



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2010 00654**

(22) Data de depozit: **26/07/2010**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30/12/2015** BOPI nr. **12/2015**

(41) Data publicării cererii:
28/02/2012 BOPI nr. **2/2012**

(73) Titular:
• **UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRICOLE
ȘI MEDICINĂ VETERINARĂ A BANATULUI
DIN TIMIȘOARA, CALEA ARADULUI
NR. 119, TIMIȘOARA, TM, RO**

(72) Inventatori:
• **DĂRĂBUȘ GHEORGHE, STR. FELIX
NR. 11, AP. 10, ET. 2, TIMIȘOARA, TM, RO;**

• **OLARIU LUCIA ILEANA,
STR. VICTOR BABEȘ NR. 9, TIMIȘOARA, TM,
RO;**
• **ILIE MARIUS STELIAN, NR. 127,
COMUNA BECICHERECU MIC, TM, RO**

(56) Documente din stadiul tehnicii:
<http://www.evenimentul.ro> din 04.03.2009;
<http://www.sfatulmedicului.ro> din 02.11.2009

(54) **UNGUENT ANTIMICOTIC ȘI UTILIZAREA ACESTUIA ÎN
TRATAMENTUL EXTERN AL DERMATOMICOZELOR**



Invenția se referă la un unguent antimicotic și la utilizarea acestuia pentru tratamentul extern al dermatomicozelor la câini, pisici, cobai, cu folosire în domeniul zoo-veterinar.

Se cunoaște folosirea în tratamentul dermatofitiilor a unor antimicotice de sinteză sau biosinteză, aplicate topic sau sistemic. Cele mai bune rezultate s-au obținut prin combinarea utilizării topice și sistemice în același timp, reducând astfel și contaminarea mediului. Se știe că, în terapia dermatofitiilor se folosesc unguente pe bază de antimicotice de sinteză sau biosinteză. Astfel de unguente pe bază de antimicotice de sinteză sau biosinteză sunt contraindicate animalelor gestante pentru că pot avea efecte teratogene, lucru valabil și pentru medicația sistemică.

Totodată, se cunoaște din literatura produselor vegetale că, *Allium sativum* este utilizat în cosmetică și dermatologie și în diferite afecțiuni precum: pediculoză, psoriazis, infecții cutanate, având acțiuni antibiotice, tonice și regeneratoare ale părului, acesta acționând ca antioxidant, detoxifiant, cât și pentru reducerea glucozei și a colesterolului sanguin.

<http://www.evenimentul.ro> din 04.03.2009 se referă la un unguent pentru eczemă numulară cronică, unde se menționează că: "Se pun în 100 ml de ulei de floarea soarelui, 20 de căței de usturoi mărunțiți. Se fierb pe baie de aburi timp de 3 ore. Se strecoară apoi prin pânză (se stoarce). Peste uleiul rezultat se adaugă 50 g rășină de brad proaspătă. Se pune pe baie de aburi împreună cu uleiul până ce se topește, se strecoară din nou (pentru că rășina are mai mult ca sigur impurități), apoi se pune din nