količino eksudata po dnevih pri mačkah (N = 11).	48
Slika 18: Delež ran glede na količino eksudata po dnevih pri psih (N = 11).	49
Slika 19: Povprečne vrednosti in standardni odkloni vrednosti pH eksudata ran, po dnevih pri psih in mačkah.	50
Slika 20: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri mačkah	53
Slika 21: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri psih.	54
Slika 22: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran tipa 1 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih.	55

Slika 23: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran tipa 2 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih	56
Slika 24: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane s površino pod 12 cm^2 pri mačkah in psih.....	57
Slika 25: Celjenje odrgnine na distalnem delu zadnje okončine pri psu z medicinskim medom.	81
Slika 26: Celjenje stružnih ran na distalnem delu zadnje okončine pri psu z medicinskim medom.	82
Slika 27: Celjenje opeklne dorzalno med skapulama pri mačku z medicinskim medom.	83
Slika 28: Celjenje lacerokontuzne rane z medicinskim medom na sprednji okončini z zlomljeno podlaktnico pri mački.	84
Slika 29: Celjenje idiopatske rane na področju trebuha, anusa in noge pri mački z medicinskim medom.	85
Slika 30: Celjenje lacerokontuzne rane na zadnji okončini pri mački z medicinskim medom.	86
Slika 31: Celjenje odrgnine na zadnji šapi pri mački z medicinskim medom.....	87
Slika 32: Celjenje idiopatske rane na zadnji okončini pri mački z medicinskim medom.	88
Slika 33: Celjenje relaksacijske incizijske rane na okončini pri psu z medicinskim medom. .	89
Slika 34: Zdravljenje ran z medicinskim medom pri mački.....	89

SEZNAM OKRAJŠAV IN SIMBOLOV

MNS obveza mokro na suho

t.t. telesna teža

p/o skozi usta; peroralno

s/c podkožno; subkutano

i/v v žilo; intravaskularno

i/m v mišico; intramuskularno

SSKJ Slovar slovenskega knjižnega jezika

1 UVOD

1.1 OPREDELITEV PROBLEMA

Zdravljenje ran z medicinskim medom so v humani medicini ponovno začeli uvajati v zadnjem času, in sicer kot alternativo zdravljenja tistih ran, kjer vse ostale moderne tehnike zdravljenja niso bile učinkovite. Uporabljamo ga lahko za zdravljenje kontaminiranih akutnih in kroničnih ran, travmatskih ran, opeklin, dekubitusov in onkoloških ran. Pri živalih, kjer je anestezisko tveganje veliko, lahko rane prekrijemo z medicinskim medom in obvezo, kirurško pa jih obdelamo šele, ko je pacient dovolj stabilen za anestezijo ali pa jih z medicinskim medom in zaščitene z obvezo zdravimo *per secundam* do zacelitve. V veterinarski medicini je malo objav o uporabi medicinskega medu za zdravljenje ran in spremeljanju mikrobiote v rani.

1.2 CILJ RAZISKOVANJA

V raziskavo smo vključili pse in mačke z odprtimi akutnimi ali kroničnimi ranami. Pri vsaki rani smo pred in med zdravljenjem z medicinskim medom ocenili, katera tkiva so bila prizadeta, nato smo določali mikrobioto in pH eksudata rane, nekrozo, krasto, hipergranulacijo, vonj ter količino eksudata v rani, in vsako lastnost ocenili. Spremljali smo čas celjenja rane z zmanjšanjem površine rane in morebitne zaplete pri zdravljenju.

1.3 DELOVNE HIPOTEZE

1. Zaradi protimikrobnega delovanja medicinskega medu sistemski uporaba antibiotikov ne bo potrebna.
2. Po 7 dneh zdravljenja ran z medicinskim medom v rani ne pričakujemo več mikrobov.
3. Celjenje ran bo potekalo brez zapletov.
4. Rane se bodo zaprle z minimalno brazgotino in z nemoteno funkcijo prizadetega dela telesa.
5. Obvezne z medicinskim medom se ne bodo prilepile na rane.

2 PREGLED LITERATURE

2.1 RANA

2.1.1 DEFINICIJA RANE

Rana je prekinitve kože in globljega tkiva ali sluznic zaradi delovanja mehanskih, kemičnih in bioloških dejavnikov (Hosgood, 2003; Amalsadvala in Swaim, 2006).

2.1.2 VRSTE RAN

Pri psih in mačkah so najpogosteje odrgnine, raztrganine, udarnine, lacerokontuzne in stružne rane, opeklne, ugrizne, kirurške in vnetne rane (Anderson 1996; Pavletic, 2010).

Opis ran

- Odrgnina je poškodba kože, ki nastane zaradi drgnjenja, podrgnjena (SSKJ, 1991).
- Raztrganina je rana z nepravilnimi robovi in deloma odmrlim tkivom (Kališnik, 2014).
- Udarnina je poškodba tkiva zaradi udarca ali hujšega pritiska (Slovar slovenskega knjižnega jezika, 1995).
- Lacerokontuzna rana je rana z raztrganjem tkiva in udarnino (Kališnik, 2014).
- Stružne rane nastanejo pri prometnih nesrečah zaradi delovanja stružne sile na distalne dele okončin pri psih in mačkah. pride do obsežne izgube in premestitve mehkih tkiv in kosti. Najpogosteje sta prizadeta skočni in zapestni sklep (Pope, 2009).
- Opeklina je poškodba tkiva, ki nastane zaradi delovanja toplotne, kemične, električne ali radiacijske energije na kožo, sluznico ali druga tkiva (Kališnik, 2014).
- Ugrizna rana je poškodba tkiva zaradi ugriza druge živali. Predstavljajo 10 do 15 % poškodb v veterinarski medicini. Rane so lahko globoke, z relativno majhno luknjo v koži, poškodbe pa lahko segajo celo do kosti (Pavletic, 2010).
- Kirurška rana je incizija, povzročena s skalpelom (Kališnik, 2014).
- Idiopatska rana je rana, ki nastane zaradi neznanega vzroka ali neodvisno od drugih bolezni (Kališnik, 2014).

2.1.3 CELJENJE RANE

Celjenje rane je dinamičen proces, ki je zaporedno in časovno določen, in ima naloge povrnitve anatomske struktur in funkcij v prvotno stanje (Lazarus in sod., 1994). Sestavljen je iz treh faz, ki se med seboj prekrivajo, to so faza vnetja, faza proliferacije in faza diferenciacije. Pri celjenju sodelujejo citokini, rastni dejavniki, krvne celice, zunajcelični matriks in parenhimske celice (Anderson, 1996; Epstein, 1999; Al-Waili in sod., 2011).

Poškodba tkiv in krvnih žil povzroči krvavitev (Heldin in Westermark, 1996). Kri in limfa napolnita rano in očistita njen površino. Tako po poškodbi povzročijo vazoaktivne substance, kot so kateholamini, serotonin, bradikinin in histamin, vazokonstrikcijo poškodovanih žil, da se prepreči izguba krvi. Vazokonstrikcija traja 5 do 10 minut. Zatem žile dilatirajo, celice in plazma pričnejo prehajati skozi steno žil v ekstravaskularni prostor. Vazodilatacijo uravnava mastociti, ki zaradi poškodbe tkiva sproščajo histamin (Hosgood, 2006). Sproži se koagulacijska kaskada, aktivirani trombociti, eritrociti, plazma in fibrin tvorijo krvni strdek (Demetriou in Stein 2011). Krvni strdek vzpostavi hemostazo in zagotavlja začasni zunajcelični matriks za migracijo vnetnih celic, kot so nevtrofilni levkociti, makrofagi, endotelne celice in fibroblasti (Heldin in Westermark, 1996).

2.1.3.1 Faza vnetja

Za fazo vnetja je značilna migracija nevtrofih levkocitov, ki pridejo v rano v šestih urah po poškodbi (Singer, 1999; Hackom in Ford, 2002; Birch in sod., 2005). Nevtrofilni levkociti čistijo rano, ubijajo bakterije, razgrajujejo zunajcelični matriks in sproščajo toksične kisikove zvrsti. Nevtrofilne levkocite najdemo tudi v sterilni rani in za celjenje rane niso nujno potrebni. Ker imajo kratko življenjsko dobo, prevladujejo na začetku vnetja, v starejših ranah pa prevladujejo monociti. Največ monocitov je v rani 48–72 ur po nastanku, lahko pa ostanejo v rani več tednov (Anderson, 1996; Hosgood, 2006). Monociti, ki se preoblikujejo v makrofage, postanejo pomemben vir rastnih dejavnikov in citokinov, ki pospešujejo celjenje rane. Monociti se lahko preoblikujejo tudi v histiocite in epitelne celice. Ko se akutno vnetje konča, se zmanjša prepustnost krvnih žil in krvne celice prenehajo prehajati v ekstravaskularni prostor. Če v rani ostanejo bakterije in tuj material, monociti proliferirajo. Monociti so značilni za kronične rane in so ključnega pomena za celjenje rane. Makrofagi

imajo fagocitno vlogo in so na začetku celjenja odgovorni za čiščenje rane, kasneje pa skupaj z nevtrofilni levkociti preoblikujejo začasni zunajcelični matriks. Začasen zunajcelični matriks, ki zapolni rano in vsebuje fibrin, fibronektin in druge snovi, ki jih izločajo trombociti in vnetne celice, se preoblikuje v granulacijsko tkivo (Hosgood, 2006).

2.1.3.2 Faza proliferacije

Proliferacija je nadomeščanje tkiva z istovrstnimi strukturami. Za proliferacijo je značilnih več procesov, kot so angiogeneza, fibroplazija, epitelizacija (Singer, 1999; Hackom in Ford, 2002; Birch in sod., 2005) in krčenje rane. Značilna je invazija fibroblastov in nabiranje kolagena v rani. V rani začnejo nastajati endotelne strukture. Nove kapilare, fibroblasti in fibrozno vezivno tkivo tvorijo na rani rdeče granulacijsko tkivo, ki zapolni rano pod krasto ali pod obvezo. Granulacijsko tkivo nudi rani zaščito pred okužbo in zagotavlja površino za epitelizacijo. Vsebuje posebne fibroblaste, ki se imenujejo miofibroblasti in so pomembni za krčenje rane. Granulacijsko tkivo nastane iz zunajceličnega matriksa v 3–5 dneh po nastanku rane (Hosgood, 2006).

a.) Angiogeneza

Angiogeneza je razvoj žil, nove kapilare rastejo iz obstoječih žil na robu rane, v področja, kjer krvnih žil ni. Istočasno se prične tudi proliferacija endotelija (Li in sod., 2003). Zgodnje granulacijsko tkivo je bogato s kapilarami in ima zato značilno temno rdečo barvo (Slika 1a). Kasneje del krvnih žil zaradi apoptoze propade in barva granulacijskega tkiva postane bolj svetlo rdeča (Slika 1b) (Banerjee, 1998; Ilan in sod., 1998).



Slika 1: Celjenje rane na distalnem delu zadnje okončine pri mački.

(A) Slika prikazuje temno rdeče granulacijsko tkivo 22. dan celjenja. (B) Slika prikazuje svetlo rdeče granulacijsko tkivo 65. dan celjenja.

b.) Fibroplazija

Vnetni mediatorji, ki jih izločajo makrofagi, skupaj z molekulami zunajceličnega matriksa spodbujajo fibroblaste v okолнem tkivu, da proliferirajo, izločijo ustrezne receptorje za integrine in migrirajo v rano (Gray in sod., 1993; Xu in Clark, 1996). Integrini so transmembranski adhezijski receptorji, ki se povezujejo s proteini zunajceličnega matriksa, in omogočajo obojesmerno komunikacijo celic z okoljem, v katerem se nahajajo. Integrinski receptorji so nujno potrebni za migriranje celic v rani (Stupack, 2005).

c.) Epitelizacija

Epitelizacija se začne z robov rane nekaj ur po poškodbi (Shirakata in sod., 2005). Pri ranah, ki ne segajo čez celoten sloj kože, se takoj po poškodbi začne epidermalna migracija iz robov rane in kožnih adneksov, kot so dlačni folikli in znojnice. Pri poškodbah, ki segajo skozi celoten sloj kože, pa lahko epitelne celice prekrijejo površino rane šele, ko je nastalo dovolj granulacijskega tkiva (Hosgood, 2006). Kmalu po poškodbi se začnejo epitelne celice na robu rane fenotipsko spremnjati, pride do skrčenja znotrajceličnih monofilamentov, raztplavljanja dezmosomov, ki predstavljajo fizične stike med celicami, in nastanka perifernih citoplazemskih aktinskih filamentov, ki omogočajo premikajne celic. Epidermalne celice, ki so za migrirajočimi epitelnimi celicami, začnejo proliferirati 1–2 dni po poškodbi. Ko pride do epithelizacije, se pod migrirajočimi celicami progresivno od roba rane v njeno notranjost nalaga material (laminin) za novo bazalno lamo. Epidermalne celice se fenotipsko spremenijo v prvotno stanje in se tesno pripnejo na bazalno lamo in spodaj ležeč dermis. Kasneje epidermalna plast poroženi. Repigmentacija se začne progresivno od robov proti sredini rane. Do največje proliferacije melanocitov lahko pride šele po več mesecih (Hosgood, 2006).

d.) Krčenje

Do vidnega krčenja rane pride v 5–9 dneh po nastanku rane. V drugem tednu celjenja rane se v rani pojavijo fibroblasti, ki imajo fenotipske značilnosti miofibroblastov in so odgovorni za krčenje. V kasnejših fazah celjenja se število miofibroblastov v rani zmanjša, kar sovpada z manjšim krčenjem. Kolagen in granulacijsko tkivo nimata kontraktilnih sposobnosti.

Med krčenjem rane se okolna koža napne in rana dobi zvezdast videz. Krčenje rane se nadaljuje dokler se robovi rane ne spojijo, celice se dotaknejo in sprožijo negativno povratno zvezo ter ustavijo proces krčenja (Hosgood, 2006).

2.1.3.3 Faza diferenciacije

Vezivno tkivo v rani se iz zunajceličnega matriksa preoblikuje v brazgotino (Singer, 1999; Hackom in Ford, 2002; Birch in sod., 2005). Celičnost v granulacijskem tkivu se manjša, ker celice propadajo. Snopi kolegenih vlaken postajajo debelejši, bolj prepleteni in se značilno uredijo vzdolž tenzijskih linij. Reorganiziranje in prerazporeditev kolagenih vlaken lahko poteka več mesecev ali celo let. Povečevanje mehanične moči je zelo počasno (Hosgood, 2006). V prvih 3–5 dneh po poškodbi pridobi rana zelo malo čvrstosti, nekaj čvrstosti omogoča fibrin v krvnem strdku. Zgodnje vraščanje kapilar in epitelij, ki začne prekrivati rano, tudi zagotavlja nekaj čvrstosti. Rana najhitreje pridobiva na čvrstosti med 7. in 14. dnevom po poškodbi, kar sovpada s hitrim nalaganjem kolagena v rani. Rane pridobijo približno 20 % natezne moči v prvih 3 tednih po poškodbi. Po tem rana počasi pridobiva na čvrstosti, počasnejše je tudi nalaganje kolagena. Rane nikoli ne dosežejo prvočne natezne moči, ker ima brazgotina le od 70–80 % natezne moči nepoškodovanega tkiva (Levenson, 1965).

2.1.4 NAČINI ZDRAVLJENJA RANE IN ZAPLETI

Rano lahko pripravimo za primarno zapiranje ali jo dekontaminiramo in čistimo do kasnejšega zapiranja oziroma zaceljenja. Prva faza oskrbe rane je dekontaminacija in preprečevanje nadaljnje kontaminacije rane. V drugi fazi rano očistimo nekrotičnega, devitaliziranega tkiva in odstranimo tujke. S tem želimo nadzorovati okužbo in omogočiti nastanek zdravega granulacijskega tkiva, ki je pogoj za zapiranje rane (Anderson, 1996).

a) Faza dekontaminacije

Namen je preprečiti nadaljnjo kontaminacijo rane. Rano zaščitimo s sterilno gazo, namočeno v fiziološko raztopino, ali z gelom, ki ga stisnemo v rano. Dlake na robu rane postrizemo najprej s škarjami, na katere nanesemo gel ali olje, da se odstrizene dlake primejo škarij in ne padajo v rano. Nato dlake v okolini rane pobrijemo z električnim brivnikom, ki ima razkuženo rezilno glavo. Kožo očistimo in razkužimo po standardnih postopkih za pripravo kirurškega polja (O'Dwyer, 2007a). Najpomembnejši del oskrbe rane je izpiranje ali lavaža rane. Z izpiranjem rehidriramo mrtvo tkivo, razredčimo bakterije ali tuji material in odstranjujemo toksine, citokine in mrtvo tkivo. Rano izpiramo pri vsaki menjavi obvezne in ne samo pri

začetni oskrbi. Tekočine za izpiranje morajo biti izotonične in netoksične za celice. Najprimernejša za izpiranje ran sta Ringerjev laktat in fiziološka raztopina.

Hipoklorid, vodikov peroksid in klorheksidin potencialno škodijo bakterijam, dražilni in toksični pa so tudi za celice rane, zato so za izpiranje ran kontraindicirani. Njihova uporaba se je pri oskrbi rane izkazala kot neutemeljena, saj je pomembna predvsem količina tekočine in ne njena baktericidna aktivnost. Za izpiranje rane uporabljam 20, 30 ali 50 ml brizgo z iglo debeline 18 G, da dosežemo primeren tlak (0,5 bara), ki ga mora imeti curek tekočine za izpiranje. Z višjim tlakom lahko kontaminiramo globlje dele rane ali povzročimo edem v okolnjem nepoškodovanem tkivu. Sama lavaža ni dovolj za dekontaminacijo ali zapiranje rane (Anderson, 1996 in 2009). Potrebna je naslednja faza oskrbe rane:

b) **Nekrektomija**

Je čiščenje devitaliziranega, kontaminiranega ali okuženega tkiva in tujih materialov iz rane, kar zmanjša delo makrofagov in omogoči hitrejši začetek proliferativne faze celjenja rane. Postopek nekrektomije lahko ponavljamo več dni, ker se lahko šele kasneje pokaže, katera tkiva so odmrla. Nekrektomija je lahko kirurška ali nekirurška.

- Kirurška nekrektomija je najbolj priporočena metoda za odstranjevanje kontaminiranega tkiva, lahko je postopna ali »*en bloc*«. S finimi kirurškimi inštrumenti postopno odstranjujemo mrtvo tkivo. Čeprav je krvavitev znak, da je tkivo živo, odsotnost krvavitve ne pomeni nasprotnega, saj je lahko posledica vazospazma ali hipotenzije. Nekrektomiji sledi izdatna lavaža. Pri nekrektomiji »*en bloc*« izrežemo celotno rano in dobimo čisto rano, ki jo lahko zapremo kirurško. V veterinarski medicini navadno ni dovolj kože za tak postopek in ga redko opravimo (Anderson, 1996 in 2009; Williams, 2009).
- Pri nekirurški nekrektomiji ločimo:

- a) razapljanje – z obkladki s fiziološko raztopino, encimski preparati;
- b) avtolitično odstranjevanje – z vzdrževanjem optimalno vlažnega, kislega in toplega okolja se v organizmu sprožijo procesi čiščenja in celjenja ran. Take pogoje zagotavlja sodobne oblage za oskrbo ran. Vedeti moramo, da se tako oskrbljena rana v prvi fazi po očiščenju optično poveča, a hkrati to pomeni, da se je pričel proces celjenja.

V veterinarski medicini je še vedno najpogosteje uporabljena t.i. MNS (mokro na suho) obveza. Rano prekrijemo s sterilnimi zloženci, prepojenimi s fiziološko raztopino, namestimo sekundarno in terciarno plast obvezne in pustimo, da se obveza na rani posuši. Pri menjavanju obvezne odstranimo z rane nekrotičen material in s tem rano očistimo. Obvezo menjamo vsaj 1 x dnevno, dokler rana ni čista. Modernejše obloge za čiščenje ran vsebujejo hidrogel, hidrokoloid, alginat ali medicinski med (Anderson, 2009; Pope, 2009).

c) **Zapiranje rane**

Ko je rana čista, se odločimo za primerno tehniko zapiranja rane ali za celjenje *per secundam*, kjer se rana celi pod obvezo. Sodobna oskrba ran temelji na celjenju v vlažnem okolju. Raziskave so pokazale, da je celjenje v takih pogojih bistveno hitrejše in bolj kakovostno kot celjenje v suhem okolju (Pope, 2009). Celjenje oziroma načini zapiranja rane so:

- Pimarno zapiranje – zapiranje »*per primam*« – tako se celijo kirurške rane, kjer se robova rane lepo prilegata in sta zbližana s šivalnim materialom. Brazgotina je minimalna, celjenje traja 10 dni (Anderson, 1996). Po približno 12 urah je rana neprepustna za bakterije (Miksić in Triller, 2010).
- Pozno primarno zapiramo rane starejše od 12 ur in/ali močno kontaminirane, kjer je velika nevarnost, da pride do okužbe rane. Kadar je veliko mrtvega tkiva, 2–3 dni postopno opravljamo nekrektomijo in rano očistimo. Ko nastane na rani zgodnje granulacijsko tkivo, je rana čista in jo lahko kirurško zapremo (Anderson, 1996).
- Pri sekundarnem zapiranju je potrebno nekaj dnevno čiščenje rane, razvije se zrelo granulacijsko tkivo. Prisotna je kontrakcija rane. Granulacijsko tkivo, ki je podlaga za epitelizacijo, lahko da rani večjo natezno moč, vendar se lahko zmanjša mobilnost kože (Anderson, 1996).
- Sekundarno celjenje – celjenje »*per secundam*« – rana se celi sama, brez šivanja, ob podpori čiščenja. Celjenje poteka od granulacijskega tkiva in kontrakcije do epitelizacije. Rano moramo zaščititi z obvezo, da vzdržujemo vlogo in s tem pospešimo proliferacijo in migracijo celic (Anderson, 1996).

d) **Obveze**

Obveze igrajo pomembno vlogo pri celjenju ran. Predvsem zagotavljajo primerno okolje, ki pospešuje celjenje rane. Rano ščitijo pred kontaminacijo iz okolja in živali preprečujejo, da bi

prišla v stik z rano in poškodovala tkivo. Obveza zadržuje toploto in zagotavlja kislo okolje za disociacijo kisika v tkivih, prav tako zagotavlja primerno vlažnost rane, saj poškodovana tkiva ne smejo biti ne suha, ne pretirano mokra. Izsušitev rane onemogoča delovanje rastnih dejavnikov in encimov, upočasni celjenje in poveča verjetnost okužbe. Nasprotno preobilna vlažnost, ki je lahko posledica neprimerne obvez ali prevelike količine izločka (eksudata) iz rane, povzroči maceracijo oziroma mehčanje tkiv. Obveza pripomore k zmanjšanju bolečine, omogoča imobilizacijo robov rane in vrši na rano pritisk, zaradi česar se mrtvi prostor v rani zmanjša, s tem pa tudi krvavitev in edem v rani. Obveza absorbira eksudat iz rane, omogoča nekreptomijo in pomaga stabilizirati hkratne ortopedske poškodbe (Pavletic, 2010, Swaim in sod., 2011).

Sestavni deli obvez so primarni ali kontaktni sloj, sekundarni ali srednji sloj in terciarni ali zunanji sloj obvez (Pavletic, 2010).

Primarni ali kontaktni sloj je v neposrednem stiku z rano in mora biti sterilen. Primarni sloj izberemo glede na fazo celjenja, v kateri se rana nahaja (Pavletic, 2010). Na začetku, ko rana še proizvaja eksudat in nekrotizira, lahko uporabimo MNS obvezo z gazo. Pomanjkljivost klasičnih obvez z gazo je upočasnjeno celjenje, saj se gaza posuši in prilepi na rano, nastajajoče granulacijsko tkivo pa se začne vraščati v nitke gaze. Zaradi tega je menjavanje obvez boleče in prihaja do poškodbe tkiv, v rani lahko ostanejo nitki in drobci obvezilnega materiala, ki povzročajo vnetje. Zaradi prepustnosti gaze za pline, tekočine in bakterije je velika verjetnost nadaljnje okužbe (Pavletic, 2010, Swaim in sod., 2011). Skozi vse faze celjenja rane lahko kot primarni sloj uporabimo obloge z medom oziroma lahko med nanesemo na rano pred oblogo (Overgaauw in Kirpensteijn, 2006). Kasneje, ko debridma ni več potreben, uporabimo semiokluzivne, neadherentne obloge, ki omogočajo prehod eksudata v sekundarni sloj in omogočajo vlažno okolje. Okluzivne obloge zagotavljajo vlažno in toplo okolje rani, s čimer pospešujejo proliferacijo in funkcionalnost celic v vnetni in reparativni fazi celjenja ter z zadrževanjem tekočine v rani ohranjajo fiziološki nivo proteaz, inhibitorjev proteaz, rastnih dejavnikov in citokinov (Pavletic, 2010, Swaim in sod., 2011).

Sekundarni sloj omogoča shranjevanje in absorbcijo krvi, seruma, eksudata, debrisa, bakterij ter encimov iz rane. Dodatno deluje kot toplotna izolacija, kot podloga in zaščita pred zunanjim travmo, preprečuje premikanje in drži primarni sloj v kontaktu z rano (Swaim in sod., 2011).

Tercialni sloj ima zaščitno vlogo pred zunanjim kontaminacijo in fiksacijo spodaj ležečih delov obvez. Materiali, ki se uporabljan v ta namen, so porozni kirurški adhezivni trakovi,

okluzivni vodoodporni trakovi, elastični adherentni in avtoadherentni materialni in nogavice oziroma mreže (Pavletic, 2010, Swaim in sod., 2011).

2.1.5 NARAVNA MIKROBIOTA KOŽE, KONTAMINACIJA IN OKUŽBA RANE

Psi in mačke imajo na koži naravno mikrobioto. Bakterije so prisotne tako na površini epidermisa kot tudi v infundibulumu dlačnega folikla. Normalna mikrobiota je zmes mikroorganizmov, ki so v simbiozi. Delimo jih na stalne in prehodne. Stalni mikroorganizmi se uspešno razmnožujejo na koži, prehodni se normalno ne razmnožujejo na koži večine živali. Ob ugrizu se mikroorganizmi ustne biote pojavijo na običajno sterilnem mestu in lahko delujejo patogeno. Fekalna kontaminacija kože in mehkih tkiv, posebno še na mestih, kjer žival liže rano, lahko vodi do razmnoževanja anaerobnih in drugih črevesnih bakterij, ki tudi lahko delujejo patogeno (Paterson, 2008).

Tabela 1: Stalne in prehodne bakterije na koži psov (povzeto po Patersonu, (2008)).

Stalni mikroorganizmi kože psa	Prehodni mikroorganizmi kože psa
KOŽA <ul style="list-style-type: none">• <i>Micrococcus</i> spp.• Koagulazno negativni stafilocoki (<i>S. epidermidis</i>, <i>S. xylosus</i>)• Alfa hemolitični streptokoki• <i>Clostridium</i> spp.• <i>Propionibacterium acnes</i>• <i>Acinetobacter</i> spp.• po Gramu negativni aerobi	KOŽA <ul style="list-style-type: none">• <i>Escherichia coli</i>• <i>Proteus mirabilis</i>• <i>Corynebacterium</i> spp.• <i>Bacillus</i> spp.• <i>Pseudomonas</i> spp.
DLAKA <ul style="list-style-type: none">• <i>Micrococcus</i> spp.• po Gramu negativni aerobi• <i>Bacillus</i> spp.• <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
DLAČNI FOLIKLI <ul style="list-style-type: none">• <i>Micrococcus</i> spp.• <i>Propionibacterium acne</i>• <i>Streptococcus</i> spp.• <i>Bacillus</i> spp.• <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
MUKOZA <ul style="list-style-type: none">• <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	

Tabela 2: Stalni in prehodne bakterije na koži mačke (povzeto po Patersonu, (2008)).

Stalni mikroorganizmi kože mačke	Prehodni mikroorganizmi kože mačke
KOŽA <ul style="list-style-type: none">• <i>Micrococcus</i> spp.• Koagulazno negativni stafilokoki (<i>S. simulans</i>, <i>S. felis</i>)• Alfa hemolitični streptokoki• <i>Acinetobacter</i> spp.• po Gramu negativni aerobi• Koagulazno pozitivni stafilokoki (<i>S. pseudintermedius</i>, <i>S. aureus</i>)	KOŽA <ul style="list-style-type: none">• β hemolitični streptokoki• <i>Escherichia coli</i>• <i>Proteus mirabilis</i>• <i>Alcaligenes</i> spp.• <i>Bacillus</i> spp.• <i>Staphylococcus</i> spp. (koagulazno pozitivni in koagulazno negativni stafilokoki, razen <i>S. simulans</i>)

Tabela 3: Fekalni kontaminanti kože pri psih in mačkah (povzeto po Patersonu, (2008)).

Fekalni kontaminanti kože psa in mačke (anaerobi)	
<ul style="list-style-type: none">• <i>Actinomyces</i> spp.• <i>Clostridium</i> spp.• <i>Peptostreptococcus</i> spp.	<ul style="list-style-type: none">• <i>Bacteroides</i> spp.• <i>Fusobacterium</i> spp.• <i>Prevotella</i> spp.

Kirurške rane so edine rane, ki jih lahko klasificiramo kot čiste rane, vse ostale rane so kontaminirane. Idealen čas za oskrbo rane je prvih 6 ur po poškodbi, v tem času je rana kontaminirana, bakterije so prisotne, ni pa še prišlo do okužbe. Po 6 do 12 urah se pričnejo bakterije deliti in po 12 urah preidejo v tkivo. Rana je okužena, ko je prisotnih 10^5 bakterij/g tkiva. Klinično pa je lahko nevarnejše majhno število bakterij v globoki ishemični (slabo prekrvljeni) rani kot veliko število bakterij v odprtih rani z zdravim granulacijskim tkivom (Anderson, 1996). Glede na infekcijski status delimo pri ljudeh rane v 4 skupine: kontaminirane, kolonizirane, kritično kolonizirane in okužene. V kontaminirani rani so bakterije prisotne, a se ne razmnožujejo. V kolonizirani rani se bakterije, ki se držijo rane, razmnožujejo, a gostitelju ne povzročajo škode. Kolonizacija postane kritična, ko je zaradi bakterij upočasnjeno celjenje rane. V okuženi rani pa se bakterije razmnožujejo in povzročajo gostitelju škodo. Bakterije v zadnjih dveh skupinah škodljivo vplivajo na celjenje rane (Schultz in sod., 2003).

Sistemsko zdravljenje z antibiotiki je indicirano, če so poškodovane mišice in fascije, če gre za imunsko prizadete živali ali če so prisotni znaki lokalne ali sistemski okužbe (Dernell, 2006). Antibiotike apliciramo parenteralno, čim prej, da preprečimo invazijo bakterij v tkiva. Primeren je širokospektralni antibiotik, ki dobro penetrira v tkiva in je sistemsko malo toksičen. Upoštevati moramo, da antibiotik v močno poškodovanih tkivih ne bo dosegel terapevtskega učinka (Anderson, 1996 in Williams, 2009).

2.2 ZDRAVLJENJE RAN Z MEDOM

2.2.1 ZGODOVINA UPORABE MEDU V MEDICINI

Že zelo zgodaj so ljudje priznavali med kot zdravilo. Najstarejši zapisi o medicinski uporabi medu segajo v leto 2000 pr. n. št. (Mathews in Binnington, 2002). Že stari Egipčani, Azijci, Kitajci, Grki in Rimljani so za zdravljenje ran uporabljali med samostojno ali v kombinaciji z zelišči (Zumla in Lulat, 1989). V nekaterih delih sveta, predvsem v Aziji, Afriki, Rusiji in Vzhodni Evropi, kjer ni bilo denarja za razvoj novih zdravil, uporaba medu v medicinske namene ni prešla v pozabo in so ga uporabljali za zdravljenje okuženih ran in opeklin.

Ker ni bil znan mehanizem delovanja medu, njegovih učinkov niso jemali resno in ga v splošni medicini niso uporabljali. Leta 1919 so v laboratorijih dokazali protimikrobnii učinek medu, vendar je bila uporaba medu s prihodom antibiotikov v medicino izpodrinjena (de De Rooster in sod., 2008). Zdravilne lastnosti medu so začeli ponovno odkrivati v zadnjem času, in sicer kot alternativo zdravljenja predvsem tistih ran, pri katerih druge metode zdravljenja niso bile učinkovite (Mathews in Binnington, 2002).

2.2.2 SESTAVA NARAVNEGA MEDU

Med je sestavljen iz približno 180 različnih organskih in anorganskih snovi. Osnovne sestavine medu so sladkorji in voda (manj kot 20 %). Glavna sladkorja v medu sta D-fruktoza in D-glukoza, vsebuje pa še disaharide (saharozo, maltozo in izomaltozo), trisaharide in oligosaharide (White in sod., 1963; Weston, 2000). Mešanica glukoze in fruktoze se imenuje invertni ali reducirajoči sladkor in skupaj predstavlja 85-95 % vseh ogljikovih hidratov v medu (Božnar in Senegačnik, 1998). Med vsebuje tudi aminokisline (prolin), minerale (kalij, magnezij, natrij, kalcij, fosfor, železo, mangan, kobalt in baker) (Anklam, 1998; Vanhanen in sod., 2011), encime (glukozno oksidazo, invertazo, amilazo, katalazo), flavonoide, fenolne kisline (Pyrzynska in Biesaga, 2009) in askorbinsko kislino, karotenoidne snovi, vitamine, arome, hormone, dušik in pepel (White in Subers, 1963, Tan in sod., 1989). Med je kislo živilo, z vrednostjo pH od 3,4 do 5,5 (Molan 1992). Med vsebuje tudi organske kisline (glukonsko, jabolčno, jantarno, citronsko, vinsko, ocetno, oksalno, masleno, mlečno,

mravljinčno, fumarno) in anorganske kisline (fosforno), ki mu dajejo značilen okus in aroma, prispevajo k njegovi obstojnosti ter vplivajo na protimikrobnno in antioksidativno delovanje (Mato in sod., 2003).

2.2.3 MEDICINSKI MED

Čeprav med ni primerno gojišče za rast mikroorganizmov, se lahko pod določenimi pogoji nekatere bakterije v medu razmnožujejo (Dunford in sod., 2000, Ahmed in sod., 2003). Med je lahko kontaminiran s sporami bakterije *Clostridium botulinum*, saj so te prisotne v zraku, zemlji, prahu ter surovih kmetijskih pridelkih. Če je rana globoka in omogoča anaerobne pogoje, se lahko v medu morebitno prisoten *C. botulinum* razmnoži in proizvaja toksine (Vardi in sod., 1998, Aureli in sod., 2002). Vendar pa se v kliničnih primerih to zgodi izjemno redko (White in Subers, 1964). Prav tako lahko med vsebuje pesticide ter ostanke antibiotikov (tetraciklinov) (Postmes in Boggard, 1993; Molan in Allen, 1996). Medicinski med steriliziramo z gama žarki (Dunford in sod., 2000; Ahmed in sod., 2003), ki učinkovito ubijejo spore, med pa zaradi tega ne izgubi protimikrobnih ali drugih lastnosti, ki vplivajo na celjenje rane (Molan in Allen, 1996).

2.2.4 VPLIV MEDU NA CELJENJE RANE

2.2.4.1 Protimikrobnno delovanje medu

Na med so občutljive različne bakterije, tako aerobne kot anaerobne, po Gramu negativne in po Gramu pozitivne (Molan, 1992, Cooper in sod., 1999, Cooper in sod., 2002, Osman in sod., 2003, French in sod., 2005). Minimalna koncentracija medu, ki je potrebna za popolno inhibicijo rasti bakterij, se razlikuje glede na vrsto medu (Molan, 1992, Willix in sod., 1992). Dokazano je tudi antimikotično delovanje medu proti kvasovkam iz rodu *Candida* (Osman in sod., 2003), nekaterim vrstam plesni iz rodov *Aspergillus* in *Penicillium* (Molan, 1992). Na nekatere bakterije, npr. *Pseudomonas aeruginosa*, deluje med le z osmolarnostjo (Willix in sod., 1992). Med deluje protimikrobnno tudi po redčenju z eksudatom iz rane, ko se osmolarnost močno zmanjša (White in sod., 1963; Cooper in sod., 1999; Bang in sod., 2003). V prisotnosti tekočine se glukoza pretvori s pomočjo glukozne oksidaze, ki jo v med izločajo

čebele, v glukonsko kislino in vodikov peroksid (White in sod., 1963). Glukonska kislina znižuje pH, kar zavira rast bakterij, sproščeni vodikov peroksid pa učinkuje baktericidno. Stalna prisotnost nizke koncentracije vodikovega peroksida je bolj učinkovita kot enkraten visok odmerek, ki poškoduje tkivo (Bang in sod., 2003). Glukoza in nizek pH stimulirata baktericidno aktivnost makrofagov (Molan, 2002). V različnih raziskavah *in vitro* so ugotovili, da so na baktericidni učinek medu enako občutljive proti antibiotikom odporne in občutljive bakterije (Willix in sod., 1992, Cooper in sod., 2002, Fench in sod., 2005).

2.2.4.2 **Protivnetni učinek**

Poleg svojih protimikrobnih učinkov medicinski med tudi pospešuje celjenje ran s svojim protivnetnim učinkom. Količina eksudata rane je odvisna od dejavnosti lokalnega vnetnega procesa, zlasti pri ranah, ki so kolonizirane ali okužene z bakterijami. Tako protivnetno delovanje medu z regulacijo vnetnega procesa zmanjšuje edem in količino eksudata. Prav tako zmanjša bolečino, ki je rezultat povečane občutljivosti živčnih končičev zaradi prostaglandinov, ki nastajajo v vnetnem procesu, in pritiska na tkivo, ki ga povzroča edem (Molan, 2002; Tonks in sod., 2001, 2003).

Med *in vitro* stimulira monocite, da proizvajajo vnetne in protivnetne citokine (Tonks in sod., 2003). Domnevna se, da antioksidanti, ki so prisotni v medu, nevtralizirajo proste kisikove radikale, ki povzročajo poškodbo tkiva in vnetje (Subrahmanyam, 1996, Molan, 1999, Tonks in sod., 2001).

2.2.4.3 **Celjenje rane z medom**

Monociti se na med odzovejo s sproščanjem vnetnih in protivnetnih citokinov ter z zmanjšanjem tvorbe reaktivnih kisikovih intermediantov (Tonks in sod., 2001, 2003). Citokini modulirajo delovanje različnih tipov celic, ki imajo vlogo pri celjenju rane. Tonks in sodelavci (2003) so v *in vitro* raziskavi potrdili, da aktivacija makrofagov stimulira proliferacijo celic in ozdravljenje kroničnih ran. Poleg neposrednega baktericidnega delovanja vodikovega peroksida, ta tudi stimulira angiogenezo (Tur in sod., 1995). Vodikov peroksid pospešuje celjenje ran s tem, da spodbuja rast fibroblastov, in aktivira epitelne celice z robov rane in vitalne epitelne celice dlačnih meščkov (Bergman in sod., 1983; Efem, 1988). Nizek pH medu spodbuja celjenje rane s posrednim vplivom na nivo razpoložljivega kisika v rani

(Bergman in sod., 1983). Zaradi higroskopskega učinka medu ta na mesto rane povleče limfo, v kateri so makrofagi in hrnilne snovi. (Bergman in sod., 1983, Efem, 1988). Makrofagi zagotavljajo čiščenje rane, hrnilne snovi pa so potrebna hrana celicam za rast novega tkiva. (Molan, 1999). Med ni samo celični vir energije temveč tudi vir mineralov, vitaminov in aminokislin (Bergman in sod., 1983 Emfem, 1988). Stopnja epitelizacije je večja v vlažnem okolju, saj so lahko miofibroblasti bolj skupaj, tako da se lahko robovi rane čim bolj približajo. Med ima tudi čistilni učinek (Efem, 1988). Dodatna prednost vlažnega okolja je, da se ne naredi krasta zato je epitelizacija neovirana in brazgotinjenje manjše (Subrahmanyam, 1998).

2.2.4.4 Aromatizacija

Med z odstranjevanjem mrtvega in devitaliziranega tkiva ter protimikrobnim učinkom na bakterije zmanjšuje in nevtralizira neprijeten vonj rane (Molan 1999, Lay-flurrie, 2008). Bakterije, ki so v rani, za svoj metabolizem izkoriščajo aminokisline tkiva. Kadar je na površini rane med, bakterije raje izkoriščajo glukozo kot aminokisline. Neprijetne vonjave, ki so produkt razgradnje aminokislin, zbledijo (Molan, 1999).

2.2.4.5 Možni neželeni učinki medu pri zdravljenju ran

Uporaba medu na ranah lahko v posameznih primerih povzroči pekoč občutek, kar je verjetno posledica nizke kislosti medu (Molan, 1998; Osman in sod., 2003). Možne so tudi alergijske reakcije na med, ki so redke in jih najverjetneje povzroči cvetni prah in čebelji proteini, prisotni v medu (Helbling in sod., 1992). V izjemnih primerih lahko pride pri uporabi velike količine medu do dehidracije rane zaradi osmotskega učinka. Vendar pa večina komercialnih mazil z medom vsebuje oljne komponente, ki preprečijo hujšo dehidracijo (Osman in sod., 2003).

3 MATERIALI IN METODE

V raziskavo smo vključili štirinajst živali (8 mačk in 6 psov), ki so imele skupno 22 ran (Tabela 4). Za proučevanje vpliva medicinskega medu na celjenje rane smo uporabljali L-Mesitran® Soft, gel za rane (Theo Manufacturing BV, Maastricht, Nizozemska). L-Mesitran® Soft vsebuje 40 % sterilnega medicinskega meda, medicinski hipoalergeni lanolin (Medilan®), propilen glikol, polietilen glikol (PEG 4000) ter vitamin C in E.

Tabela 4: Vrsta in lokacija ran pri živalih.

Rana	Številka živali	Vrsta živali	Vrsta rane	Lokacija rane
1	1	maček	lacerokontuzijska	desna noge, metatarzalno
2	2	mačka	lacerokontuzijska	desna noge, od komolca do šape
3	3	maček	ugrizna	levo ob korenju repa
4	4	maček	odrgnina	leva noge, metatarzalno, lateralno in avulzija treh blazinic
5	5	maček	lacerokontuzijska	leva noge, distalni del tibie in tarzalni sklep, medialno
6	6	mačka	idiopatska	okoli anusa, vulve, po trebuhu, koren repa, notranja stran stegna desne noge
7	7	maček	opeklina	dorzalno, med skapulama
8	8	mačka	idiopatska	desna noge, karpus, palmarno
9	8	mačka	idiopatska	desna noge, tarzalno, dorzalno
10	8	mačka	idiopatska	zadnja desna noge nad in na centralni blazinici
11	8	mačka	idiopatska	zadnja leva noge nad in na centralni blazinici
12	9	psica	stružna	leva noge, tarzus, medialno
13	9	psica	stružna	zadnja leva noge, na področju slednika
14	9	psica	stružna	zadnja leva noge, 2.prst, medialno
15	10	psica	ekscizijska	leva noge, metatarzus dorzalno

16	11	pes	incizijska	leva noga lateralno antebrahialno
17	12	psica	odrgnina	desna noga, metatarzalno, medialno
18	13	pes	incizijska	desna noga, metatarzalno, plantarno
19	13	pes	dehiscenca	desna noga, metatarzalno, dorzalno
20	14	psica	lacerokontuzijska	leva noga, tarzalno, medialno
21	14	psica	lacerokontuzijska	leva noga, metatarzalno, medialno
22	14	psica	lacerokontuzijska	zadnja leva noga, 2. prst, medialno

Ob sprejemu živali smo vzeli natančno anamnezo, opravili splošni klinični pregled živali in pregledali rane. Lastnika živali oziroma veterinarja, ki je žival napotil, smo vprašali, kako so rane predhodno oskrbeli in s čim so zdravili žival preden so jo referirali na Kliniko za kirurgijo in male živali. Odgovore smo vpisali v obrazec Ocena rane (Priloga 1). Upoštevali smo vključitvene in izključitvene dejavnike, ki so določali ali je žival lahko vključena v študijo ali ne. Lastniku smo razložili dobrobiti, tveganja in nevšečnosti, ki bi jim utegnila biti podvržena žival, ki je vključena v študijo. Lastnik je prostovoljno in obveščeno pristal na sodelovanje njegove živali v raziskavi in se tudi strinjal, da se v raziskovalne namene uporabijo podatki o živali in celjenju rane (brisi ran, pH meritve, meritve velikosti in slike ran), pridobljeni med zdravljenjem. Lastnik je podpisal soglasje o sodelovanju (Priloga 2).

3.1 VKLJUČITVENI IN IZKLJUČITVENI DEJAVNIKI RAZISKAVE

V raziskavo smo vključili pse in mačke (Tabela 4) z:

- raztrganinami, udarninami in lacerokontznimi ranami, kjer primarno celjenje ni bilo mogoče (1 pes, 3 mački), (Priloga 4, Slika 28 in 30),
- stružnimi ranami na distalnih delih okončin (1 pes), (Priloga 4, Slika 26),
- opeklinami (1 mačka), (Priloga 4, Slika 27),
- odrgninami (1 pes in 1 mačka), (Priloga 4, Slika 25 in 31),
- ugriznimi ranami (1 mačka), (Slika 2)

- ranami po kirurškem posegu, ki so se razprle (dehiscenca rane) ali zdravile *per secundam* (ekscizijska rana, po relaksacijski inciziji) (3 psi) (Priloga 4, Slika 33)
- idiopatskimi ranami (2 mački) (Priloga 4, Slika 29 in 32).

V raziskavo nismo vključili živali, ki so imele:

- rane, ki se lahko zacelijo primarno,
- primarno bolezen motnje celjenja ran,
- nekontaminirane oziroma sterilne rane,
- rane, ki kljub predhodnim zdravljenem z lokalnim antiseptikom, niso bile sterilne,
- če lastnik ni podpisal soglasja za sodelovanje v raziskavi.

3.2 PROTOKOL ZDRAVLJENJA RAN

- iz rane vzamemo bris za bakteriološko preiskavo (dan 0, 3. in 7. dan),
- v rani izmerimo pH (dan 0, 3., 7., 14., 21. in 28. dan),
- rano zaščitimo s sterilnim zložencem,
- okolico rane obrijemo in rano speremo s fiziološko raztopino,
- po potrebi rano kirurško obdelamo,
- rano speremo s fiziološko raztopino,
- rano posušimo s sterilnimi zloženci,
- zmerimo velikost rane in jo slikamo (dan 0, 3., 7., 14., 21. in 28. dan oziroma 1 krat tedensko do zacelitve rane),
- rano ocenimo glede na nekrozo, krasto, hipergranulacijo, vonj, eksudat in vrsto tkiv, ki so prizadeta (dan 0, 3., 7., 14., 21. in 28. dan),
- na rano namestimo obvezno 1 (dnevno od dneva 0 do vključno 6. dne),
- na rano namestimo obvezno 2 (vsak 3. dan od 7. dne do zacelitve).

3.2.1 ODVZEM BRISOV ZA MIKROBIOLOŠKO PREISKAVO

Dan, ko je bila žival vključena v raziskavo, smo določili kot dan 0. Iz vsake rane smo pred začetkom obdelave rane s sterilno vatenko vzeli bris za mikrobiološko preiskavo. Brise iz ran smo jemali po angleških priporočilih za mikrobiološke preiskave ran (Microbiology Services,

PHE, 2014). S sterilno vatirano palčko smo vzeli bris iz dela rane, kjer je bil prisoten gnoj ali eksudat. Kadar je bilo eksudata zelo malo, smo bris dali v transportno gojišče (Tube with transport media, Deltalab, Španija) in s tem preprečili izsušitev vzorca med transportom. Brise za mikrobiološko preiskavo smo vzeli 0., 3. in 7. dan. Pri živalih številka 2, 4, 6, 12 in 13 smo brise za mikrobiološko preiskavo vzeli še 14. in 21. dan. Bris smo ustrezno označili in izpolnili spremni dopis za mikrobiološki laboratorij. Če je bila rana globoka, smo vzeli vzorec iz globine rane in takoj poskrbeli za anaerobno atmosfero. Uporabili smo komercialne komplete GENbag za anaerobno atmosfero (BioMerieux, Lyon, Francija). Komplet je sestavljen iz posebne vrečke in generatorja s posebno snovjo, ki ob odprtju začne porabljati kisik in ustvari anaerobne pogoje. Vrečko smo takoj neprodušno zaprli s posebno sponko in tako onemogočili dostop zraka do odvzetega brisa. Kadar vzorca ni bilo možno dostaviti v laboratorij isti dan, smo ga shranili v transportno gojišče in ga hranili v hladilniku do največ 24 ur.

3.2.2 MERJENJE pH VREDNOSTI

Po odvzemu brisov smo izmerili pH vrednost eksudata rane z indikatorskimi lističi (pH-Fix 0 – 14, Macherey – Nagel GmbH&Co KG, Nemčija). Listič smo položili na rano na več mestih, tako da se je napojil z eksudatom rane. Barva pH lističa se je spremenila, primerjali smo jo s priloženo barvno skalo v razponu vrednosti od 0 do 14. pH smo merili 0., 3., 7., 14., 21. in 28. dan oziroma do prenehanja izločanja eksudata, ker se pH vrednost na suhem lističu ne da odčitati.

3.2.3 OBDELAVA RANE

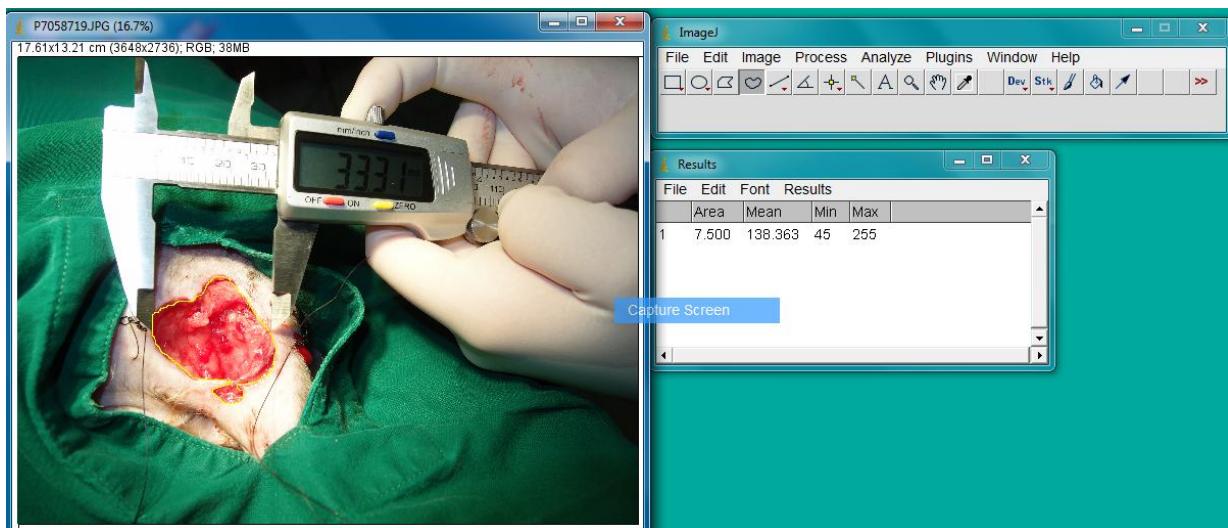
Po odvzemu brisa in merjenju pH smo rano zaščitili s sterilnim zložencem in obrili dlako okoli rane. Če je bilo potrebno, smo rano kirurško obdelali. Opravili smo nekreptomijo (odstranili nekrotično tkivo s skalpelom, škarjami ali ostro žlico), rano sprali s sterilno fiziološko raztopino (0,9 % NaCl, B Braun, Melsungen, Nemčija), jo posušili s sterilnimi zloženci in namestili obvezo 1 (od dneva sprejema - dan 0 do 6. dne) ali obvezo 2 (od 7. dne do zacetitve rane).

3.2.4 IZPIRANJE RANE

Pri previjanju rane smo pred namestitvijo obvezne rano vedno sprali s curkom sterilne fiziološke raztopine z 20 ml brizgo, na katero smo namestili iglo debeline 18G. Če je bilo še prisotno nekrotično tkivo, smo ga odstranili s sterilno pinceto ali skalpelom. Po spiranju smo rano nežno osušili s pivnanjem s sterilnimi zloženci.

3.2.5 MERJENJE VELIKOSTI RANE

Velikost rane smo merili 0., 3., 7., 14., 21. in 28. dan oziroma enkrat tedensko do zacetitve rane. Dolžino in širino rane smo merili s kljunastim merilom, vedno na istem mestu. Meritve rane s kljunastim merilom smo tudi fotografirali, da smo lahko s pomočjo programa Image J standardizirali velikost merila. Na sliki smo označili celoten rob rane s programom Image J, ki je izmeril in preračunal površino rane v cm^2 . Celjenje rane smo izrazili v odstotkih zmanjšanja rane glede na površino rane začetnega dne.



Slika 2: Meritev površin s programom Image J.

Obrisali smo rob rane. Program Image J je izmeril in preračunal površino rane v cm^2 .

3.2.6 OCENJEVANJE RANE

Rano smo ocenjevali 0., 3., 7., 14., 21., 28. dan. V rani smo s točkovanjem od 1 do 4 ocenili nekrozo, krasto, hipergranulacijo, vonj, eksudat in vrste tkiv, ki so bila prizadeta (Tabela 5). Ugotovitve smo vpisali v obrazec Ocena rane (Priloga 1).

Tabela 5: Ocenjevanje nekroze, kraste, hipergranulacije, vonja in eksudata ran ter vrste prizadetega tkiva s točkovanjem od 1 do 4.

OCENA RANE	TOČKE			
	1	2	3	4
NEKROZA	ni nekroze	nekrotičnega tkiva do 30 % površine rane	nekrotičnega tkiva med 30 in 60 % površine rane	nekrotičnega tkiva več kot 60 % površine rane
KRASTA	ni kraste	krasta prekrivala do 30 % površine rane	krasta prekriva med 30 in 60 % površine rane	krasta prekrivala več kot 60 % površine rane
HIPERGRANULACIJA	ni hipergranulacije	hipergranulacija sega nad nivo kože	hipergranulacija sega nad nivo kože ter čez rob rane	
VONJ	rana brez vonja	neprijeten vonj rane	rana zaudarja	rana zelo zaudarja
EKSUDAT	ni eksudata, obveza je suha	malo eksudata (vlažna obveza), 25 % obvezne napojene z eksudatom	srednje veliko eksudata (mokra obveza), 25 – 75 % obvezne napojene z eksudatom	obilen eksudat (prepojena obveza)
VRSTA TKIVA	prizadeta samo koža	prizadeta koža in podkožje	prizadeta koža, podkožje in mišice	prizadeta koža, podkožje, mišice, kisti in kosti

3.2.7 OBVEZA

Vse rane smo zaščitili z obvezo 1, in sicer od dne 0 do 6. dne zdravljenja, z obvezo 2 pa od 7. dne do zacelitve rane.

3.2.7.1 Obveza 1

Na očiščeno in sprano rano smo s sterilnim loparčkom nanesli medicinski med, L – Mesitran® Soft, tako, da je bila prekrita cela rana in še 1 cm nepoškodovane kože okoli rane. Rano smo prekrili z Melolin® oblogo (Smith & Nephew Medical Limited, Hull, Anglija), ki je predstavljala primarno plast obveze. Melolin® oblogo sestavlja tri plasti, in sicer perforirani film, ki se ne prilepi na rano, visoko vpojna poliestersko bombažna blazinica in hidrofobna zunanja plast.

Sekundarna plast obveze je bila iz sterilnih zložencev in vate Soffban® Natural (BSN medical, Inc., Charlotte, ZDA). Soffban® je mehka, vpojna obveza, ki dobro absorbira tekočino in se uporablja kot zaščita pri imobilizaciji.

Terciarna plast obveze je bila iz Cobana™ (3M, St.Paul, ZDA). Coban™ je samooprjemajoči elastični trak, ki deluje kot navaden povoj, a se hkrati tudi odlično oprijema sam nase.

Obvezo 1 smo menjali enkrat dnevno od dne 0 do vključno 6. dne.

3.2.7.2 Obveza 2

Od 7. dne dalje smo na očiščeno rano s sterilnim loparčkom nanesli L-Mesitran® Soft in ga prekrili z mrežico L-Mesitran® Tulle (Theo Manufacturing, Maastricht, Nizozemska). L-Mesitran® Tulle je neadherentna polietilenska obloga, prezeta z L-Mesitran® Soft gelom. Na mrežico L-Mesitran® Tulle smo namestili Melolin® oblogo, sterilne zložence, nato pa še vato (Soffban®) in povoj (Coban™). Obvezo smo menjali vsak tretji dan ozioroma pri psici (primer 9) enkrat tedensko od 23. dneva dalje, saj jo je bilo potrebno zaradi agresivnosti vsakič pomiriti.

3.3 MIKROBIOLOŠKA PREISKAVA

V laboratoriju smo brise cepili na ustrezna gojišča za mikrobiološko preiskavo in naredili razmaze ter jih pobarvali po Gramu (Gram-color stain set, Merck, Nemčija). Z mikroskopsko preiskavo smo ugotavljali prisotnost bakterij, njihovo obliko (paličke, koki), približno velikost, način obarvanja (po Gramu pozitivne, po Gramu negativne), morebitne posebne strukture (kapsule, spore) in medsebojni položaj bakterij (verige, gruče, palisade itd.).

Bris rane na dan 0 smo cepili na dve plošči krvnega agarja za aerobno in anaerobno preiskavo in na komercialno pripravljeni diferencialno gojišče UriSelect™ 4, (Bio Rad, Kalifornija, ZDA). Kulture smo inkubirali 24–48 ur pri 37 °C.

Če je bil rezultat prve preiskave v anaerobnih pogojih negativen in je rana ostala površinska, pri naslednjih vzorcih anaerobne preiskave nismo opravili. Agar UriSelect™ 4 smo uporabili

za lažje določanje bakterij na osnovi značilnega obarvanja kolonij zaradi posebnih biokemijskih lastnosti.

Po 24-ih oziroma po 48-ih urah smo porasle kolonije identificirali na podlagi značilnih lastnosti kolonij (oblika, barva, velikost, vonj) in z mikroskopsko preiskavo posameznih kolonij (barvanje po Gramu). Bakterij, ki jih s pomočjo morfoloških metod nismo identificirali, smo determinirali s pomočjo dodatnih testov. Po Gramu pozitivne koke smo na osnovi katalaznega testa ločili na stafilokoke (katalaza pozitivni) in streptokoke oz. enterokoke (katalaza negativni). Končno identifikacijo smo opravili s pomočjo komercialnih biokemijskih setov (Api Staph, Api Strep, BioMerieux, Francija). Stafilokoke smo na osnovi encima koagulaze ločili na koagulazno pozitivne in koagulazno negativne. Po Gramu negativne paličke smo na podlagi oksidaznega testa preliminarno ločili na enterobakterije (oksidaza negativni) in neenterobakterije (oksidaza pozitivne). Končno identifikacijo smo opravili z dodatnimi biokemijskimi testi in s pomočjo komercialnih biokemijskih setov (Api 20E, Api 20NE, BioMerieux, Francija). Ostale bakterije smo identificirali na podlagi klasične biokemijske preiskave.

3.4 MEDIKAMENTNO ZDRAVLJENJE ŽIVALI

Nekatere živali so ob oskrbi ran prejemale sistemsko protimikrobnia in protibolečinska zdravila. Pri začetni oskrbi rane so bile skoraj vse živali anestezirane. Živali številka 9 smo morali zaradi agresije sedirati ob vsaki menjavi obvezne. Zdravila in način dajanja pa je razviden iz tabele 6.

Tabela 6: Protimikrobnlo zdravljenje, analgezija in anestezija pri živalih.

Številka živali	Zdravljenje pred vključitvijo v raziskavo	Protimikrobnlo zdravljenje	Analgetiki	Sedacija in/ali anestezija
1	- ENR 7 dni, - MELOK 7 dni - obveza z jodom 1 dan	- ENR 3 dni, - SYN 7 dni, - GENT 3 dni	- TRAM 4 dni, - MELOKS 1 dan	/
2	- SYN 7 dni - obveza MNS 1 dan	- SYN 3 dni	- MELOKS - MET - FENT	- KET - MED in ATIPA - SEVO
3	/	- SYN 3 dni	- MELOKS 4 dni	- KET - MED in ATIPA
5	/	/	/	sedacija od 1. do 7.dne: - KET - MED in ATIPA
6	- CONV - MELOKS - obveza z jodom 6 dni	/	- TRAM 4 dni - MELOKS	-KET - MED in ATIPA - SEVO
7	/	- CONV	- MELOKS 4 dni, - FENT	-KET - MED in ATIPA
8	- SYN 6 dni - ENR 1 dan	- SYN 5dni	- MELOKS 1x	sedacija na dan 0: - KET, - MED in ATIPA
9	- RIM 1 dan	/	- MORF - RIM 12 dni - TRAM	anestezija na dan 0: - MED in ATIPA - PROP - SEVO sedacija od 2. do 57. dne, ob menjavi obvez, 13x: - MED in ATIPA sedacija od 28.do 57.dne, ob menjavi obvez, 5x: - MED in ATIPA - MIDA
10	- METIL 2 dni - ENR 2 dni	- ENR 2dni	- BUT - MORF - RIM 3 dni	- MIDA - PROP - ISO
11	/	/	- MORF - RIM 5 dni	anestezija 0. dan: - PROP - SEVO
14	- SYN - EFL	- SYN 3 dni - EFL 3 dni	- RIM 8 dni - FENT - MORF	anestezija na dan 0: - MIDA - PROP - SEVO - KET

Legenda:

ATIPA – atipamezol (Antisedan®, Orion Corporation Orionintie, Espoo, Finska) 0,04 - 0,1 ml/kg t.t., 1x, i/m.

BUT – butorfanol (Butomidor® Richter Pharma AG, Wels, Avstrija) 0,2 mg/kg t.t. 1x, i/v.

CONV – cefovecin (Convenia®, Pfizer Italija, Latina, Italija) 8 mg/kg t.t., 1x, s/c.

EFL - metronidazol (Efloran®, Krka, Novo mesto, Slovenija) 18 mg/kg t.t., 1x/dan, s/c.

- ENR** – enrofloksacin (Enroxil®, Krka, Novo mesto, Slovenija) 5 mg/kg t.t., 1x/dan, p/o.
FENT – fentanil (Durogesic®, Janssen Pharmaceutica N.V., Beerse, Belgija) 2,0-3,5 µg/kg t.t./h.
GENT – gentamcin (Gentamicin®, Krka, Novo mesto, Slovenija) 4,0 mg/kg t.t., 1x/dan, i/m.
ISO – izofluran (Forane® Abbott Laboratories, Illinois, ZDA) 2,7 - 3,0 vol.%
KET – ketamin (Bioketan®, Vetoquinol Biowet, Gorzow, Poljska) 0,5-5 mg/kg t.t., 1x, i/m.
MED – medetomidin (Domitor®, Orion Corporation Orionintie, Espoo, Finska) 0,01-0,06 mg /kg t.t., 1x, i/m.
MELOKS – meloksikam (Loxicom®, Norbrook Laboratories Limited Station Works, Co.Down, UK) 0,1 mg/kg t.t., 1x, s/c.
MET – metadon (Heptanon®, Pliva, Zagreb, Hrvaška) 0,25 mg/kg t.t., 1x, s/c.
METIL – metilprednizolon (Medrol® Pfizer, Sarl, Luksemburg) 2 mg/kg, 1x/dan, p/o.
MIDA – midazolam (Midazolam Torrex®, Chiesi Pharmaceuticals GmbH, Dunaj, Avstrija) 0,1 mg/kg t.t., 1x, i/v.
MORF – morfij (Morfin Alkaloid®, Alkaloid, Skopje, Makedonija) 0,2-0,3 mg/kg t.t., 1x, s/c.
PROP – propofol (Norofol®, Norbrook Laboratories Limited Station Works, Co.Down, UK) 1,0 - 3,0 mg/kg t.t., 1x, i/v.
RIM - karprofen (Rimadyl®, Pfizer Animal Health S.A. Louvain-la-Neuve, Belgija) 1,5-2,5 mg/kg t.t., 1 x/dan, p/o.
SEVO – sevofluran (Sevorane®, Abbott, Laboratories, Illinois, ZDA) 1,3 - 2,7 vol.%.
SYN – amoksicilin in klavulanska kislina (Synulox®, Pfizer Italiana, Latina, Italija) 17,5-22 mg/kg t.t., 2x/dan, p/o.
TRAM – tramadol (Tramal®, Grünenthal GmbH, Aachen, Nemčija) 2,0-5,0 mg/kg t.t., 2x/dan, s/c.

3.5 STATISTIČNO VREDNOTENJE REZULTATOV - ANALIZA PREŽIVETJA

Rezultate časa celjenja ran pri mačkah in psih glede na različne kategorije ocene prizadetega tkiva ran smo prikazali tudi z analizo preživetja (survival analysis).

Pri tej analizi smo osredotočeni na čas (»preživitveni čas«), ki je potreben, da se določen dogodek pri individualnem osebku zgodi ali pa ne (Petrie in Watson, 1999). V našem primeru tako imenovani preživitveni čas predstavlja čas celjenja rane. V primeru, ko se rana zaceli, se dogodek konča uspešno, v primeru, ko po končanem času sledenja uspešnosti celjenja rane ne bi bila zaceljenja, pa dogodek ni dosežen, kar označujemo kot »censored data«. V naši raziskavi so bile po 107 dnevih vse rane zaceljene, zato nismo imeli »censored data«.

Krivulje preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi predstavljajo graf verjetnosti preživetja v odvisnosti od začetka sledenja nekega dogodka. V našem primeru smo grafe predstavili v obliki funkcije »1-preživetje«, ker smo na ta način lahko predstavili delež zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja.

Razlike med krivuljami smo ovrednotili z LogRank statističnim testom za krivulje preživetja, pri čemer $P < 0,05$ označuje statistično značilno razliko med primerjanimi krivuljami preživetja.

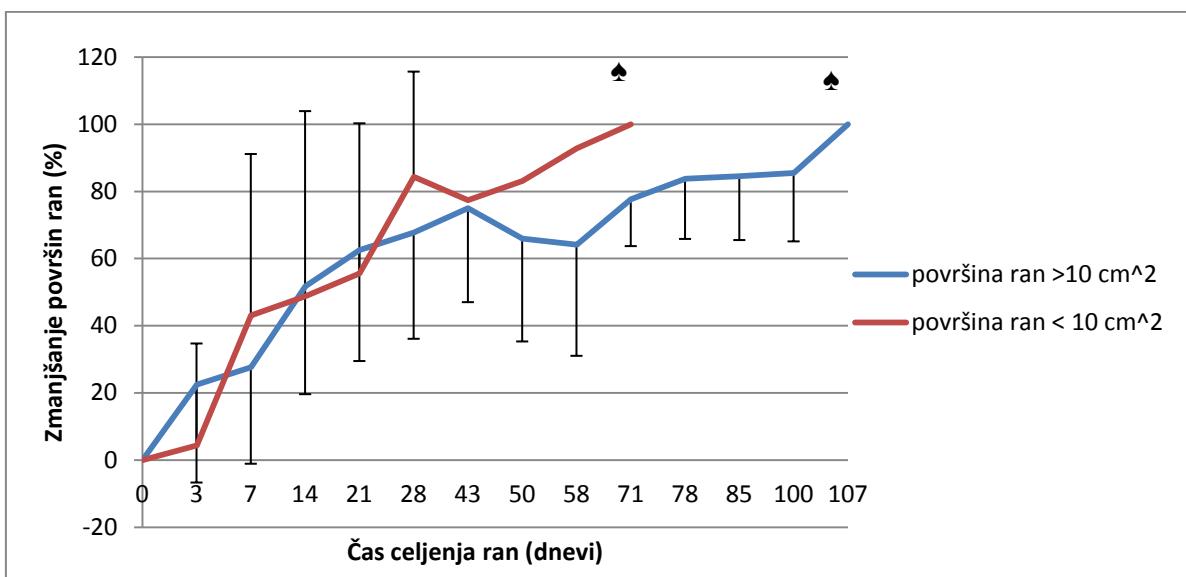
Analize preživetja smo izvedli s pomočjo računalniškega programa IBM SPSS Statistics 17.0.

4 REZULTATI

4.1 CELJENJE RAN

4.1.1 ZMANJŠANJE POVRŠIN RAN

4.1.1.1 Zmanjšanje površin ran glede na velikost ran po dnevih pri mačkah



Slika 3: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran po dnevih pri mačkah.

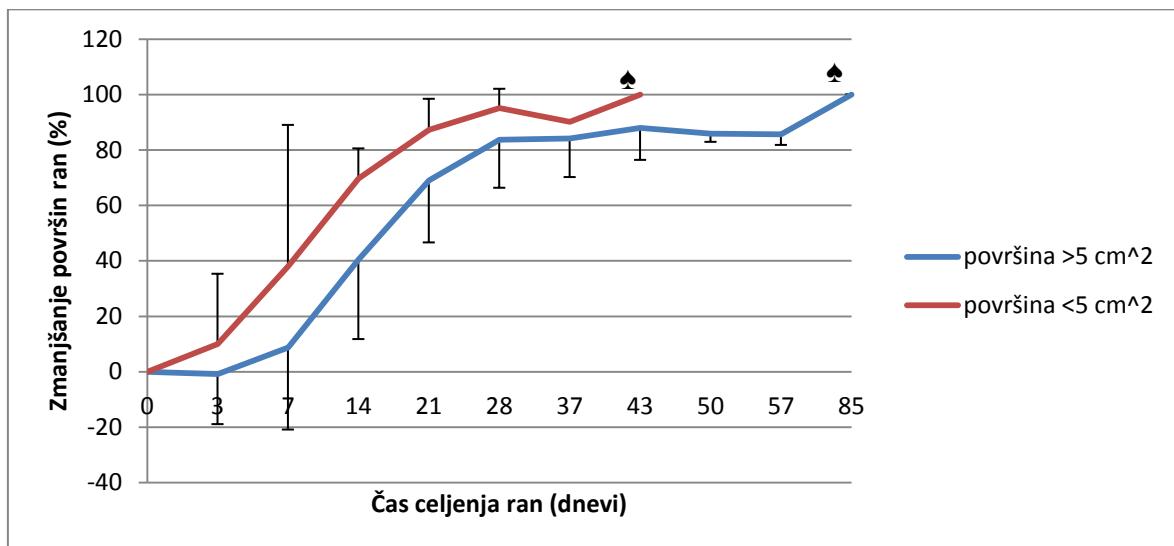
♣ Pri ranah, ki so manjše od 10 cm^2 , standardni odklon od 43. dneva ni prikazan, ker se je od 37. dne dalje celila samo ena rana. Pri ranah, ki so večje od 10 cm^2 , standardni odklon pri 107. dnevu ni prikazan, ker se je takrat zacelila samo ena rana. (Priloga 3, Tabela 9).

*Zaradi preglednosti je standardni odklon označen samo spodaj (površina ran $> 10 \text{ cm}^2$) oziroma zgoraj (površina ran $< 10 \text{ cm}^2$).

Rane pri mačkah, ki so bile večje od 10 cm^2 ($N = 4$), so bile najkasneje zaceljene 107. dan ($N = 1$), najhitreje pa 37. dan ($N = 1$). Medtem ko so bile rane s površino manjše od 10 cm^2 ($N = 7$), najkasneje zaceljene 71. dan ($N = 1$), najhitreje pa 7. dan ($N = 1$). Vse rane, s površino manjšo od 10 cm^2 in večje od 10 cm^2 , so se do 21. dne zmanjšale za 60 % (Slika 3).

Za posamezno rano pri mačkah je zmanjšanje površine rane po dnevih razvidno v Prilogi 3 (Tabela 9).

4.1.1.2 Zmanjšanje površin ran glede na velikost po dnevih pri psih



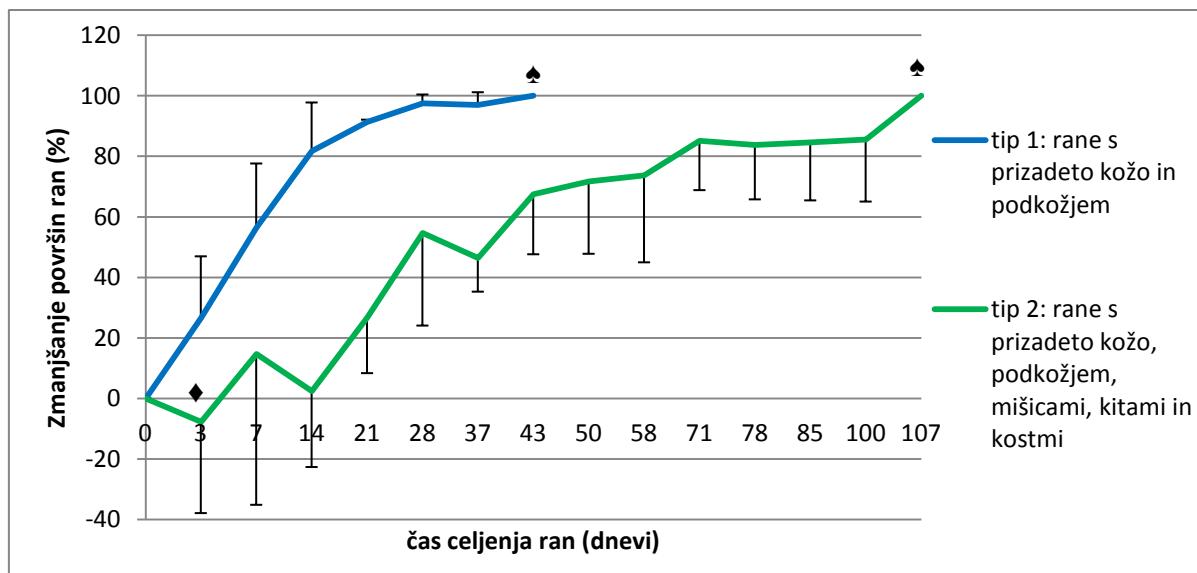
Slika 4: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran po dnevih pri psih.

♣ Pri ranah, ki so manjše od 5 cm^2 , standardni odklon od 37. dneva ni prikazan, ker se je od 28. dne dalje celila samo ena rana. Pri ranah, ki so večje od 5 cm^2 , standardni odklon pri 85. dnevu ni prikazan, ker sta se takrat zacelili obe rani. (Priloga 3, Tabela 10).

* Zaradi preglednosti je standardni odklon označen samo spodaj (površina ran $> 5 \text{ cm}^2$) oziroma zgoraj (površina ran $< 5 \text{ cm}^2$).

Rane pri psih, ki so bile večje od 5 cm^2 ($N = 7$), so bile najkasneje zaceljene 85. dan ($N = 2$), najhitreje pa 28. dan ($N = 3$), medtem ko so bile rane s površino manjše od 5 cm^2 ($N = 4$), najkasneje zaceljene 43. dan ($N = 1$), najhitreje pa 7. dan ($N = 1$). Do 21. dne so se rane, ki so bile manjše kot 5 cm^2 zmanjšale za 87 %, rane, ki so bile večje kot 5 cm^2 pa so se zmanjšale za 69 % (Slika 4). Za posamezno rano pri psih je zmanjšanje površine rane razvidno v Prilogi 3 (Tabela 10).

4.1.1.3 Zmanjšanje površin ran glede na prizadeto tkivo pri mačkah



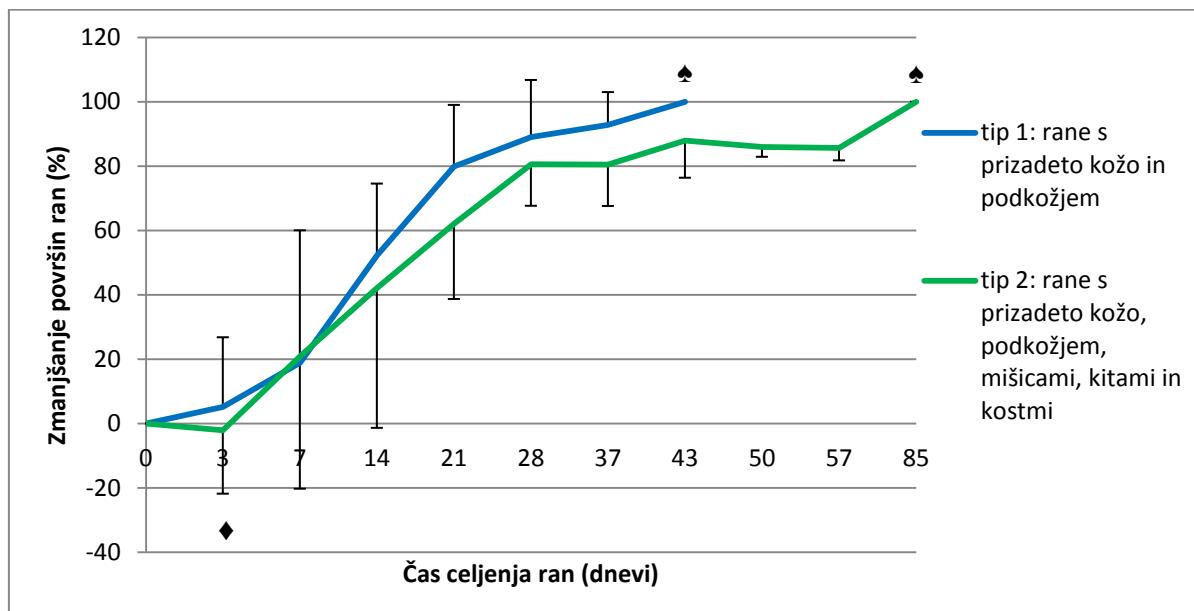
Slika 5: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran glede na prizadeto tkivo po dnevih pri mačkah.

- ♦ Površina rani tipa 2 se je do tretjega dne povečala, medtem ko se je površina rani tipa 1 pri vseh meritvah zmanjševala.
- ♠ Standardni odklon pri ranih tipa 1 (43. dan) in pri ranih tipa 2 (107. dan) ni prikazan, ker se je takrat zacelila samo ena rana (Priloga 3, Tabela 11).

*Zaradi preglednosti je standardni odklon označen samo spodaj (tip 2) oziroma zgoraj (tip 1).

Rane tipa 1 ($N = 6$) so se pri mačkah najhitreje zacelile 14. dan ($N = 1$), najkasneje pa 43. dan ($N = 2$). Rane tipa 2 ($N = 5$) so se najhitreje zacelile 7. dan ($N = 1$) in najkasneje 107. dan ($N = 1$) (Slika 5). Za posamezno rano pri mačkah je delež zmanjšanja površine rane glede na prizadeto tkivo po dnevih razviden v Prilogi 3 (Tabela 11).

4.1.1.4 Zmanjšanje površin ran glede na prizadeto tkivo pri psih



Slika 6: Povprečne vrednosti in standardni odkloni deleža zmanjšanja površin ran glede na prizadeto tkivo po dnevih pri psih.

- ♦ Površina ran tipa 2 se je do tretjega dne povečala, medtem ko se je površina ran tipa 1 pri vseh meritvah zmanjševala.
- ♠ Standardni odklon pri ranah tipa 1 (43. dan) in pri ranah tipa 2 (85. dan) ni prikazan, ker je enak 0.

*Zaradi preglednosti je standardni odklon označen samo spodaj (tip 2) oziroma zgoraj (tip 1).

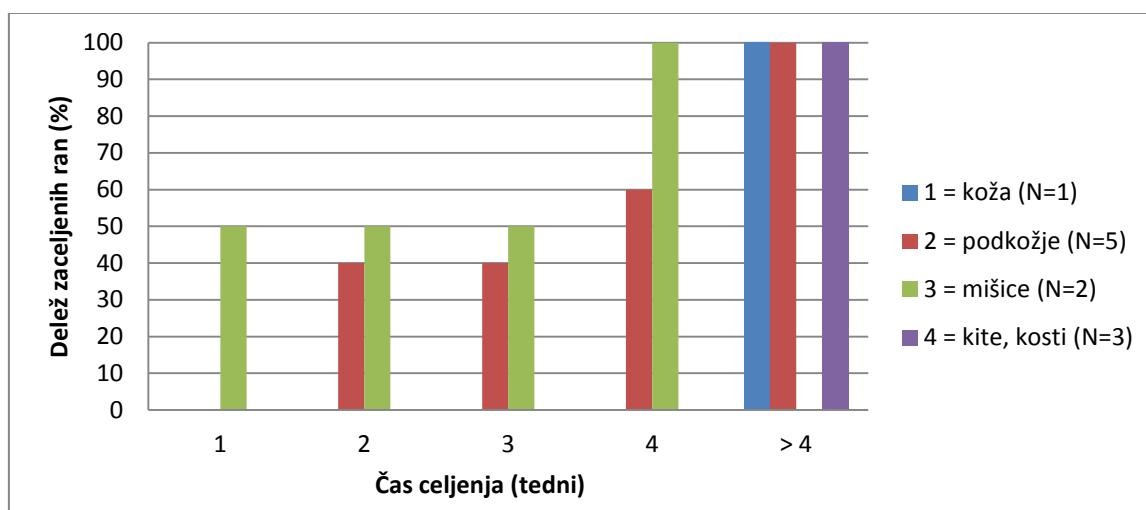
Rane tipa 1 ($N = 8$) so se pri psih zacelile najhitreje 7. dan ($N = 1$), najkasneje pa 43. dan ($N = 1$). Rane tipa 2 ($N = 3$) so se najhitreje zacelile 43. dan in najkasneje 85. dan ($N = 2$) (Slika 6).

Za posamezno rano pri psih je delež zmanjšanja površine rane glede na prizadeto tkivo po dnevih razviden v Prilogi 3 (Tabela 12).

4.2 OCENA RANE

4.2.1 DELEŽ ZACELJENIH RAN GLEDE NA PRIZADETO TKIVO NA DAN 0

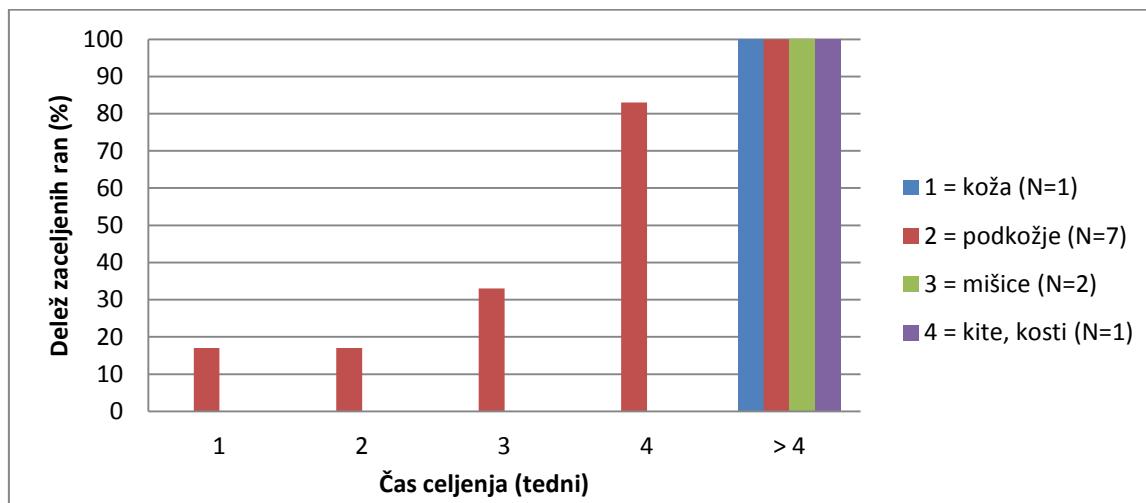
4.2.1.1 Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 pri mačkah



Slika 7: Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 v tednih pri mačkah (N = 11).

Rani, ki sta segali do mišic ($N = 2$), sta se zacelili v prvem in četrtem tednu, rane, ki so segale do podkožja ($N = 5$), so se zacelile v drugem tednu ($N = 2$), četrtem tednu ($N = 1$) in po četrtem tednu ($N = 2$). Rane, ki so imele prizadeto samo kožo ($N = 1$) in rane, ki so segale do kit in kosti ($N = 3$), so se zacelile po četrtem tednu (Slika 7).

4.2.1.2 Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 pri psih

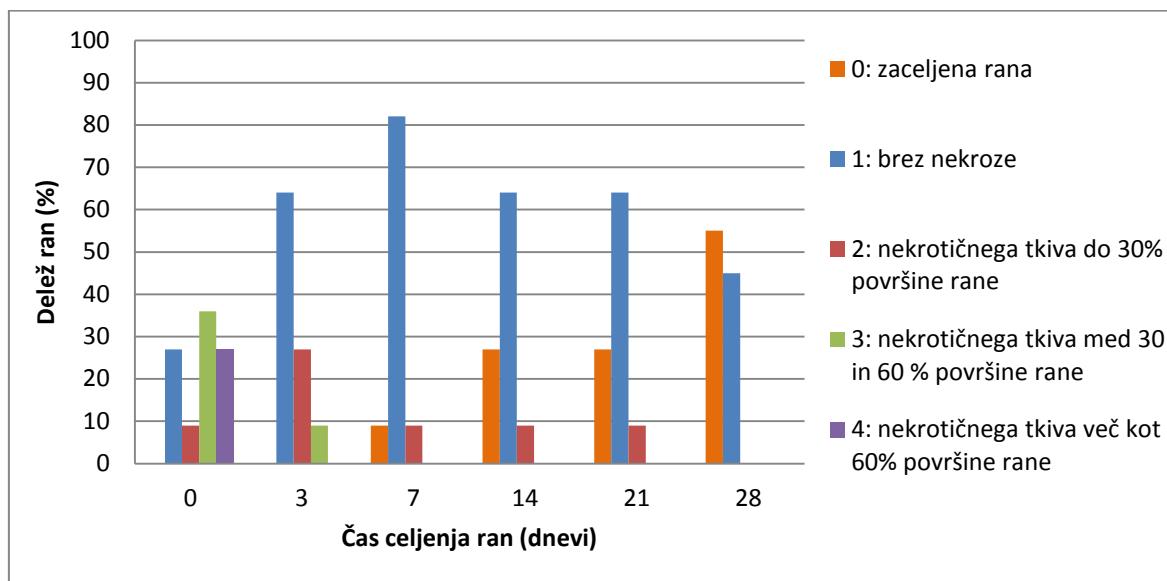


Slika 8: Delež zaceljenih ran glede na prizadeto tkivo na dan 0 v tednih pri psih (N = 11).

Rane, ki so segale v podkožje ($N = 7$), so se zacelile v prvem ($N = 1$), tretjem ($N = 1$) in četrtem ($N = 4$) tednu. Vse ostale rane so se zacelile po četrtem tednu (Slika 8).

4.2.2 DELEŽ RAN GLEDE NA STOPNJO NEKROZE

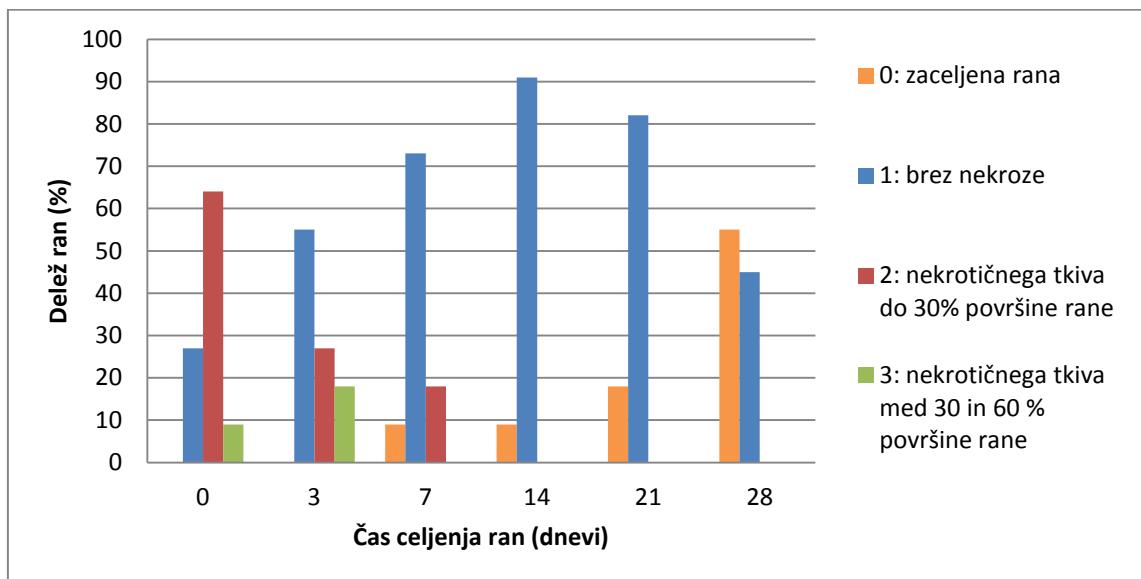
4.2.2.1 Delež ran glede na stopnjo nekroze pri mačkah



Slika 9: Delež ran glede na stopnjo nekroze po dnevih pri mačkah (N = 11).

Več kot polovica ran (N = 6) pri mačkah je imela na dan 0 več kot 30 % površine rane nekrotične, od tega 27 % ran več kot 60 % površine. Od sedmega do enaindvajsetega dne je bila nekroza prisotna samo pri eni rani. Osemindvajseti dan ni bila nobena rana nekrotična (Slika 9).

4.2.2.2 Delež ran glede na stopnjo nekroze pri psih

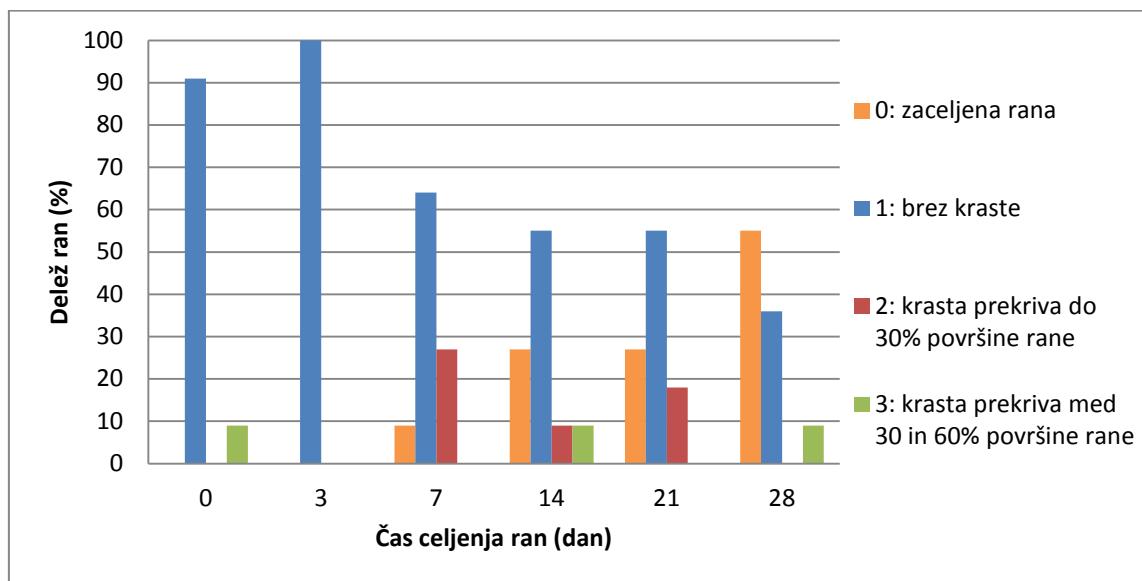


Slika 10: Delež ran glede na stopnjo nekroze po dnevih pri psih (N = 11).

Več kot polovica ran (N = 7) pri psih je imela na dan 0 prisotno nekrozo, od tega je imela ena rana več kot 30 % površine nekrotične. Sedmi dan sta imeli dve rani do 30 % površine nekrotične. Od 14. dne dalje ni bila nobena rana nekrotična (Slika 10).

4.2.3 DELEŽ RAN GLEDE NA POVRŠINO KRASTE NA RANI

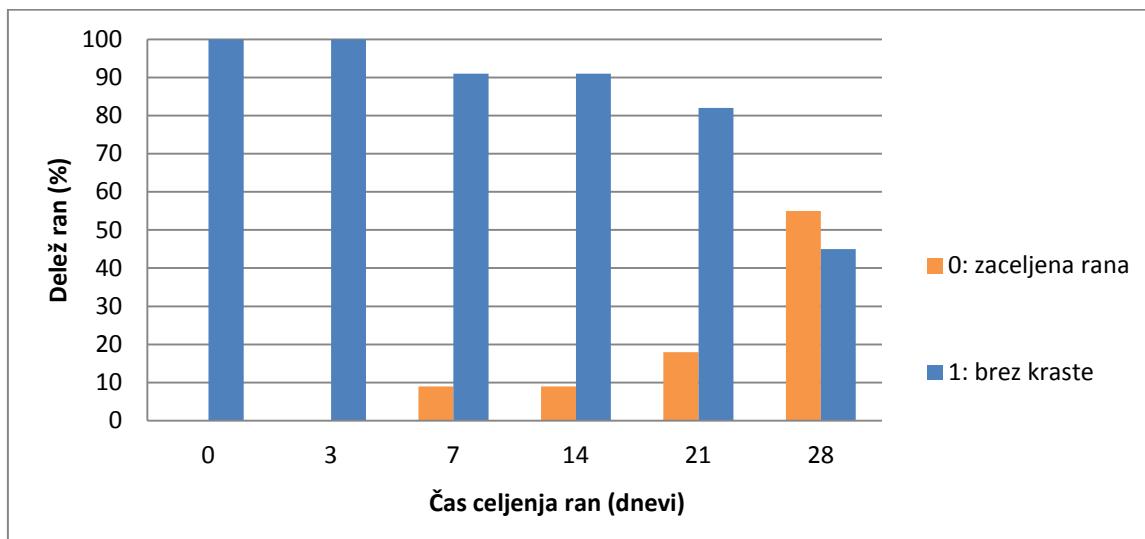
4.2.3.1 Delež ran glede na površino kraste na rani pri mačkah



Slika 11: Delež ran glede na površino kraste na rani po dnevih pri mačkah (N = 11).

Na dan 0 je bila krasta, ki je prekrivala od 30 do 60 % površine rane, pri mačkah prisotna pri 9 % ran. Sedmi, štirinajsti in enaindvajseti dan je bila prisotna krasta, ki je prekrivala do 30 % površine rane, pri manj kot 27 % ran. Osemindvajseti dan so bile pri mačkah rane brez kraste (Slika 11).

4.2.3.2 Delež ran glede na površino kraste na rani pri psih

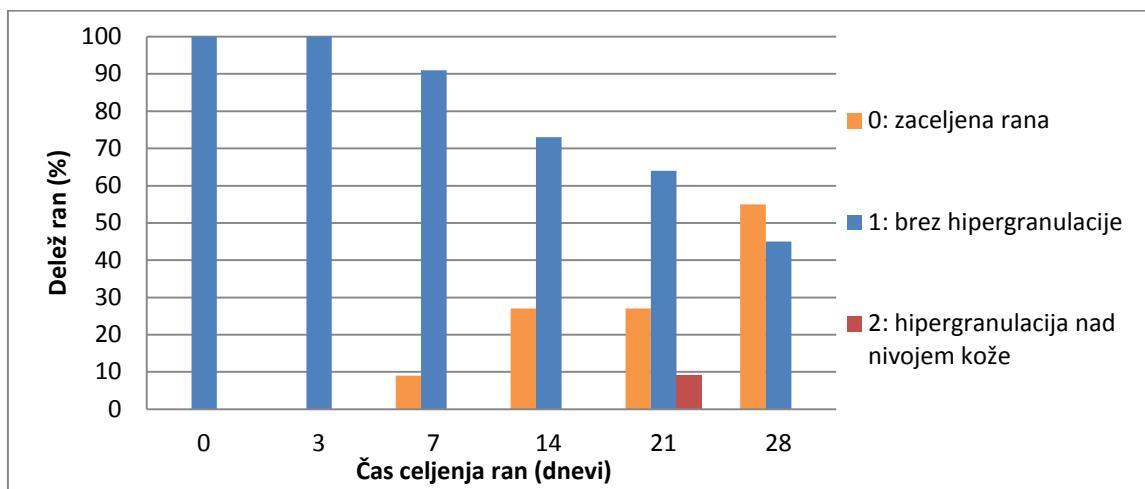


Slika 12: Delež ran glede na površino kraste na rani po dnevih pri psih (N = 11).

Pri psih so bile vse rane v vseh dneh brez kraste (Slika 12).

4.2.4 DELEŽ RAN GLEDE NA OBSEŽNOST HIPERGRANULACIJE

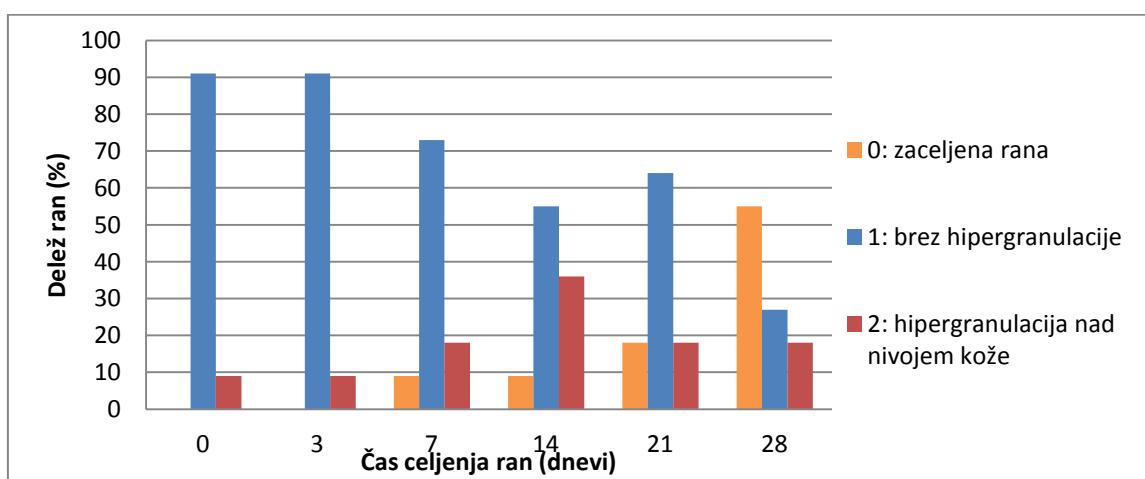
4.2.4.1 Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije pri mačkah.



Slika 13: Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije po dnevih pri mačkah (N = 11).

Pri mačkah je bila hipergranulacija, ki je segala nad nivo kože, vidna samo pri eni rani, 21. dan (Slika 13).

4.2.4.2 Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije pri psih

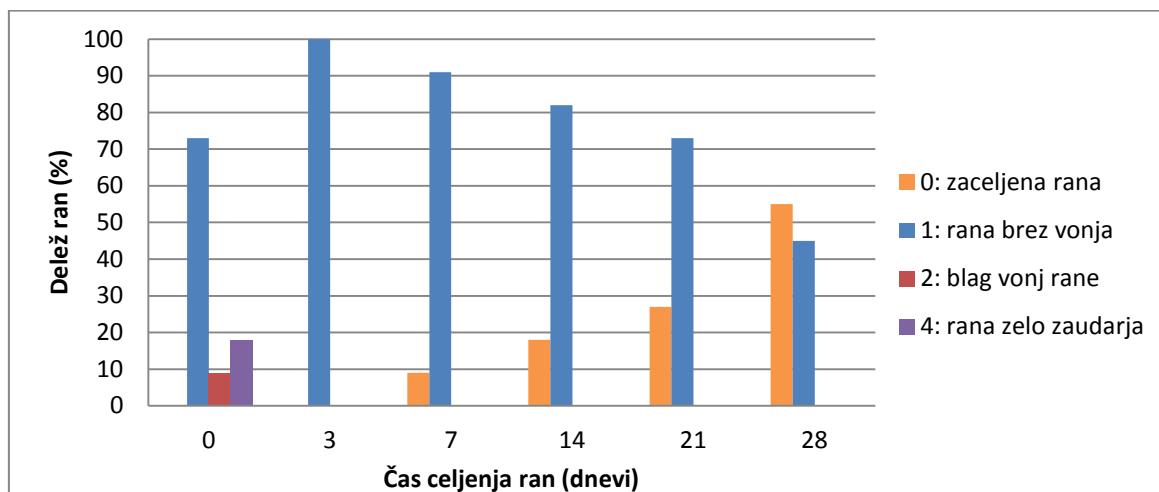


Slika 14: Delež ran glede na obsežnost hipergranulacije po dnevih pri psih (N = 11).

Hipergranulacija, ki je segala nad nivo kože, se je tekom celjenja pojavila pri šestih psih. Največ ran (N = 4) je imelo hipergranulacijo nad nivojem kože 14. dan (Slika 14).

4.2.5 DELEŽ RAN GLEDE NA VONJ RANE

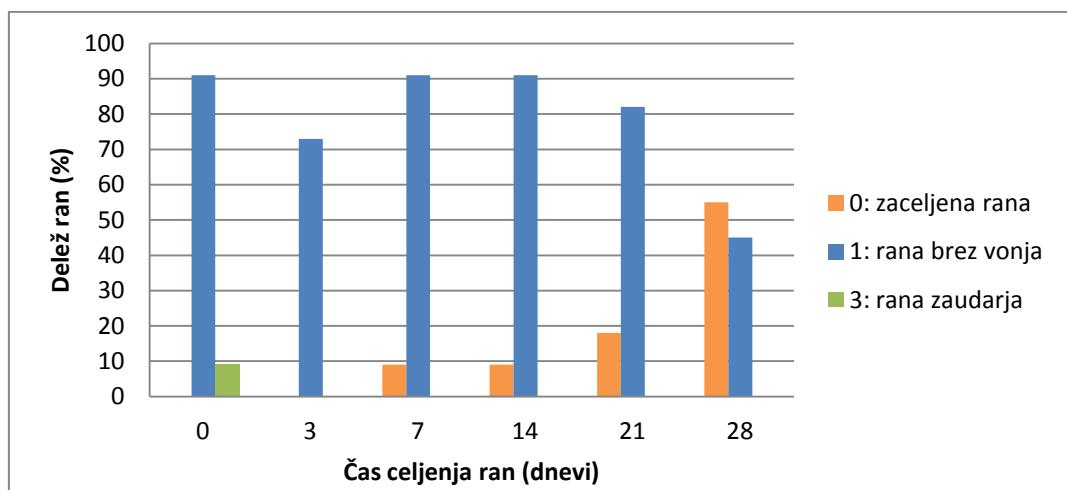
4.2.5.1 Delež ran glede na vonj rane pri mačkah



Slika 15: Delež ran glede na vonj rane po dnevih pri mačkah (N = 11).

Pri mačkah so imele rane vonj le na dan 0, in sicer 18 % ran je zelo zaudarjalo, 9 % ran pa je imelo neprijeten vonj (Slika 15).

4.2.5.2 Delež ran glede na vonj rane pri psih

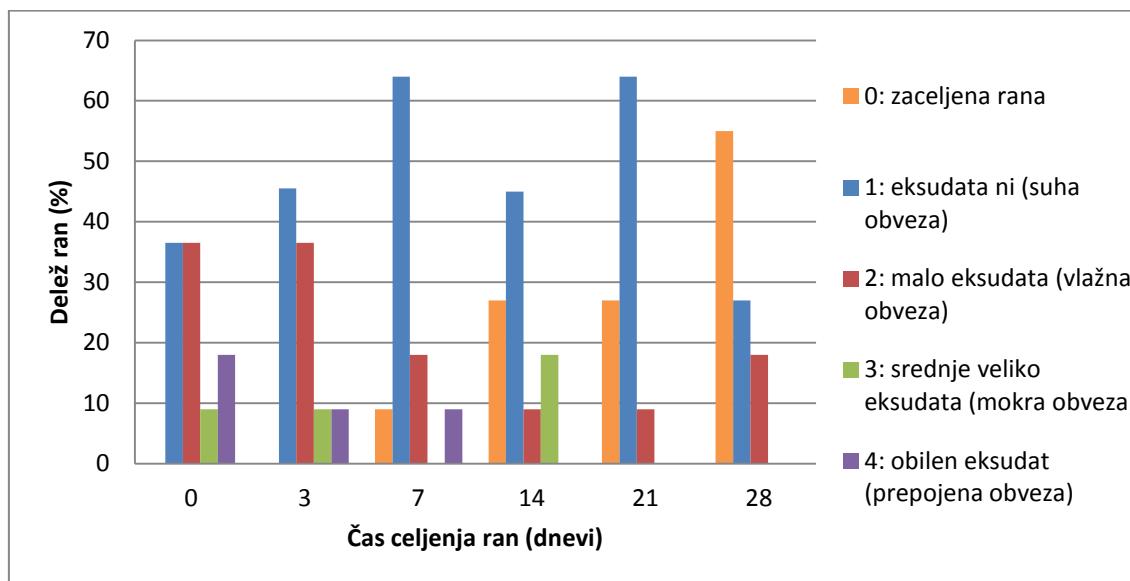


Slika 16: Delež ran glede na vonj rane po dnevih pri psih (N = 11).

Pri psih je na dan 0 ena rana zaudarjala. Od tretjega dne dalje so bile rane brez vonja (Slika 16).

4.2.6 DELEŽ RAN GLEDE NA KOLIČINO EKSUDATA

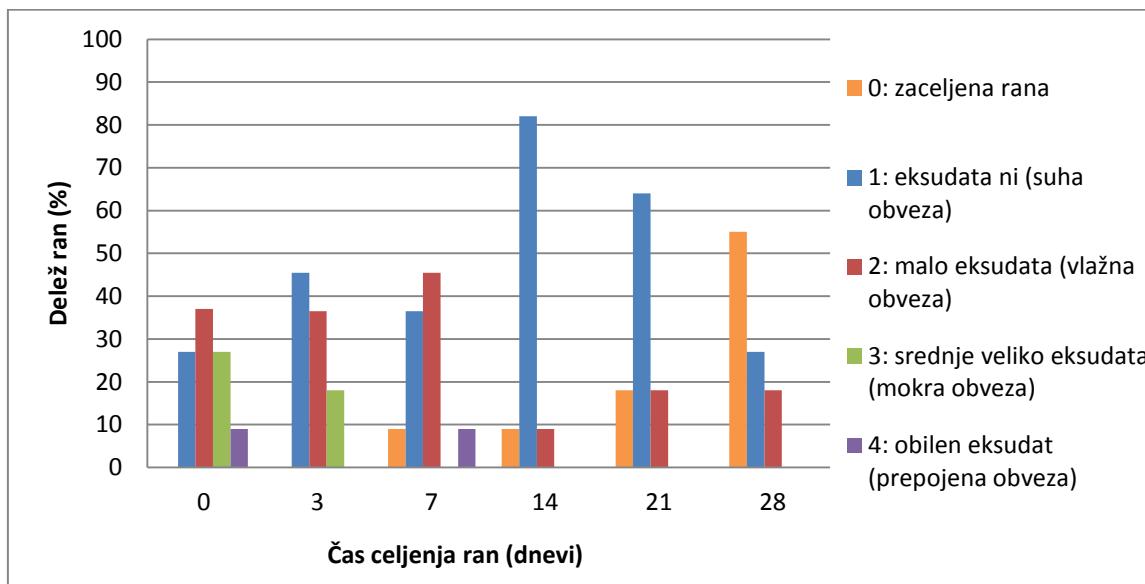
4.2.6.1 Delež ran glede na količino eksudata pri mačkah



Slika 17: Delež ran glede na količino eksudata po dnevih pri mačkah (N = 11).

Količina eksudata oziroma napojenost obvez z eksudatom pri mačkah je bila največja v prvem tednu (0., 3. in 7. dan). Na dan 0 je bilo 36,5 % ran brez eksudata, medtem ko je bilo sedmi dan 73 % ran brez eksudata, štirinajsti dan 72 %, enaindvajseti dan 91 % in osemindvajseti dan 82 % ran brez eksudata (Slika 17).

4.2.6.2 Delež ran glede na količino eksudata pri psih



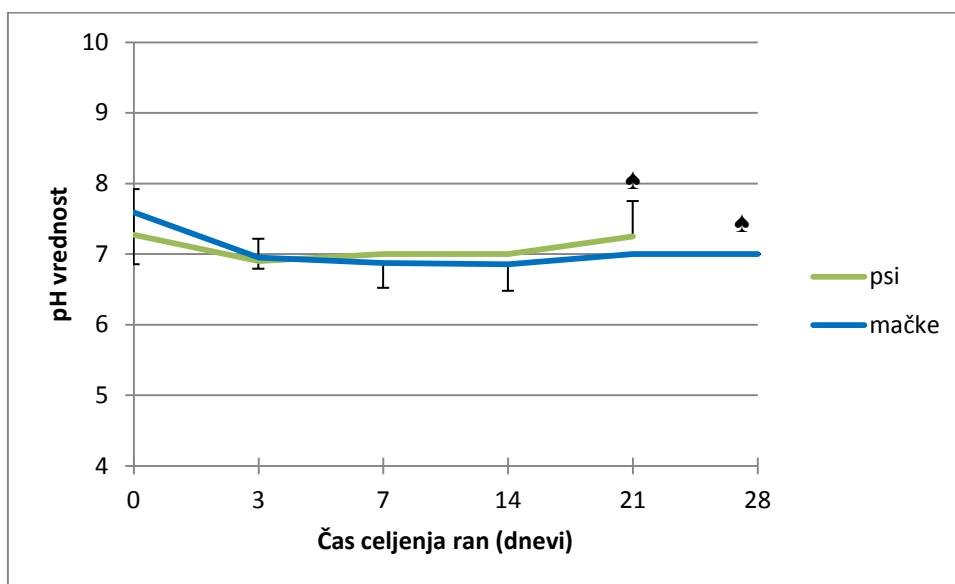
Slika 18: Delež ran glede na količino eksudata po dnevih pri psih (N = 11).

Količina eksudata oziroma napojenost obvez z eksudatom pri psih je bila največja v prvem tednu (0., 3. in 7. dan). Na dan 0 je bilo 27 % ran brez eksudata, sedmi dan 45,5 % , štirinajsti dan 91 %, enaindvajseti in osemindvajseti dan pa 82 % ran brez eksudata (Slika 18).

4.2.7 VREDNOSTI pH EKSUDATA RAN

4.2.7.1 Vrednosti pH eksudata na ranah pri psih in mačkah

Povprečne vrednosti in standardni odkloni vrednosti pH eksudata ran po dnevih pri psih in mačkah so prikazani na sliki 4.17.



Slika 19: Povprečne vrednosti in standardni odkloni vrednosti pH eksudata ran, po dnevih pri psih in mačkah.

- ♣ Pri psih 28. dan meritev pH vrednosti nismo uspeli izmeriti, ker so bile rane premalo vlažne. Standardni odklon pri psih 7. in 14. dan ni prikazan, ker je enak 0.
- ♣ Standardni odklon pri mačkah 21. in 28. dan ni prikazan, ker je enak 0.
- * Zaradi preglednosti je standardni odklon označen samo spodaj (mačke) oziroma zgoraj (psi).

Povprečna vrednost pH eksudata ran na dan 0 je bila pri mačkah 7,6 in pri psih 7,3. Tretji dan je bila povprečna vrednost pH eksudata ran pri mačkah in psih 7. Najvišja vrednost pH eksudata ran je bila pri mačkah (7,6) in psih (7,3) na dan 0, najnižja pa je bila pri mačkah 14. dan (6,9), pri psih pa tretji dan (7,0).

4.3 IZOLIRANE BAKTERIJE NA RANAH

4.3.1 IZOLIRANE BAKTERIJE NA RANAH PRI MAČKAH

Tabela 7: Izolirane bakterije iz ran pri mačkah.

MAČKE	DAN			
	RANA	0	3	7
1	<i>Enterococcus faecium,</i> <i>Staphylococcus sp.,</i> <i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterococcus faecium,</i> <i>Mucor sp.</i>	negativno	
2*	<i>Morganella morganii</i>	<i>Escherichia coli,</i> <i>Enterobacter aerogenes,</i> <i>Enterococcus sp.,</i> <i>Candida glabrata</i>	<i>Enterococcus sp.,</i> <i>Candida glabrata,</i> <i>Enterobacter aerogenes,</i> <i>Escherichia coli</i>	
3	<i>Staphylococcus sp.</i>	negativno	negativno	
4*	<i>Staphylococcus felis,</i> <i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius,</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	
5	<i>Bacillus sp.,</i> <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius,</i> <i>Streptococcus canis</i>	
6*	<i>Escherichia coli,</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
7	<i>Staphylococcus aureus,</i> <i>Streptococcus canis,</i> <i>Klebsiella pneumoniae,</i> <i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus (nehemolitični in hemolitični sev),</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	
8	negativno	<i>Staphylococcus pseudintermedius,</i> <i>Staphylococcus sp.</i>	negativno	
9	negativno	<i>Enterococcus faecalis,</i> <i>Bacillus sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	
10	negativno	negativno		
11	<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus sp.</i> <i>Enterococcus faecalis</i>		

*Rana 2: 14. dan smo izolirali *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Enterococcus sp.* in *Candida glabrata*, 21. dan smo izolirali *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus sp.*

*Rana 4: 14. dan smo izolirali *Staphylococcus pseudintermedius* in *Enterococcus sp.*, 21. dan smo izolirali *Staphylococcus sp.* in *Staphylococcus aureus*.

*Rana 6: 14. dan smo izolirali *Staphylococcus aureus*.

Iz brisa ran pri mačkah smo na dan 0 izolirali bakterije pri 72 % ran, ostale so bile negativne.

Tretji dan smo izolirali bakterije pri 81 % ran, sedmi dan pa pri 64 % ran.

4.3.2 IZOLIRANE BAKTERIJE NA RANAH PRI PSIH

Tabela 8: Izolirane bakterije iz ran pri psih.

PSI	DAN		
RANA	0	3	7
12	<i>Pasteurella</i> sp.	hemolitična <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Streptococcus canis</i>	hemolitična <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus canis</i> ,
13	<i>Pasteurella</i> sp.	hemolitična <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus canis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
14	<i>Pasteurella</i> sp.	hemolitična <i>Escherichia coli</i> , <i>Pasteurella</i> sp., <i>Streptococcus canis</i>	<i>Streptococcus canis</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>
15		<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i> subsp. <i>coagulans</i> , <i>Enterococcus</i> sp.
16	negativno	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
17*	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
18*	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Enterococcus</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> <i>Enterococcus</i> sp.	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
19*	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Enterococcus</i> sp., <i>Clostridium perfringens</i>	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> <i>Enterococcus</i> sp.	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
20, 21, 22	hemolitična <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> , <i>Streptococcus</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.	<i>Acinetobacter baumannii</i>	

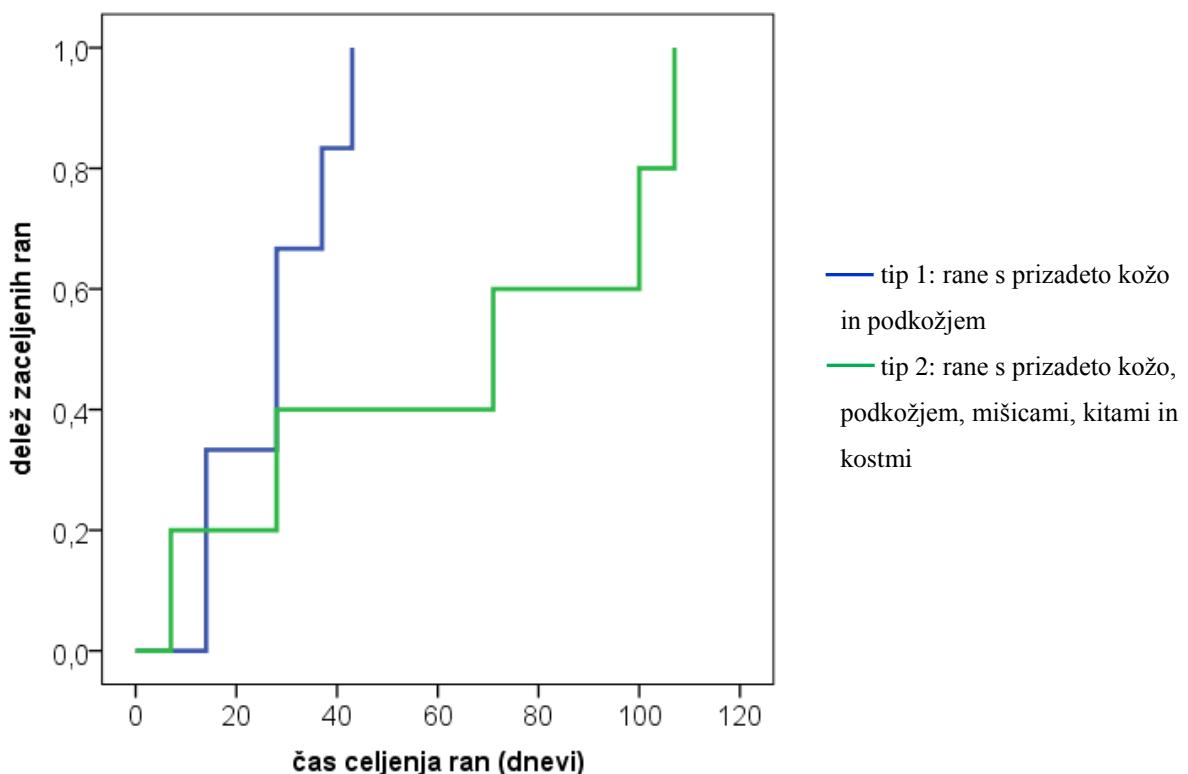
*Rana 17: 14. dan smo izolirali *Staphylococcus pseudintermedius*, *Enterococcus* sp. in *Escherichia coli*. 21. dan smo izolirali *Staphylococcus aureus* in *Staphylococcus* sp.

*Rana 18 in 19: 14. dan smo izolirali *Staphylococcus pseudintermedius*.

Iz brisov ran pri psih smo na dan 0 izolirali bakterije pri 90 % ran. Vsi nadaljnji vzorci so bili pozitivni.

4.4 ČASOVNA ODVISNOST CELJENJA RAN PRI PSIH IN MAČKAH

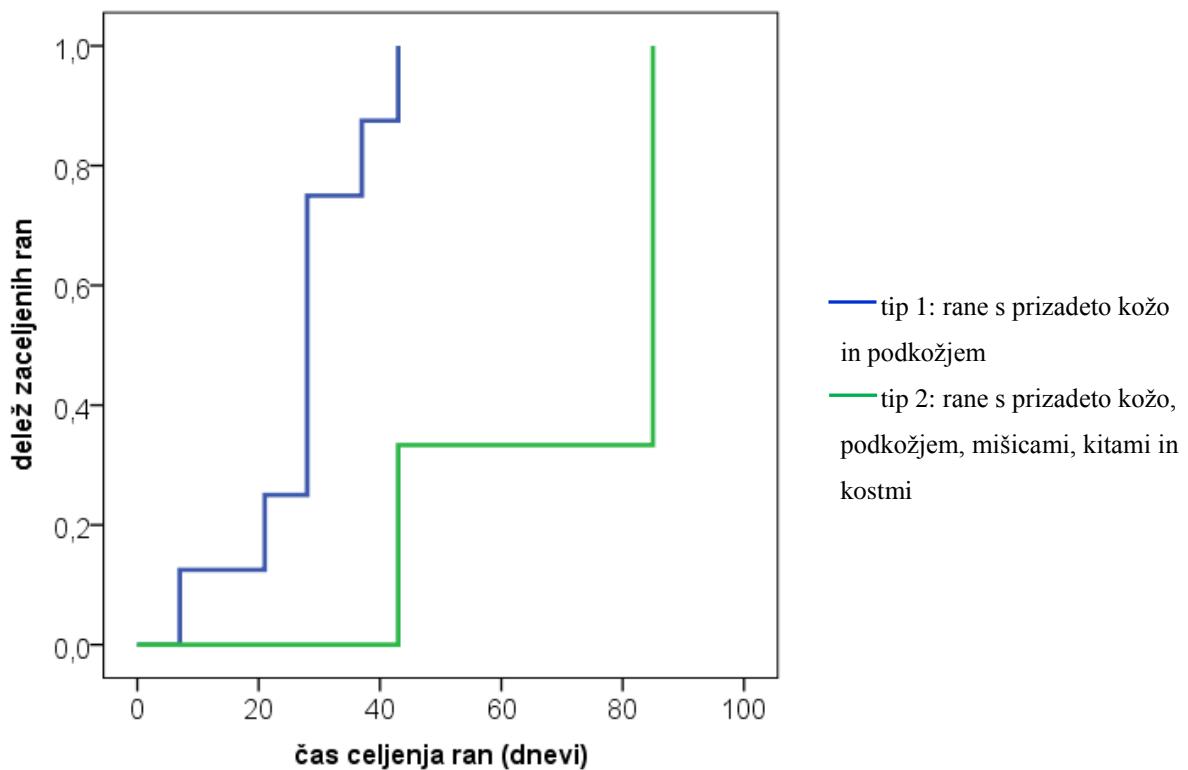
4.4.1 DELEŽ ZACELJENIH RAN V ODVISNOSTI OD ČASA CELJENJA ZA RANE TIPA 1 IN 2 PRI MAČKAH



Slika 20: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri mačkah

Graf na sliki 20 prikazuje krivulji preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi (graf v obliki »1-preživetja«), ki predstavlja deleže zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja ran pri mačkah. Iz grafa je razvidno, da sta si krivulji med seboj različni. Rane tipa 1 ($N = 5$) so se hitreje zacelile kot rane tipa 2 ($N = 6$), vendar se krivulji med seboj statistično značilno ne razlikujeta ($P = 0,100$). Povprečni čas celjenja ran za tip 1 je bil $27,3 \pm 11,8$ dneva, medtem ko je bil povprečni čas celjenja ran tipa 2 daljši ($62,6 \pm 44,0$ dni).

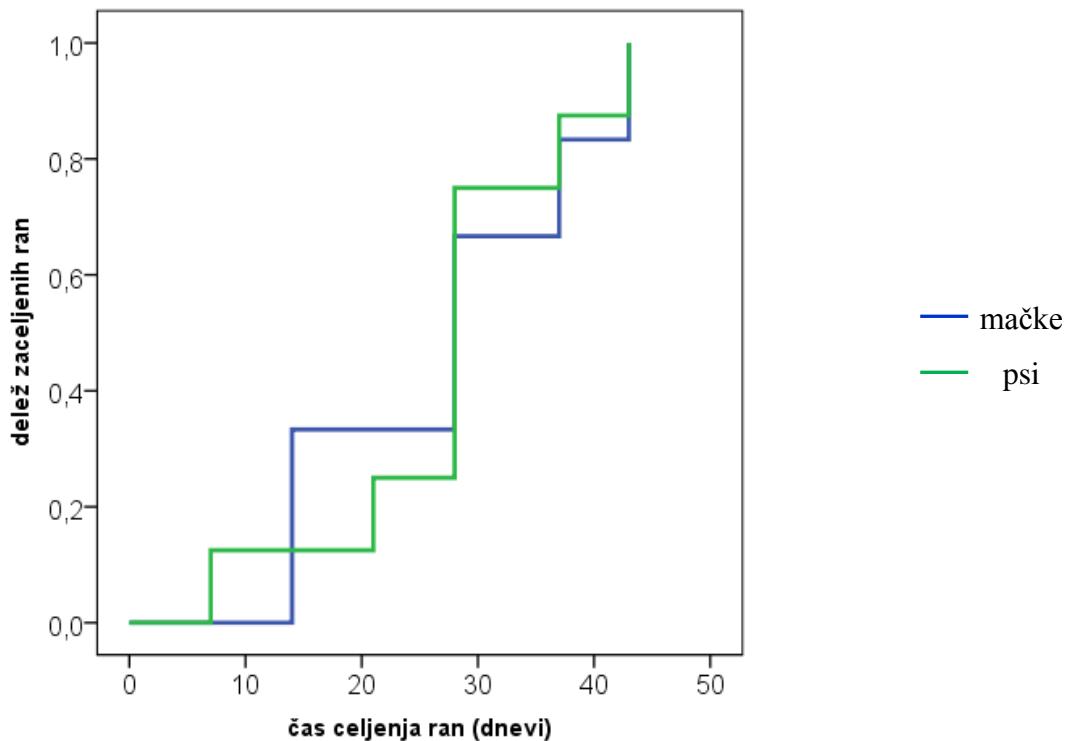
4.4.2 DELEŽ ZACELJENIH RAN V ODVISNOSTI OD ČASA CELJENJA ZA RANE TIPA 1 IN 2 PRI PSIH



Slika 21: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane tipa 1 in 2 pri psih.

Graf na sliki 21 prikazuje krivulji preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi (graf v obliki »1-preživetje«), ki predstavlja deleže zaceljenih ran v odvisnosti od časa zdravljenja pri psih. Krivulji sta si med seboj statistično značilno različni ($P = 0,013$), kar pomeni, da so se rane tipa 1 ($N = 8$) statistično značilno hitreje celile kot rane tipa 2 ($N = 3$). Povprečni čas zdravljenja ran tipa 2 je bil statistično značilno daljši ($71,0 \pm 24,3$ dni) kot povprečni čas zdravljenja ran tipa 1, ki je znašal $27,5 \pm 10,7$ dni.

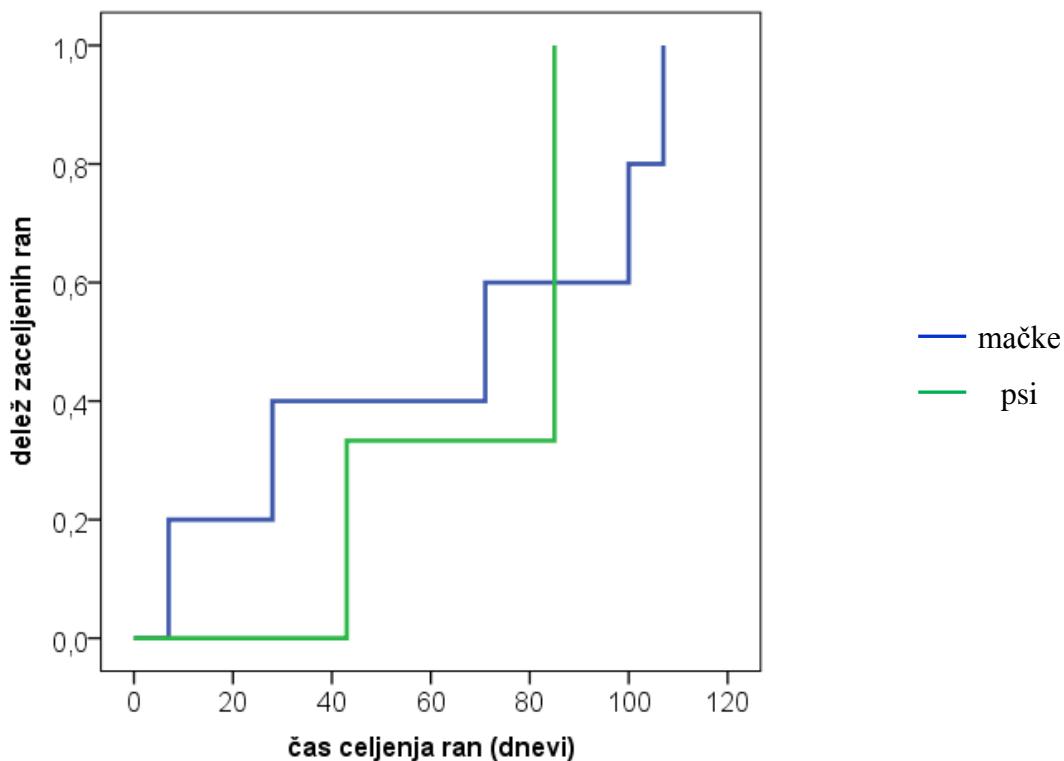
4.4.3 DELEŽ ZACELJENIH RAN TIPA 1 V ODVISNOSTI OD ČASA CELJENJA PRI MAČKAH IN PSIH.



Slika 22: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran tipa 1 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih.

Graf na sliki 22 prikazuje krivulji preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi (graf v obliki »1-preživetje«), ki predstavlja deleže zaceljenih ran tipa 1 (prizadeta koža in podkožje) v odvisnosti od časa zdravljenja pri mačkah ($N = 5$) in psih ($N = 8$). Krivulji se med seboj statistično značilno ne razlikujeta ($P = 0,933$). Povprečni čas zdravljenja ran tipa 1 pri mačkah je bil $27,3 \pm 11,8$ dni in pri psih $27,5 \pm 10,7$ dni.

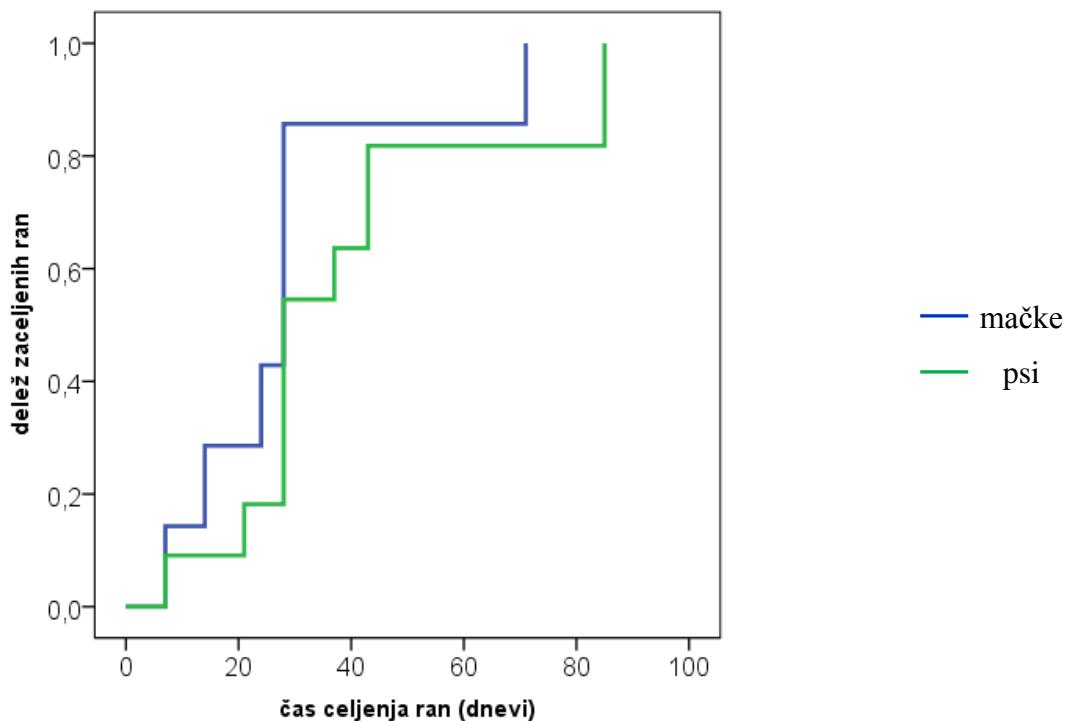
4.4.4 DELEŽ ZACELJENIH RAN TIPA 2 V ODVISNOSTI OD ČASA CELJENJA PRI MAČKAH IN PSIH.



Slika 23: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran tipa 2 v odvisnosti od časa celjenja pri mačkah in psih

Graf na sliki 23 prikazuje krivulji preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi (graf v obliki »1-preživetje«), ki predstavlja deleže zaceljenih ran tipa 2 (prizadeta koža, podkožje, mišice, kite in kosti) v odvisnosti od časa zdravljenja ran pri mačkah ($N = 6$) in psih ($N = 3$). Krivulji se med seboj statistično značilno ne razlikujeta ($P = 0,795$). Povprečni čas zdravljenja ran tipa 2 pri mačkah je bil $62,6 \pm 44,0$ dni in pri psih $71,0 \pm 24,3$ dni.

4.4.5 DELEŽ ZACELJENIH RAN V ODVISNOSTI OD ČASA CELJENJA ZA RANE S POVRŠINO POD 12 cm^2 PRI MAČKAH IN PSIH



Slika 24: Grafični prikaz deleža zaceljenih ran v odvisnosti od časa celjenja za rane s površino pod 12 cm^2 pri mačkah in psih

Graf na sliki 24 prikazuje krivulji preživetja po Kaplan-Meierjevi metodi (graf v obliki »1-preživetje«), ki predstavljata deleže zaceljenih ran v odvisnosti od časa zdravljenja pri mačkah ($N = 7$) in psih ($N = 11$) z začetnimi ranami površine pod 12 cm^2 . Krivulji se med seboj statistično značilno ne razlikujeta ($P = 0,182$). Povprečni čas zdravljenja ran pri mačkah je bil $28,6 \pm 20,4$ dni, pri psih pa $39,4 \pm 24,7$ dni.

5 RAZPRAVA

Zaradi naraščanja odpornosti bakterij proti antibiotikom v humani in veterinarski medicini (Carnwath in sod., 2014) smo želeli dokazati, da je medicinski med dobra alternativa za zdravljenje okuženih ran pri mačkah in psih, kar smo v naši raziskavi tudi potrdili.

V medu učinkuje več aktivnih sestavin, kot so vodikov peroksid, prostaglandini, kisline in fenoli sinergistično, kar še potencira protimikrobnlo delovanje, ki ga ima med zaradi svoje osmolarnosti, visoke vsebnosti sladkorja in nizkega pH (Molan, 1992; Fakhri in sod., 2013). Visoka osmolarnost medu inhibira rast bakterij, ker molekule glukoze vežejo nase molekule vode in bakterije zaradi dehidracije propadejo (Chirife in sod., 1982; Bogdonov, 1984).

V raziskavo smo vključili 8 mačk in 6 psov, z 22 ranami.

Dva mačka sta imela predhodno rane zdravljene z jodovimi obkladki, vendar kljub temu nista imela negativnih brisov iz ran, zato smo jih vključili v našo raziskavo. Jod je potencialno škodljiv ne le bakterijam, temveč je dražilen in toksičen tudi za same celice rane, zato je za izpiranje ran kontraindiciran, še manj je primeren za obkladke (Anderson, 2009; Rees in sod., 2011).

Pri osemnesečni psici z rano na distalnem delu okončine smo pri kliničnem pregledu pri avskultaciji srca ugotovili šum na srcu. Diagnosticiran je bil odprt Botallov vod, zaradi katerega je bilo anestezjsko tveganje veliko, zato smo se odločili za zdravljenje rane *per secundam* (Priloga 4, Slika 25).

Osem letna mačka je imela nekrotično celotno plast kože s podkožjem po celotnem obsegu okončine od komolca do šape in zlomljeno desno podlahtnico. Po literaturi celjenje *per secundam* pri defektu kože, ki zajema tako obsežen del okončine, ni možen (Fowler, 2006) (Priloga 4, Slika 28).

Dva mačka in psica so imeli rane na področju šape, manjkale so blazinice (Priloga 4, Slika 30a in 31). V takih primerih je zdravljenje lahko dolgotrajno s številnimi zapleti.

V raziskavo je bil vključen tudi maček z obsežno staro opeklino med lopaticama, prizadeta je bila koža (Priloga 4, Slika 27).

V raziskavo smo vključili tudi dve mački, ki sta imeli skupaj pet idiopatskih ran (Priloga 4, Slika 29 in 32), kjer vzrok nastanka ni bil znan. Obe mački sta bili apatični, imeli povišano telesno temperaturo in sta bili slabo ješči.

Relaksacijsko incizijsko rano, ki smo jo naredili po kirurški odstranitvi tumorja na okončini, smo kljub sterilnemu brisu iz rane na dan 0 vključili v raziskavo, ker je bila rana obsežna in se je celila *per secundam* (Priloga 4, Slika 33). Drugo relaksacijsko incizijsko rano smo vključili v raziskavo šele peti dan po inciziji, ker se je rana povečala in na dan 0 ni bila sterilna, kontralateralno, kjer je bil odstranjen tumor, pa se je pojavila dehiscenca.

Desetletni psi smo na področju metatarzusa naredili ekszizijsko rano po odstranitvi folikularne ciste s piogranulomatoznim dermatitisom.

Od 22 ran smo pred zdravljenjem z medicinskim medom iz 18 ran izolirali bakterije (Tabela 7 in Tabela 8), kar predstavlja 82 % ran. Podobne rezultate so dobili Mayers in sodelavci (2008), ko so jemali brise iz ugriznih ran pri 50 psih. 84 % brisov iz 104 ran je bilo pozitivnih, iz teh so dobili 213 izolatov. V naši raziskavi je bilo iz 22 ran pred zdravljenjem z medicinskim medom izoliranih 39 izolatov različnih bakterij (Tabela 7 in Tabela 8). Večina izolatov predstavlja stalno mikrobioto kože psov in mačk (Tabela 1 in Tabela 2). Griffin in Holt (2001) pa sta pri 37 psih iz ugriznih ran dobila 33 % negativnih brisov. Mayers in sodelavci (2008) so poleg brisov iz ran ocenjevali še tri kriterije, od katerih sta morala biti dva prisotna, da so rano ocenili kot okuženo. Spremljali so telesno temperaturo živali, citološke kriterije okužene rane in gnojni izcedek. V naši raziskavi smo dobili visok odstotek pozitivnih brisov ran pred zdravljenjem z medicinskim medom. Pričakovali smo, da bo večina brisov iz ran po enem tednu zdravljenja z medicinskim medom negativnih, kakor je ugotovil Molan (2001), vendar je bilo negativnih samo 18 % brisov, kar je enako kot pred zdravljenjem. Večina referiranih živali je ob vključitvi v raziskavo že prejemala antibiotike sistemsko, zato smo antibiotično terapijo nadaljevali še nekaj dni. kot priporočata Overgaauw in Kirpensteijn (2006). Naša kriterija za sistemsko aplikacijo antibiotikov sta bila slabo splošno počutje živali s povišano telesno temperaturo, kar je bilo pri štirih mačkah (Tabela 6). Žival številka 1 je bila septična, s telesno temperaturo 40 °C dva dni, apatična, neješča in levkopenična. Kljub temu da je bilo 57 % živali v raziskavi zdravljenih z antibiotikom sistemsko, so pri teh imele samo štiri rane od štirinajstih po enem tednu negativne brise, od teh sta imeli dve rani negativne brise že pred začetkom zdravljenja z medicinskim medom. Ti dve rani sta bili brez

eksudata in nekrotični (idiopatski rani na okončinah pri mački) (Priloga 4, Slika 32), iz takih ran pa zelo redko izoliramo bakterije (Microbiology Services, PHE, 2014).

Glede na naše rezultate predpostavljam, da izolacija bakteij iz rane ni zadosten kriterij za sistemsko uporabo antibiotikov pri zdravljenju ran. Ne glede na pozitivne brise iz ran smo se odločili za nadaljevanje zdravljenja ran samo z medicinskim medom pri tistih živalih, ki niso bile na antibiotični terapiji. Živalim, ki so ob vključitvi v raziskavo že prejemale antibiotike sistemsko, kljub pozitivnim brisom, antibiotične terapije nismo spremajali, ker so drugi kriteriji celjenja ran, kot so manjšanje površine rane, manjšanje nekroze, zdravo granulacijsko tkivo, manjšanje eksudata, prijeten vonj in ugoden pH rane, kazali, da se rane dobro celijo. Okužene rane se namreč pogosto slabo in dolgotrajne celijo (Xu in sod., 2000). Klinični znaki, ki kažejo, da se rana zaradi okužbe slabo celi, so slaba granulacija, povečana količina eksudata in bolečina (Doughty, 2005).

V naši raziskavi so imele vse rane zdravo granulacijo (Priloga 4, Slika 25b, 26c, 28b in 30b). Največ ran pri psih ($N = 4$) je imelo hipergranulacijo nad nivojem kože 14. dan, pri mačkah je bila hipergranulacija nad nivojem kože samo pri eni živali 21. dan. V nobenem primeru hipergranulacije nismo kirurško odstranjevali, epitelizacija ran je potekala brez zapletov in rane so se lepo zacelile.

Količina eksudata (Priloga 4, Slika 26b) se je že po enem tednu zdravljenja z medicinskim medom zmanjšala. Rane pri psih do nastanka granulacijskega tkiva proizvajajo več eksudata, kot pri mačkah (Bohling in Henderson, 2006), kar smo ugotovili tudi mi, ko je bilo sedmi dan pri mačkah brez eksudata 73 %, pri psih pa le 45 % ran. Količina eksudata rane je večja pri lokalnem vnetnem procesu, zlasti pri tistih ranah, ki so kritično kolonizirane ali okužene z bakterijami. Med s svojim protivnetnim delovanjem zmanjšuje tudi edem in količino eksudata (Molan, 2002; Tonks in sod., 2001, 2003). Med se zaradi redčenja z eksudatom iz rane ne prilepi na rano, zato je menjava obvez enostavna in neboleča (Subrahmanyam, 1993, Molan, 2002; Tonks in sod., 2001, 2003). Drugi avtorji (Osman in sod., 2003) opozarjajo, da se obveza po nanosu medicinskega medu na rano v nekaj urah posuši, ker telesna temperatura pospešuje evaporacijo vode. Suha obveza se prilepi na rano in njena menjava je boleča, prav tako pa iz rane odstrani rastne dejavnike in citokine, ki jih izločajo makrofagi in fibroblasti in so nujno potrebni za celjenje rane. Za velike rane, ki se celijo per secundam je ključnega pomena, da se celijo v vlažnem okolju, ki ščiti granulacijsko tkivo in omogočajo migracijo celic v rani (Molan, 2002). Naše klinične izkušnje so pokazale, da se obvezne predvsem pri

mačkah izsušijo in trdovratno prilepijo na rano (Priloga 4, Slika 34a). Zato smo se odločili, da v naši raziskavi za povijanje ran, kot primarni sloj namesto sterilne gaze uporabimo neadherentno oblogo Melolin®, ki zagotavlja rani vlažno okolje, omogoči epitelizacijo in se ne prilepi na rano (Priloga 4, Slika 34b).

Analgetike so živali prejemale do enega tedna od vključitve v raziskavo, kasneje pa niso kazale znakov bolečine. Med s protivnetnim delovanjem in zmanjšanjem edema zmanjuje bolečino, ki je rezultat povečane občutljivosti živčnih končičev zaradi prostaglandinov, ki nastajajo pri vnetnem procesu in pritiska na tkivo, ki ga povzroča edem (Molan, 2002; Tonks in sod., 2001, 2003).

Obseg nekroze ran se je pri mačkah in psih od dneva 0 zmanjšal, in sicer pri psih so bile vse rane brez nekroze po 14. dnevnu, pri mačkah pa po 21. dnevnu zdravljenja. Zaradi nizke pH vrednosti medu se pojavi manj nekroze na robovih ran, ker se v kislem pH sprosti več kisika iz oksihemoglobina, kar izboljša oksigenacijo tkiva (Oryan in Zacker, 1998).

Pri ocenjevanju ran pri mačkah se je krasta pojavljala v manjšem obsegu do 21. dne, kasneje pa nobena rana ni imela kraste. Pri psih se krasta ni pojavila na nobeni rani ves čas zdravljenja. Med zagotavlja vlažno okolje in s tem spodbuja avtolizo, s pomočjo katere se rana očisti tujkov, nekrotičnega tkiva in krast (Lay-flurrie, 2008). Odstranjevanje nekrotičnega tkiva iz rane spodbuja tudi vodikov peroksid, ki nastaja pri redčenju medu z eksudatom iz rane (Lusby in sod., 2002). Molan (2005) razlaga, da med čisti rano, ker spodbuja pretvorbo neaktivnega plazminogena v matriksu v aktivni plazmin; plazmin je encim, ki razgraje fibrinske strdke, s katerimi so na rano vezani umazanija in kraste (Molan, 2005).

Rane, ki so imele pred zdravljenjem neprijeten ali zaudarjajoč vonj, tega po tretjem dnevnu nismo več zaznali. Med s svojim protimikrobnim delovanjem preprečuje neprijeten vonj v rani, ker bakterije presnavljajo sladkorje iz medu namesto aminokislin in proteinov iz eksudata in nekrotičnega tkiva, pri čemer namesto neprijetnega vonja amoniaka in žveplovih sestavin nastaja mlečna kislina (Efem, 1988; Molan, 1999 in 2002).

Medicinski med, ki ima kisel pH, znižuje tudi pH vrednost v rani (Molan, 1995). pH vrednost eksudata na rani smo lahko merili, dokler je bilo na rani dovolj eksudata, da se je pH listič prepolil z eksudatom. Kljub temu, da je bila obveza še vlažna pri dveh ranah pri psih, sta bili ti dve rani ob previjanju premalo vlažni, da bi se pH listič napojil z eksudatom in zato pH vrednosti ni bilo mogoče odčitati. Za rane, ki so kontaminirane z bakterijami ali so okužene in

se počasi celijo, je značilno, da imajo pH eksudata nad 7,3 (Rushton, 2007; Schneider in sod., 2007). Tudi v naši raziskavi je bila povprečna pH vrednost eksudata nad 7,3 preden smo rane začeli zdraviti z medom, bakterije pa smo izolirali iz 82 % ran. Čeprav se je pH eksudata tekom zdravljenja ran z medicinskim medom znižal pod 7,3, pa je ostal odstotek ran, iz katerih smo izolirali bakterije, enak. Ob tem je treba upoštevati dejstvo, da sama izolacija bakterij iz rane še ne pomeni tudi okužbe rane (Rendel in sod., 2001). Rane so namreč lahko kontaminirane, kolonizirane, kritično kolonizirane in okužene. Celjenje je upočasnjeno le, kadar so rane kritično kolonizirane ali okužene, in so prisotni znaki okužbe rane, kot so rdečina, oteklina, topota in bolečina okolnega tkiva (Schultz in sod., 2003). Drugi kriteriji celjenja ran so kazali, da so se vse rane v naši raziskavi dobro celile, zato predvidevamo, da se zaradi delovanja medicinskega medu bakterije na rani niso razmnoževale in tako vplivale na njeno celjenje. Med tvori na rani zaščitno proteinsko plast (Kamat, 1993), absorbira vlago in zniža pH in tako prepreči kolonizacijo bakterij in njihovo prodiranje v tkivo (Efem, 1988). Predvidevamo tudi, da se je število bakterij na ranah po zdravljenju z medicinskim medom zmanjšalo na število, ki ni več sposobno povzročiti okužbe in znakov vnetja.

Celjenje velikih ran *per secundam* lahko traja več mesecev (Hoosgood, 2006). Na delih telesa, kjer je veliko premikanja, je lahko celjenje še dodatno upočasnjeno (Van Hengel in sod., 2013). V naši raziskavi so se pri mačkah in psih rane tipa 1 (rane s prizadeto kožo in podkožjem) zacelile povprečno v manj kot enim mesecu, rane tipa 2 (rane s prizadeto kožo, podkožjem, mišicami, kitami in kostmi) pa povprečno v dobrih dveh mesecih. Rane tipa 2 so se pri mačkah in psih do tretjega dne zdravljenja z medicinskim medom povečevale, saj postopek nekrektomije lahko ponavljamo več dni, ker se lahko sele kasneje pokaže, katera tkiva so odmrla (Anderson, 1996 in 2009; Williams, 2009). Najdlje časa so se celile rane na okončinah pri dveh mačkah, pri katerih je koža manjkala na celotnem obsegu okončine, rani pa sta segali do kosti in sklepov (Priloga 4, Slika 28 in 30). Zdravljenje ran *per secundam* je primerno za rane, ki so na področjih, kjer je veliko proste kože in za majhne rane na okončinah (Williams, 2009). Na okončinah lahko *per secundam* zdravimo le tiste rane, ki zajemajo manj kot 30 % obsega okončine (Fowler, 2006). Kljub temu smo mi zdravili z medicinskim medom šest ran, ki so zajemale več kot 30 % obsega okončine. Ugotovili smo, da so se vse te rane zacelile brez večje kontrakture kože in z minimalno brazgotino (Priloga 4,

Slika 28d in 30d) tako, da je funkcija prizadete okončine ostala po zacelitvi popolnoma neprizadeta. Zaceljeno površino je prerasla dlaka (Priloga 4, Slika 28d in 30d), to pripisujemo lastnosti medu, ki aktivira epitelne celice iz robov rane in vitalne epitelne celice dlačnih mešičkov (Bergman in sod., 1983; Efem, 1988). Znano je, da se pri poškodbah, ki segajo čez vse plasti kože, kožni adneksi ne obnovijo in koža ne pigmentira (Hosgood, 2006), kar je moteče iz estetskega vidika (O'Dwyer, 2007b; Corr, 2009).

Ugodno delovanje medicinskega medu se je izkazalo tudi pri mački, ki je imela zlomljeno desno podlahtnico in smo ji pred zdravljenjem z medicinskim medom zaradi nekroze odstranili celotno plast kože s podkožjem od komolca do šape (Priloga 4, Slika 28). Podkožje ima pomembno podporno vlogo pri celjenju rane. Po odstranitvi podkožja poteka celjenje rane pri mačkah počasneje kot pri psih (Bohling in Henderson, 2006). Pri mački v naši raziskavi bi bila zaradi tako obsežne površine brez kože možna rekonstrukcija s t.i. metodo »pouch flap«, kjer se prizadeto okončino namesti pod kožo na trupu. Po 14 dneh se z dvema incizijama sprosti okončino z dovolj velikim delom kože trupa, da pokrije rano. Pred tem posegom bi se morala podlahtnica zaceliti, rana pa prekriti z granulacijskim tkivom (MacPhail, 2013). Lastnik se zaradi stroškov za tak poseg ni odločil, prav tako pa mu ni bila sprejemljiva amputacija okončine. Odločili smo se za zdravljenje z medicinski medom, ker smo se s tem izognili zahtevni in dragi operaciji z rekonstrukcijo kože in ohranili okončino.

Pri zdravljenju ran *per secundam* je izid zdravljenja lahko neugoden zaradi velike in krhke brazgotine (O'Dwyer, 2007b; Corr, 2009), ki se lahko ponovno odpre (Corr, 2009). Pri vseh živalih v naši raziskavi so bile brezgotine minimalne in nobena se ni ponovno odprla (Priloga 4, Slika 26f, 28d in 30d). Med je bogat vir ogljikovih hidratov, ki zagotovi tudi potrebne hrnilne snovi in energijo za delitev in zorenje fibroblastov, tvorbo kolagena, ki izboljša krčenje rane in kot tak izboljša natezno moč ran (Bergman in sod., 1983; Efems, 1988; Oryan in Zaker, 1998). Pri zdravljenju ran *per secundam*, ki segajo preko sklepa, je velika nevarnost kontrakture kože, zaradi katere je ovirana gibljivost sklepa (Williams, 2009). Pri nobeni živali v naši raziskavi, ki so imele rane preko sklepov, ni prišlo do omejene gibljivosti sklepa (Priloga 4, Slika 26f in 30d). Pri obsežnih defektih na blazicah je indicirana presaditev bioptov blazinic iz zdravih prstov. Celjenje je navadno dolgotrajno, funkcionalnost blazinic pa

je lahko vprašljiva zaradi težav pri presajanju podkožnega in maščobnega tkiva blazinic. Sčasoma lahko postne taka blazinica trda in debela (Fowler, 2006). V nobenem od naših primerov, kjer so manjkale blazinice ni bilo omenjenih težav, blazinice so se v celoti obnovile (Priloga 4, Slika 30d in 31d).

Celjenje ran pri mačkah poteka počasneje kot pri psih. Počasnejša in manjša produkcija granulacijskega tkiva pri ranah mačk je verjetno glavna razlog za počasnejše celjenje ran v primerjavi z ranami psov (Bohling in Henderson, 2006). Mi nismo ugotovili niti pri ranah tipa 1, niti pri ranah tipa 2 statistično značilnih razlik v času celjenja med psi in mačkami ($P > 0,05$) (Slika 22 in 23). Primerjali smo tudi delež zaceljenih ran, ki so imele začetno površino manjšo od 12 cm^2 , ne glede na vrsto prizadetega tkiva, v odvisnosti od časa zdravljenja pri mačkah in psih (Slika 24). Pri tem nismo ugotovili statistično značilnih razlik v času celjenja med psi in mačkami, čeprav je znašal povprečni čas celjenja ran pri mačkah $28,6 \pm 20,4$ dni, pri psih pa $39,4 \pm 24,7$ dni ($P > 0,05$). Večjih ran od 12 cm^2 nismo primerjali, ker jih pri psih ni bilo.

Pri mačkah so se rane tipa 1 zacelile hitreje kot rane tipa 2, vendar razlike niso statistično značilne ($P > 0,05$) (Slika 20). To pripisujemo dejству, da je bilo v raziskavo zajetih majhno število vzorcev ($N = 11$), poleg tega je bil standardni odklon v posamezni skupini velik. Pri ranah tipa 2 je bil vključen tudi absces po ugrizu, ki se je zacelil že v enem tednu. Pri psih so se rane tipa 1 statistično značilno hitreje zacelile kot rane tipa 2 ($P < 0,05$) (Slika 21), kar je bilo glede na vrsto prizadetega tkiva pričakovano. V naši raziskavi je bilo število obravnavanih ran majhno, zato je potrebno rezultate podkrepliti z nadaljnji raziskavami na večjem številu ran.

6 SKLEPI

- Po enem tednu zdravljenja ran z medicinskim medom, brisi iz 82 % ran niso bili sterilni. Uporaba antibiotikov zaradi pozitivnega brisa iz rane ni indicirana, če ni prisotnih drugih znakov okužbe, samo pozitiven bris iz rane namreč ne pomeni okužbe rane.
- Po sedmih dneh zdravljenja ran z medicinskim medom v rani nismo pričakovali mikrobov, vendar je bilo le 18 % ran sterilnih.
- Vse rane, zdravljene z medicinskim medom, so se celile brez zapletov.
- Rane so se zacelile z minimalno brazgotino, koža se je na mestu, kjer so bile rane, obnovila in odlakala, funkcija okončin pa ni prizadeta.
- Same obvezne z medicinskim medom in zložencem so se na rano prilepile, prav tako obvezne z oblogo L-Mesitran® Tulle, medicinskim medom in zložencem. Obveze se na rano niso prilepile ob uporabi Melolin® oblog, ki smo jih namestili na medicinski med in/ali L-Mesitran® Tulle. Zato smo Melolin® oblage uporabljali od začetka zdravljenja z medicinskim medom do zacelitve ran.
- Vsakodnevna menjava obvez je potrebna samo do očiščenja rane nekrotičnega tkiva, nato lahko obvezne menjamo le dvakrat na teden in ob nastanku zdravega granulacijskega tkiva le enkrat tedensko do zacelitve rane.
- Na osnovi naših rezultatov sklepamo, da zdravljenje ran z medicinskim medom dobro vpliva na celjenje ran, ohrani nemoteno funkcijo prizadetega dela telesa, estetski videz je minimalno spremenjen. Uporaba antibiotikov zaradi pozitivnega brisa iz rane ni indicirana, če ni prisotnih drugih znakov okužbe, pozitiven bris iz rane namreč ne pomeni okužbe rane.

7 POVZETEK

Namen raziskave je bil dokazati ugodno delovanje medicinskega medu na celjenje ran in njegovo protimikrobnno delovanje pri zdravljenju ran. Rane naj bi po sedmem dnevu zdravljenja bile brez mikrobov, obveze z medicinskim medom pa se naj ne bi prilepile na rano. V raziskavo smo vključili 14 živali, psov in mačk, ki so imeli skupaj 22 ran, katere so se celile *per secundam*. Rane so bile lacerokontuzijske, ugrizne, odrgnine, opeklne, stružne incizijske in ekscizijske in idiopatske. Na dan vključitve živali v raziskavo smo iz rane najprej vzeli bris, nato pa rane očistili, opravili nekrektomijo in jih obilno sprali s sterilno fiziološko raztopino ter rane osušili s sterilnimi zloženci. Rane smo nato fotografirali, izmerili dolžino in širino rane, pH rane ocenili morebitno prisotnost nekroze, kraste, hipergranulacije, vonja, eksudata in vrsto prizadetega tkiva v rani. Prvi teden smo vsakodnevno namestili obvezo z medicinskim medom L-Mesitran® Soft, Melolin® oblogo, sterilnimi zloženci, vato in Cobanom™. Pred tem smo rano vedno temeljito sprali s sterilno fiziološko raztopino. Po enem tednu zdravljenja rane smo menjali obvezo vsake tri dni. Celjenje rane smo spremljali z odstotki zmanjšanja površine rane, in sicer na dan vključitve živali v raziskavo, tretji, sedmi dan in nato enkrat tedensko do zacetitve rane. Pred začetkom zdravljenja z medicinskim medom, tretji in sedmi dan, smo vzeli še bris iz rane za mikrobiološko preiskavo, kjer smo določali vrsto mikroorganizmov v rani. Rane, ki so segale do podkožja, so se pri psih in mačkah v povprečju zacelile v 27. dneh, rane, ki so segale do kosti pa v 63. dneh pri mačkah in 71. dneh pri psih. Najkasneje, 107. dan se je zacelila obsežna lacerokontuzna rana pri mački na distalnem delu okončine in 85. dan stružna rana na distalnem delu okončine pri psu. Sedmi dan zdravljenja z medicinskim medom je bilo sterilnih brisov iz ran toliko kot pred začetkom zdravljenja, in sicer 18 %. Najpogosteje smo iz brisov ran izolirali *Staphylococcus pseudintermedius* in *Staphylococcus* spp., ki so tudi stalni mikroorganizmi kože psov in mačk. Z analizo preživetja in krivuljami po Kaplan-Meierjevi metodi smo ugotovili, da ni bilo statistično značilnih razlik v času celjenja ran med psi in mačkami ($P > 0,05$). Prav tako nismo ugotovili statistično značilnih razlik v času celjenja ran glede na tip rane pri mačkah, medtem ko so se rane s prizadeto kožo in podkožjem pri psih celile hitreje kot rane, ki so imele poleg tega prizadete mišice, kite in kosti ($P < 0,05$). Na osnovi naših rezultatov sklepamo, da zdravljenje ran z medicinskim medom dobro vpliva na celjenje ran, saj ohrani nemoteno

funkcijo prizadetega dela telesa, rane so se celile brez zapletov, estetski videz zaradi majhne brazgotine je minimalno spremenjen. Ugotovili smo tudi, da so po enem tednu uporabe medicinskega medu v rani še vedno prisotni mikroorganizmi, uporaba antibiotikov pa ni vedno potrebna, saj samo izolacija bakterij iz rane še ne pomeni okužbe rane, ker so se rane kljub prisotnim bakterijam dobro celile in so bile brez znakov vnetja. Na ranah tudi nismo ugotovili krast, povprečna vrednost pH eksudata ran je bila okoli 7, kar pa je ugoden pH za celjenje ran. Ugotovili smo tudi, da sam medicinski med apliciran na rano ne preprečuje prilepljanja zloženca in sekundarne obvezne na rano, zato smo kot primarno plast obvezne poleg medicinskega medu uporabljali neadherentno oblogo Melolin®, pri kateri nismo zaznali prilepljanja na rano, in odstranjevanje obvez je bilo neboleče.

8 ZAHVALE

Hvala Vam, mentorica doc. dr. Vladimira Erjavec, dr. vet. med. in somentorica asist. dr. Barbara Lukanc, dr. vet. med., za nesebično pomoč, potrežljivost, pripravljenost, koristne nasvete in strokovno pomoč pri izvedbi raziskovalne naloge.

Hvala, mami in ati, brata Matej in Gašper, sestri Mija in Ana ter dedi, za podporo, razumevanje, pomoč in potrežljivost pri celotni nalogi.

Hvala Vam, tehniki KKMŽ-ja, za pomoč, nasvete in razumevanje pri delu s pacienti.

Hvala Vam, doc. dr. Plavec, asist. Žel in ostalo osebje KKMŽ-ja, za pomoč in nasvete.

Hvala Vam, dr. Zdovc, za koristne nasvete, pomoč in spodbudo.

Hvala Vam, Maja Lepen, za pomoč in nasvete.

Hvala Vam, tehniki in strokovni delavci na inštitutu za mikrobiologijo in parazitologijo oddelek za bakteriologijo, za vse ure dela, pomoč in spodbude.

Hvala Vam, izr. prof. Petra Zrimšek, za opravljeno statistiko, pomoč in nasvete.

Hvala Vama, mag. Brigita Gresc Smole in Stanka Ujc, za pomoč pri zbiranju literature in pregled literature.

Hvala vama, Nina in Mitja, za pomoč, razumevanje in spodbude.

Hvala vam, sošolke in sošolci, prijateljice in prijatelji, za podporo in razumevanje.

Hvala Vam, lastniki živali, za omogočeno izvedbo raziskovalnega dela in prijetno sodelovanje.

Hvala Vam, psi in mačke, za neizmerno potrežljivost in sodelovanje.

Babi, tebi v spomin.

9 LITERATURA

1. Ahmed AK, Hoekstra MJ, Hage JJ, Karim RB. Honey-medicated dressing: transformation of an ancient remedy into modern therapy. *Ann Plast Surg* 2003; 50: 143–7.
2. Al-Waili N, Salom K, Al-Ghamdi AA. honey for wound healing, ulcers, and burns: data supporting its use in clinical practice. *ScientificWorldJournal* 2011; 11: 766–87.
3. Amalsadvala T, Swaim ST. Management of hard-to-heal wounds. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 693–711.
4. Anderson D. Wound management in small practice. In *Pract* 1996; 18: 115–28.
5. Anderson D. Management of open wounds. In: Williams J Moores A, eds. *BSAVA manual of canine and feline wound management and reconstruction*, 2nd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2009: 37–53.
6. Anklam E. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. *Food Chem* 1998; 63: 549–62.
7. Aureli P, Franciosa G, Fenicia L. Infant botulism and honey in Europe: a commentary. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21: 866–8.
8. Banerjee DK. Angiogenesis: characterization of cellular model. *PR Health Sci J* 1998; 17: 327–33.
9. Bang LM, Bunting C, Molan P. The effect of dilution on the rate of hydrogen production in honey and its implications for wound healing. *J Altern Complement Med* 2003; 9: 267–73.
10. Bergman A, Yania J, Weiss J, Beli D, David MP. Acceleration of wound healing by topical application of honey: an animal model. *Am J Surg* 1983; 145: 374–6.
11. Birch M, Tamlinson A, Ferguson MW. Animal model for adult wound healing. *Methods Mol Med* 2005; 117: 223–35.
12. Bogdanov S. Characterisation of antibacterial substances in honey. *Lebensm Wiss Technol* 1984; 17: 74–6.
13. Bohling MW, Henderson RA. Differences in cutaneous wound healing between dogs and cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36(4): 687–92.

14. Božnar A, Senegačnik J. Med. In: Poklukar J, ed. Od čebele do medu. Ljubljana: Kmečki glas, 1998: 376–413.
15. Carnwath R, Graham EM, Reynolds K, Pollock PJ. The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates. *Vet J* 2014; 199: 110–4.
16. Chirife J, Scarmato G, Herszage L. Scientific sugar in treatment of infected wound. *Lancet* 1982;1(8271): 560–1.
17. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J R Soc* 1999; 92: 283–5.
18. Cooper RA, Molan PC, Harding KG. The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J Appl Microbiol* 2002; 93: 857–63.
19. Corr S. Intensive, extensive, expensive. Management of distal limb shearing injuries in cats. *J Feline Med Surg* 2009; 11: 747–57.
20. Demetriou J, Stein S. Causes and management of complications in wound healing. *In Pract* 2011; 33: 392–400.
21. Dernell WS. Initial wound management. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Pract* 2006; 36: 713–38.
22. De Rooster H, Declercq J, Van de Bogaert M. Honey in wound care: myth or science? Part 1: literature review. *Flemish Vet J* 2008; 78: 68–74.
23. Doughty D. Preventing and managing surgical wound dehiscence. *Adv Skin Wound Care* 2005; 18: 319–22.
24. Dunford C, Cooper R, Molan P. Using Honey as a dressing for infected skin lesions. *Nurs Times* 2000; 96(14 Suppl): 7–9.
25. Efem SEE. Clinical observation on the wound healing properties of honey. *Br. J. Surg.* 1988; 75: 679–81.
26. Epstein FH. Cutaneous wound healing. *N Eng J Med* 1999; 341: 738–46 .
27. Fakhri SF, Kucukyildiz H, Ishaque S. A review on honeys antibacterial properties. Roskilde: University, 2013: 47 str. (Molecular biology project)
<http://rudar.ruc.dk/handle/1800/11927> (10. julij 2014).
28. Fowler D. Distal limb and paw injuries. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 819–45.

29. French VM, Coper RA, Molan PC. The antibacterial activity of honey against coagulase negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56: 228–31.
30. Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, et al. Aa and Bb chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J Cell Sci* 1993; 104: 409–13.
31. Griffin GM, Holt DE. Dog-bite wounds: bacteriology and treatment outcome in 37 cases. *J Am Anim Hosp Assoc* 2001; 37: 453–60.
32. Hackom DJ, Ford HR. Cellular biochemical and clinical aspects of wound healing. *Surg Infect* 2002; 3: 523–35.
33. Helbling A, Peter C, Berchtold E, Bogdanov S, Mueller U. Allergy to honey: relation to pollen and honey bee allergy. *Allergy* 1992; 47: 41–9.
34. Hedin CH, Westermark B. Role of platelet-derived growth factor in vivo. In: Clark RAF, ed. *The molecular and cellular biology of wound repair*. 2nd ed. New York: Plenum Press, 1996: 249–73.
35. Hosgood G. Wound repair and specific tissue response to injury. In Slatter DH, ed. *Textbook of small animal surgery*. 3rd ed Philadelphia: WB Saunders, 2003: 66–86.
36. Hosgood G. Stages of wound healing and their clinical relevance. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2006; 36: 667–85.
37. Idiopatska. In: Kališnik M, ed. *Slovenski medicinski slovar*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zdravniška zbornica Slovenije, 2014: 1298 str.
<http://www.termania.net/slovarji/slovenski-medicinski-slovar/5519897/idiopaticen?query=idiopati%C4%8Den>
(10. junij 2014).
38. Ilan N, Mahooti S, Madri JA. Distinct signal transduction pathways and utilized during the tube formation and survival phases in vitro angiogenesis. *J Cell Sci* 1998; 111: 3621–31.
39. Kamat N. Use of sugar in infected wounds. *Trop Doct* 1993; 23: 185.
40. Kirurška. In: Kališnik M, ed. *Slovenski medicinski slovar*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zdravniška zbornica Slovenije, 2014: 1298 str.
<http://www.termania.net/slovarji/slovenski-medicinski-slovar/5520232/incizija?query=incizija>
(10. junij 2014).
41. Lacerokont. In: Kališnik M, ed. *Slovenski medicinski slovar*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zdravniška zbornica Slovenije, 2014: 1298 str.
<http://www.termania.net/slovarji/slovenski-medicinski-slovar/5536104/rana?query=rana>

- (10. junij 2014).
42. Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Arch Dermatol* 1994; 130: 489–93.
 43. Lay-Flurrie K. Honey in wound care: effects, clinical application and patient benefits. *Br J Nurs* 2008; 17: S30–6
 44. Levenson SM, Geever EF, Crowley LV, et al. The healing of rat skin wounds. *Ann Surg* 1965; 161: 293–308.
 45. Li J, Zhang YP, Kirsner RS. Angiogenesis in wound repair: angiogenetic growth factor and the extracellular matrix. *Microsc Res Tech* 2003; 60: 107–14.
 46. Lusby PE, Coombes A, Wilkinson JM. Honey: a potent agent for wound healing? *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2002; 29: 295–300.
 47. MacPhail CM. Surgery of the integumentary system In: Fossum T, eds. *Small animal surgery*. 4th ed. St. Louis: Mosby, 2013: 190–289.
 48. Mathews KA, Binnington AK. Wound management using honey. *Compend Contin Educ Vet* 2002; 24: 53–60.
 49. Mato I, Huidobro JF, Simal-Lozano J, Sancho MT. Significance of nonaromatic organic acids in honey. *J Food Prot* 2003; 66: 2371–6.
 50. Mayers B, Schoeman JP, Goddard A, Picard J. The bacteriology and antimicrobial susceptibility of infected and non-infected dog bite wounds: fifty cases. *Vet Microbiol* 2008; 127: 360–8.
 51. Microbiology Services, Standard Units. UK standards for microbiology investigations: investigation of skin, superficial and non-surgical wound swabs. London: Public Health England, 2014: 16–7.
http://www.hpa.org.uk/webc/hpawebfile/hpaweb_c/1317132856530 (30. 6. 2014).
 52. Miksić K, Triller C. Celjenje rane. In: Flis V, Miksić K, eds. *Izbrana poglavja iz kirurgije*. Maribor: Založba Pivec, 2010: 77–8.
 53. Molan PC. The antibacterial activity of honey. 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World* 1992; 73: 5–28.
 54. Molan PC. The antibacterial properties of honey. *Chem NZ* 1995; 59: 10–4.
 55. Molan PC, Allen KL. The effect of gamma-irradiation on the antibacterial activity of honey. *J Pharm Pharmacol* 1996; 48: 1206–9.

56. Molan PC. A brief review of the use of honey as a clinical dressing.
Aust J Wound Manag 1998; 6: 148–58.
57. Molan PC. The role of honey in the management of wounds.
J Wound Care 1999; 8: 415–8.
58. Molan PC. Potential of honey in the treatment of wound and burns.
Am J Clin Dermatol 2001; 2: 13–9.
59. Molan PC. Re-introducing honey in the management of wounds and ulcers – theory and practice. *Ostomy Wound Manage* 2002; 48: 28–40.
60. Molan PC. Mode of action. In: White RJ, Cooper RA, Molan PC, eds. Honey: modern wound management product. Aberdeen: Wounds UK Publishing, 2005: 1–23.
61. O'Dwyer L. Introduction to wound management. In: O'Dwyer L, ed. *Wound management in small animals*. Toronto: Elsevier, 2007a: 3–34.
62. O'Dwyer L. Wound clouser options. In: O'Dwyer L, ed. *Wound management in small animals*. Toronto: Elsevier, 2007b: 71–97.
63. Opeklina. In: Kališnik M, ed. *Slovenski medicinski slovar*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zdravniška zbornica Slovenije, 2014: 1298 str.
<http://www.termania.net/slovarji/slovenski-medicinski-slovar/5530513/opeklina?query=opeklina>
(10. junij 2014).
64. Oryan A, Zaker SR. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits, *J Vet Med* 1998; 45: 181–8.
65. Osman OF, Mansouri IS, El-Hakim S. Honey compound for wound care: a preliminary report. *Ann Burns Fire Disasters* 2003; 16: 131–4.
66. Overgaauw PAM, Kirpensteijn J. Application of honey in the treatment of skin wounds. *Tijdschek Diergeneesk* 2005; 130: 115-6.
(*Eur J Companion Animal Pract* 2006; 16: 17–9).
67. Paterson S. Manual of skin diseases of the dog and cat. 2nd ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2008: 6–9.
68. Pyrzynska K, Biesaga M. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey *TrAC Trends Anal Chem* 2009; 28: 893–902.
69. Petrie A, Watson P. Statistics for veterinary and animal science. Oxford: Blackwell Science, 1999: 168–81.

70. Pavletic MM. *Atlas of small animal wound management and reconstructive surgery*. 3rd ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2010: 18, 81–109, 160.
71. Pope J. Wound aetiology and classification. In: Williams J, Moores A, eds. *BSAVA manual of canine and feline wound management and reconstruction*, 2nd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2009: 15–24.
72. Postmes T, Bogaard AEAM. Honey for wounds, ulcers and skin graft preservation. *Lancet* 1993; 341(8847): 756–7.
73. Raztrganina. In: Kališnik M, ed. *Slovenski medicinski slovar*. Ljubljana: Medicinska fakulteta Univerze v Ljubljani, Zdravniška zbornica Slovenije, 2014: 1298 str.
<http://www.termania.net/slovarji/slovenski-medicinski-slovar/5536300/raztrganina?query=raztrganina>
(10. junij 2014).
74. Rees A, Sherrod Q, Young L. Chemical burn from povidone-iodine: case and review. *J Drugs Dermatol* 2011; 10: 414–7.
75. Rendel M, Mayer C, Weninger W, Tschachler E. Topically applied of lactic acid increases spontaneous secretion of vascular endothelial growth factor by human constructed epidermis. *Br J Dermatol* 2001; 145: 3–9.
76. Rushton I. Understanding the role of proteases and pH in wound healing. *Nurs Stand* 2007; 21: 68–72.
77. Schneider LA, Korber A, Grabbe S, Dissemond J. Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? *Arch Dermatol Res* 2007; 298: 413–20.
78. Schultz GS, Sibbald RG, Falanga V, et al. Wound bed preparation: a systematic approach to wound management. *Wound Repair Regen* 2003; 11 (Suppl 1):S1–28.
79. Shirakata Y, Kimura R, Nanba D, et al. Heparin-binding EGF-like growth factor accelerates keratinocyte migration and skin wound healing. *J Cell Sci* 2005; 111(Pt 11): 2363–70.
80. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *Engl J Med* 1999; 341: 738–46.
81. Stupack DG. Integrins as a distinctive subtype of dependence receptors. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1021–30.
82. Subrahmanyam M. Honey impregnated gauze vesus polyurethane film (OpSite) in the treatment of burns-prospective randomised study. *Br J Surg* 1993; 46: 322–3.
83. Subrahmanyam M. Addition of antioxidants and polyethylene glycol 4000 enhances the healing property of honey in burns. *Ann Burns Fire Disasters* 1996; 9: 93–5.

84. Subrahmanyam M. A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns* 1998; 24: 157–61.
85. Swaim SF, Renberg WC, Shike KM. Small animal bandaging, casting, and splinting techniques. Ames: Wiley-Blackwell, 2011.
86. Tan ST, Wilkins AL, Holland PT, Mcghite TK. Extractives from New Zealand unifloral honeys. 2. Degraded carotenoids and other substances from heather honey. *J Agric Food Chem* 1989; 37: 1217–21.
87. Tonks A, Cooper RA, Price AJ, Molan PC, Jones KP. Stimulation of TNF- α release in monocytes by honey. *Cytokine* 2001; 14: 240–2.
88. Tonks AJ, Cooper RA, Jones KP, Blair S, Parton J, Tonks A. Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes. *Cytokine* 2003; 21: 242–7.
89. Tur E, Bolton L, Constantine BE. Topical hydrogen peroxide treatment of ischemic ulcers in the guinea pig: blood recruitment in multiple skin sites. *J Am Acad Dermatol* 1995; 33: 217–21.
90. Udarnina. In: Bajec A, ed. Slovar slovenskega knjižnega jezika: knj.5: T–Ž. Ljubljana: DZS, 1991: 227.
91. Van Hengel T, terHaar G, Kirpensteijn J. Wound management: a new protocol for dogs and cats. In: Kirpensteijn J, ter Haar G, eds. Reconstructive surgery and wound management of the dog and cat. London: Manson Publishing, 2013: 21–48.
92. Vanhanen LP, Emmertz A, Savage GP. Savage mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food Chem* 2011; 128: 236–40.
93. Vardi A, Barzilay Z, Linder N, Cohen HA, Paret G, Barzilai A. Local application of honey for treatment of neonatal postoperative wound infection. *Acta Paediatr* 1998; 87: 429–32.
94. Weston RJ. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chem* 2000; 71: 235–9.
95. White JW, Subers MH, Schepartz AI. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucoseoxidasesystem. *Biochim Biophys Acta* 1963; 73: 57–70.
96. White JW, Subers MH. Studies on honey inhibine, a chemical assay. *J Apic Res* 1963; 15: 23–8.

97. White JW, Subers MH. Studies on honey inhibine: Effect of heat.
J Apic Res 1964; 3: 45–50.
98. Williams J. Decision making in wound closure. In: Williams J, Moores A., eds. BSAVA manual of canine and feline wound management and reconstruction, 2nd ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association, 2009: 25–37.
99. Willix DJ, Molan PC, Harfoot CG. A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey.
J Appl Bacteriol 1992; 73: 388–94.
100. Xu J, Clark RAF. Extracellular matrix alters PDGF regulation of fibroblast integrins.
J Cell Biol 1996; 132: 239–49.
101. Xu KD, McFeters GA, Stewart PS. Biofilm resistance to antimicrobial agents.
Microbiology 2000, 146: 547–9.
102. Zumla A, Lulat A. Honey- a remedy discovered. *J R Soc Med* 1989; 82: 384–5.

10 PRILOGE

PRILOGA 1

Ocenjevalni obrazec, v katerega smo vpisali podatke o pacientu, rani in predhodnem zdravljenju. Tekom zdravljenja smo v obrazec vpisovali meritve, oceno in oskrbo ran.

OBRAZEC-OCENA RANE						
Št. protokola:						
Podatki o pacientu:						
Vzrok poškodbe:						
Predhodna zdravljenja (zdravila):						
Obvezne, oskrba rane:						
Vrsta rane:						
Lokacija rane:						
	DAN 0	DAN 3	DAN 7	DAN 14	DAN 21	DAN 28
Datum						
pH						
Nekroza(1 do 4)						
Krasta (1 do 4)						
Hipegranulacija(1 do 3)						
Vonj (1 do 4)						
Eksudat (1 do 4)						
Prizadeto tkivo (1-koža, 2-podkožje, 3-mišice, 4-kite, kosti, sklepi)						
Vrsta obvezne						

PRILOGA 2

Soglasje lastnika živali o sodelovanju njegove živali v raziskavi.

SOGLASJE LASTNIKA ŽIVALI

Na Kliniki za kirurgijo in male živali Veterinarske fakultete poteka raziskava o vplivu medicinskega medu na celjenje rane pri psih in mačkah. V raziskavo želimo vključiti paciente, ki imajo rane na površini telesa. To so lahko kontaminirane akutne ali kronične rane, travmatske rane, opeklne, odrgnine in preležanine.

Med raziskavo omogočamo pacientom brezplačne bakteriološke preiskave rane prvi, tretji in sedmi dan in stalen nadzor celjenja do sanacije rane. V primeru, da so za poseg potrebne anestezija in dodatne preiskave, to plača lastnik živali.

1. Ime in priimek lastnika živali, podatki o živali:

2. Izjava lastnika živali:

Podpisani, lastnik zgoraj omenjenega psa/mačke, sem razumel(-a) postopke, ki bodo izvedeni v raziskavi z naslovom „**Protimikrobnni učinek medicinskega medu L-Mesitran® in njegov vpliv na zdravljenje ran**“, in dovoljujem sodelovanje moje živali v tej raziskavi.

Moje sodelovanje v raziskavi je popolnoma prostovoljno in v primeru, da sodelovanje v toku raziskave kadar koli prekinem, krijem vse stroške, ki so do sedaj nastali z zdravljenjem moje živali.

Rezultati te raziskave bodo služili napredku znanja veterinarske medicine.

Dobrobiti, tveganja in nevšečnosti, ki bi jim utegnila biti podvržena moja žival, mi je razumljivo razložil(-a), ki je odgovoren(-rna) za varnost v poteku raziskave. Povedal(-a) mi je tudi, na koga naj se obrnem v primeru določenih nevšečnosti v njegovi/njeni odsotnosti. Zato prostovoljno in obveščeno pristajam na sodelovanje moje živali v tej raziskavi in se tudi strinjam, da se v raziskovalne namene uporabijo brisi ran, ki bodo odvzeti med zdravljenjem.

Podpis lastnika živali Datum.....

Izjava raziskovalca

Podpisani(-a) sem razumljivo razložil(-a) lastniku živali dobrobiti, tveganja in nevšečnosti sodelovanja v raziskavi.

Podpis raziskovalca..... Datum.....

Priča:

PRILOGA 3

Tabela 9: Površina ran v cm², po dnevih, pri mačkah.

Osenčena polja predstavljajo rane, ki so imele na dan 0 površino večjo od 10 cm² pri mačkah.
Rane, ki so imele na dan 0 površino manjšo od 10 cm², so neosenčene.

DAN	RANA										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	24,4	51,5	7,7	3,1	2,5	50,8	60,4	1,0	4,7	3,1	1,5
3	24,3	53,4	5,0	4,5	2,2	32,9	25,5	0,9	6,1	2,7	0,9
7	23,4	47,3	0,0	4,0	0,9	35,1	19,9	0,3	5,3	2,2	0,3
14	18,5	39,3		3,8	0,0	12,1	10,4	0,3	5,6	1,3	0,0
21	16,7	32,9		1,9		4,2	5,8	0,1	4,8	0,2	
28	13,5	32,9*		0,0		3,0	2,5	0,0	3,0	0,0	
37	13,5*	32,9*				3,0*	0,0		2,0		
43	13,5	10,1				0,0			1,07		
50	13,6	6,4							0,8		
58	14,5	6,4*							0,3		
71	7,9	6,4*							0,0		
78	7,1	1,8									
85	7,1*	1,0									
100	7,1*	0,0									
107	0,0										

*meritev niso bile opravljene, zato smo upoštevali predhodno meritev.

Tabela 10: Površina ran v cm², po dnevih, pri psih.

Osenčena polja predstavljajo rane, ki so imele na dan 0 površino večjo od 5 cm² pri psih.
Rane, ko so imele na dan 0 površino manjšo od 5 cm², so neosenčene.

DAN	RANA										
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
0	7,2	9,5	2,2	10,1	8,5	10,3	8,0	2,3	9,0	1,1	1,5
3	8,8	9,7	1,8	8,2	10,8	9,7	7,9	2,0	7,3	1,3	0,9
7	9,0	6,5	1,0	9,4	11,3	8,8	7,1	1,9	4,2	1,3	0,0
14	7,6	4,5	0,5	3,0	7,7	5,5	4,8	0,9	2,8	0,3	
21	4,7	2,7	0,5	1,2	0,6	4,2	4,2	0,4	1,0	0,0	
28	2,5	1,4	0,2	0,0	0,0	4,2*	2,0	0,0	0,0		
37	2,5*	1,4*	0,2*			1,5	0,0				
43	1,7	1,3	0,0			0,0					
50	1,2	1,1									
57	1,2	1,1									
85	0,0	0,0									

*meritev niso bile opravljene, zato smo upoštevali predhodno meritev.

Tabela 11: Delež zmanjšanja površine rane v odstotkih, po dnevih, pri mačkah.

Osenčena polja predstavljajo rane tipa 1 (na dan 0 prizadeta koža in podkožje) pri mačkah.
 Neosenčena polja predstavljajo rane tipa 2 (na dan 0 prizadeta koža, podkožje, mišice, kite in kosti) pri mačkah.

DAN	RANA										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	0,7	-3,7	35,6	-42,4	11,3	35,2	57,8	5,1	-29,1	12,1	38,0
7	4,4	8,2	100,0	-28,1	62,8	30,8	67,1	72,1	-11,1	28,6	77,1
14	24,3	23,7		-19,6	100,0	76,2	82,7	72,2	-19,0	59,1	100,0
21	31,7	36,1		39,3		91,7	90,4	91,0	-0,4	92,2	
28	44,9	36,1*		100,0		94,0	95,9	100,0	37,4	100,0	
37	44,9*	36,1*				94,0*	100,0		58,1		
43	44,7	80,4				100,0			77,2		
50	44,3	87,6							83,1		
58	40,7	87,6*							92,8		
71	67,8	87,6*							100,0		
78	71,1	96,4									
85	71,1*	98,1									
100	71,1*	100,0									
107	100,0										

*meritev niso bile opravljene, zato smo upoštevali predhodno meritev.

Tabela 12: Delež zmanjšanja površine rane v odstotkih po dnevih, pri psih.

Osenčena polja predstavljajo rane tipa 1 (na dan 0 prizadeta koža in podkožje) pri psih.
 Neosenčena polja predstavljajo rane tipa 2 (na dan 0 prizadeta koža, podkožje, mišice, kite in kosti) pri psih.

DAN	RANA										
	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3	-21,5	-2,8	17,8	19,2	-27,2	5,8	1,8	10,2	18,9	-24,1	36,3
7	-24,6	31,7	55,6	7,6	-32,1	14,7	11,7	13,8	52,7	-17,2	100,0
14	-5,6	52,6	79,5	70,6	9,8	47,2	40,4	58,0	68,5	71,5	
21	35,5	71,3	79,2	88,5	92,8	59,0	47,6	82,5	88,4	100,0	
28	65,9	85,4	90,2	100,0	100,0	59,0*	75,1	100,0	100,0		
37	65,9*	85,4*	90,1*			85,5	100,0				
43	77,0	86,8	100,0			100,0					
50	83,8	88,1									
57	82,9	88,3									
85	100,0	100,0									

*meritev niso bile opravljene, zato smo upoštevali predhodno meritev.

PRILOGA 4



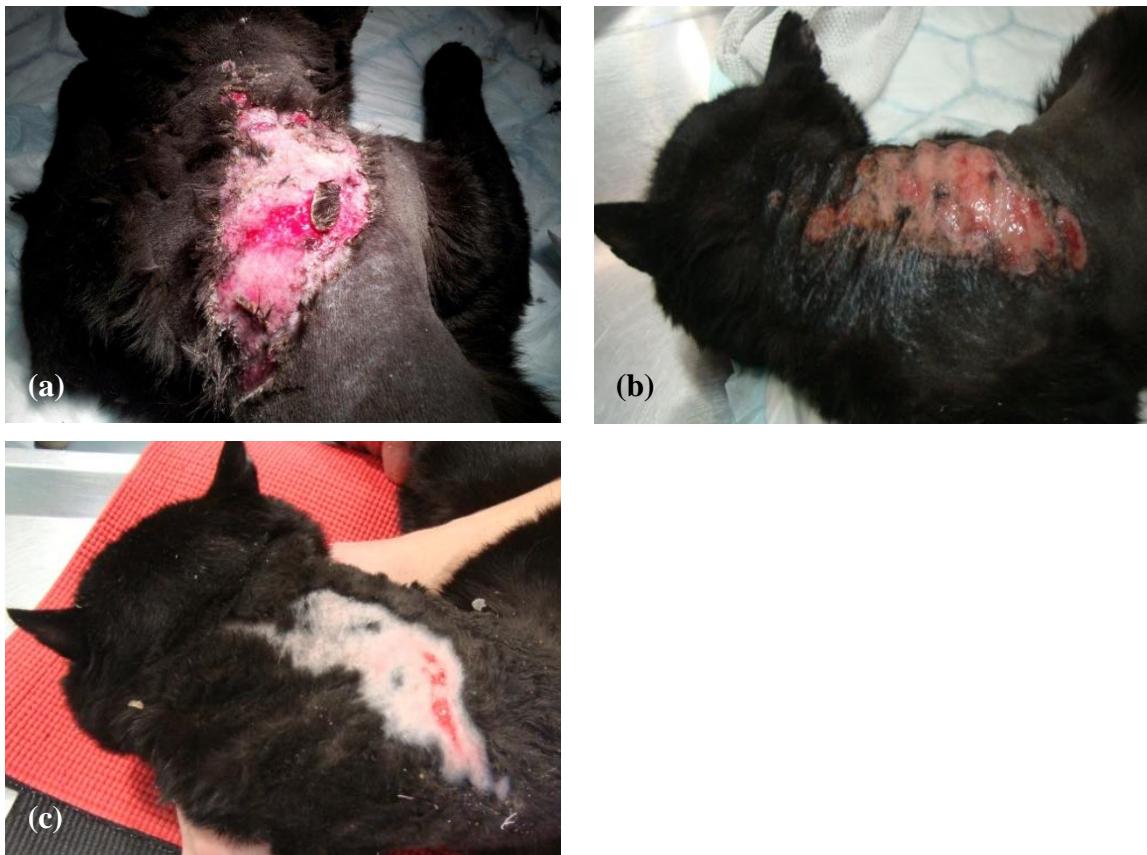
Slika 25: Celjenje odrgnine na distalnem delu zadnje okončine pri psu z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. (B) Rana 14. dan zdravljenja. (C) Rana 35. dan zdravljenja. (D) Okončina 47 dni po zacetilvi rane.



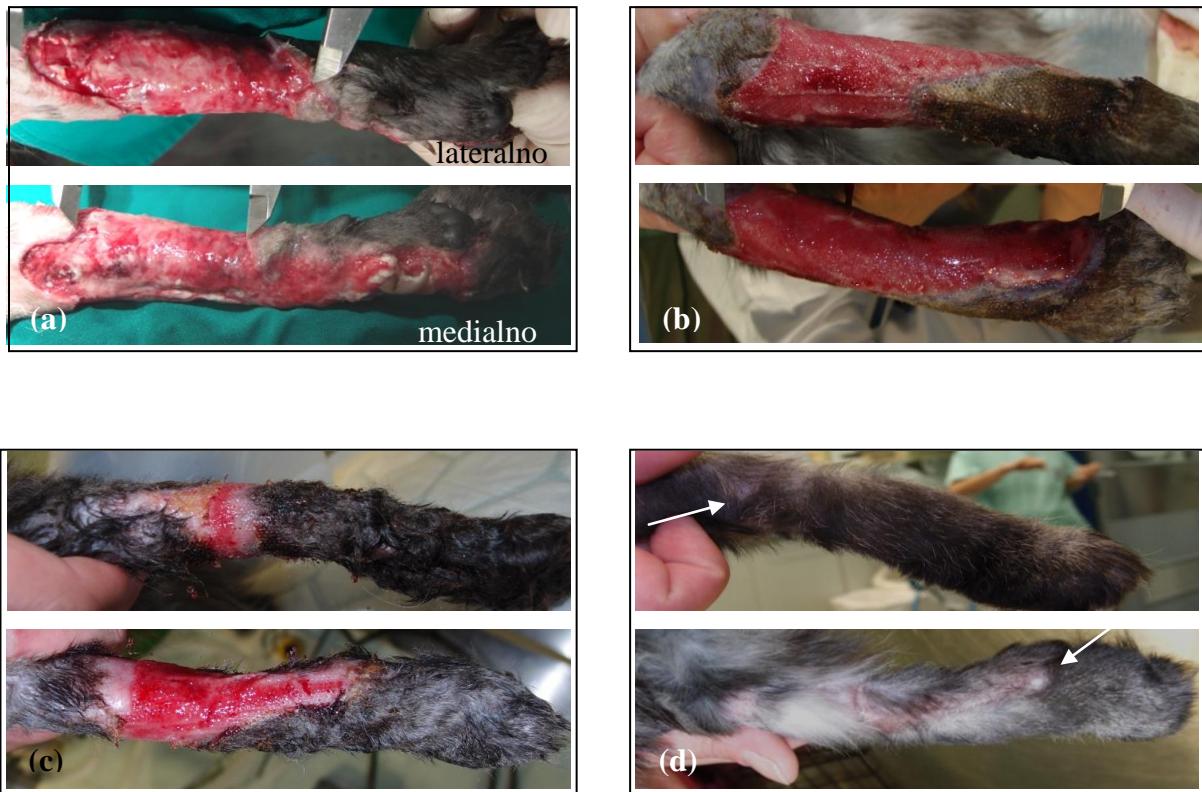
Slika 26: Celjenje stružnih ran na distalnem delu zadnje okončine pri psu z medicinskim medom.

(A) Rane na dan 0. (B) Rane 3. dan zdravljenja. Rana ob tarzalnem sklepu sega do kosti (puščica). V ozadju je obveza prepojena z eksudatom. (C) Rana 14. dan zdravljenja. (D) Rane 43. dan zdravljenja. Rana na 2.prstu je zaceljena. (E) Rane 57. dan zdravljenja. (F) Rane so bile zaceljene po 85. dneh zdravljenja z medicinskim medom. Brazgotina je minimalna (puščica), kožo pa na mestu, kjer je bila rana prerašča dlaka.



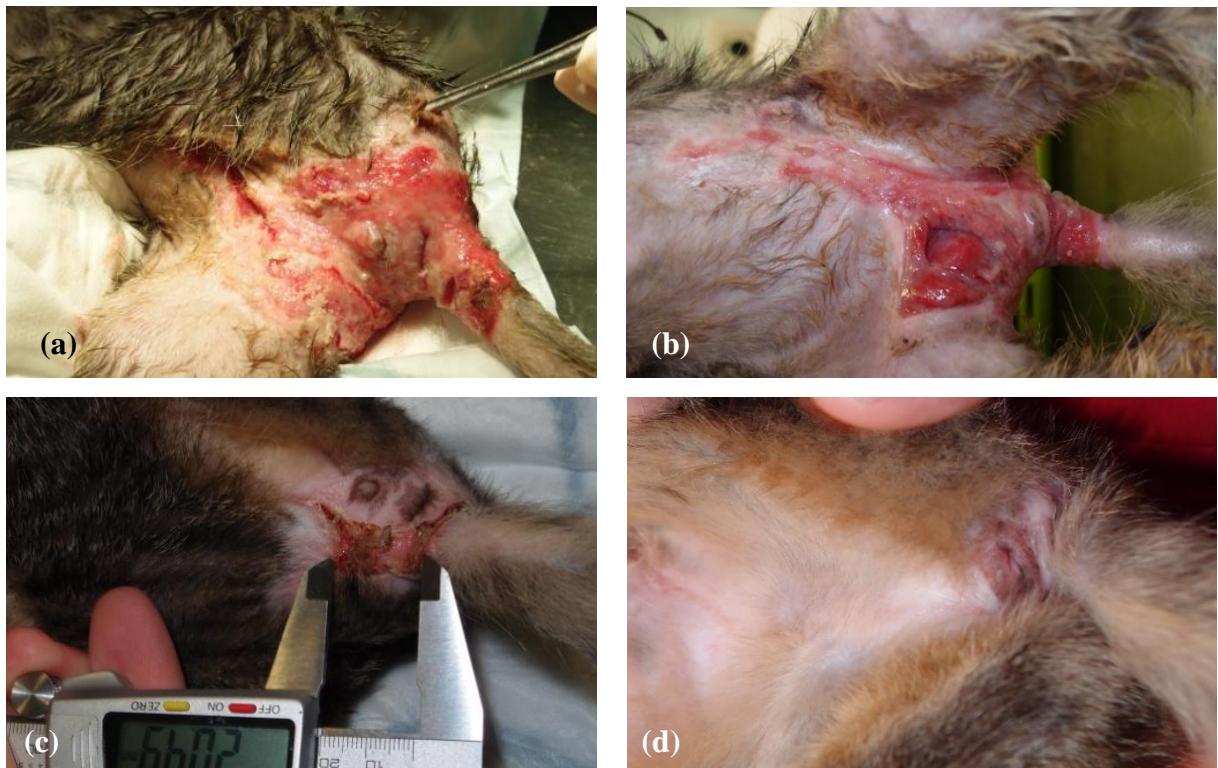
Slika 27: Celjenje opeklne dorzalno med skapulama pri mačku z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. (B) Rana 1. dan zdravljenja. (C) Rana 28. dan zdravljenja.



Slika 28: Celjenje lacerokontuzne rane z medicinskim medom na sprednji okončini z zlomljeno podlaktnico pri mački.

(A) Rana na dan 0. (B) Rana po 14. dneh zdravljenja prekrita z zdravim granulacijskim tkivom. (C) Rana 52. dan zdravljenja. (D) Okončina po 14. dneh od zacelitve rane. Brazgotina je minimalna (puščici), koža je skoraj na celotnem področju, kjer je bila rana, odlakana.



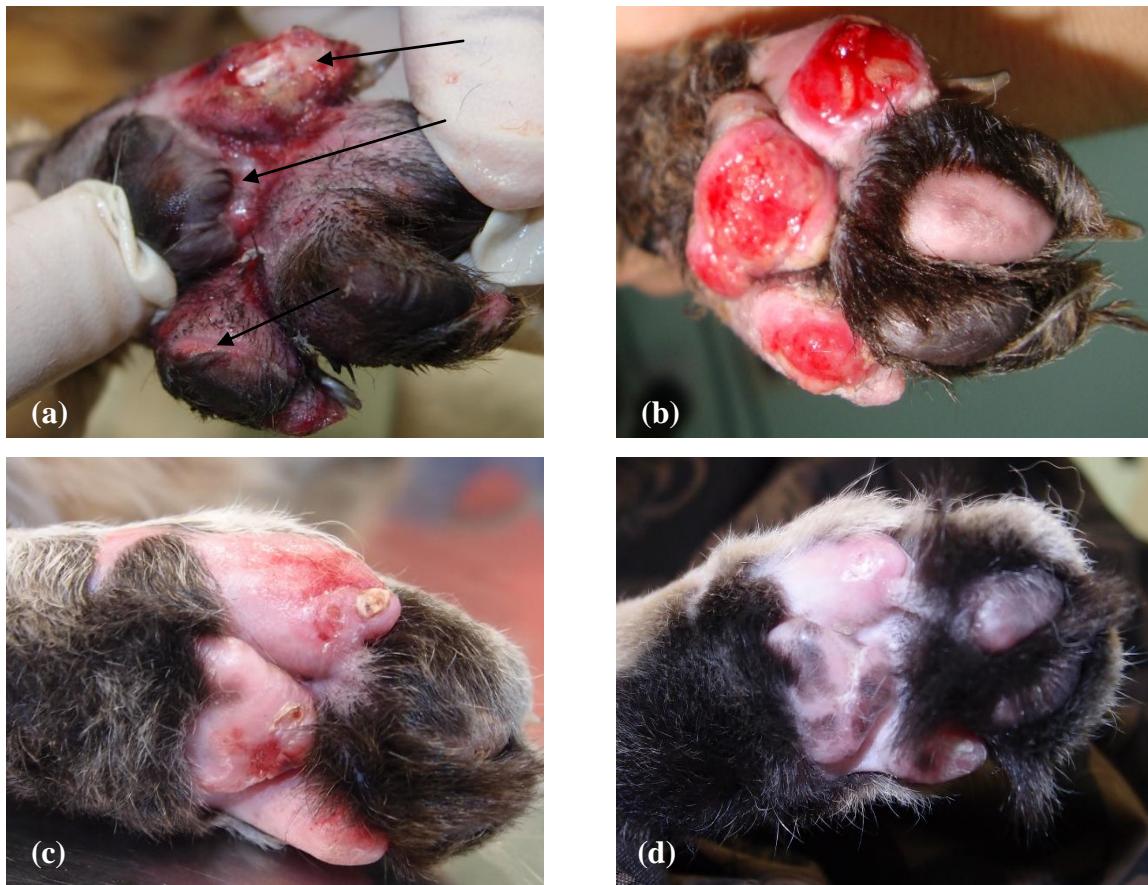
Slika 29: Celjenje idiopatske rane na področju trebuha, anusa in noge pri mački z medicinskim medom.

(A) Nekrektomija na dan 0. (B) Rana 7. dan zdravljenja. (C) Rana 28. dan zdravljenja. (D) Področje trebuha in anusa 4 dni po zacementvi rane.



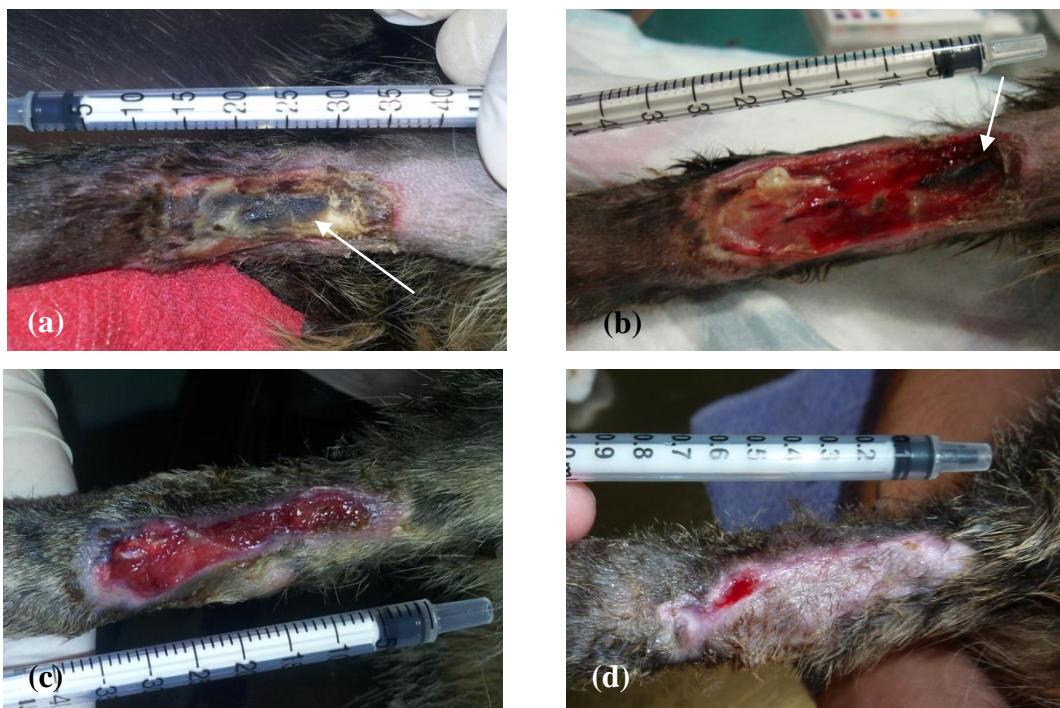
Slika 30: Celjenje lacerokontuzne rane na zadnji okončini pri mački z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. Prizadeta je bila tudi blazinica (puščica). (B). Rana 21. dan zdravljenja. Rana je segala preko tarzalnega sklepa (puščica). (C) Rana 65. dan zdravljenja. (D) Okončina po 44. dneh od zacetitve rane. Tudi blazinice so se obnovile (označeno s puščico).



Slika 31: Celjenje odrgnine na zadnji šapi pri mački z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. Avulzija treh blazinic (puščice). (B) Rana 14. dan zdravljenja. (C) Zacetjena rana 28. dan. (D) Šapa po 1 mesecu od zacetitve ran.



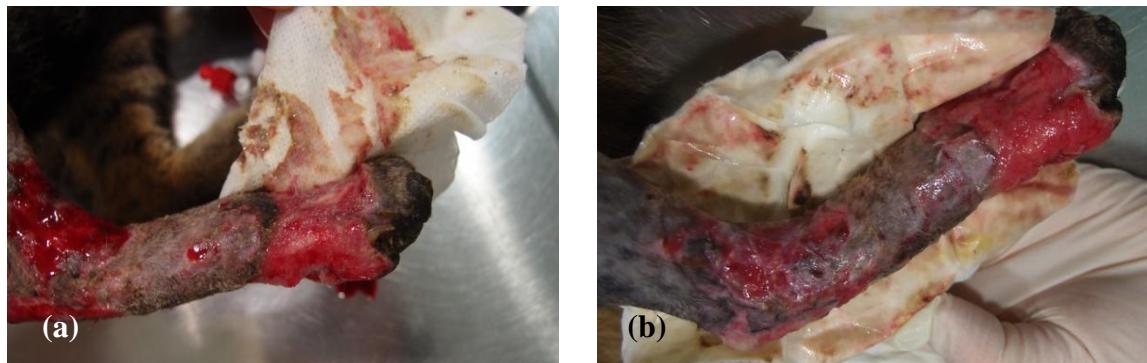
Slika 32: Celjenje idiopatske rane na zadnji okončini pri mački z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. Rana je bila prekrita s suho nekrozo (puščica). (B) Rana 7. dan zdravljenja. Rana je bila še vedno nekrotična (puščica). (C) Rana 28. dan zdravljenja prekrita z zdravim granulacijskim tkivom, na robovih rane je vidna epitelizacija. (D) Rana 60. dan zdravljenja.



Slika 33: Celjenje relaksacijske incizijske rane na okončini pri psu z medicinskim medom.

(A) Rana na dan 0. Koža okoli rane je obarvana zaradi uporabe razkužila pri pripravi kirurškega polja pred operacijo. (B) Rana 14. dan zdravljenja. (C) Rana 24. dan zdravljenja.



Slika 34: Zdravljenje ran z medicinskim medom pri mački.

(A) Rana 1. dan. Obveza se je prilepila na rano. (B) Rana 2. dan zdravljenja. Obveza se na rano ni prilepila, uporabili smo Melolin® oblogo.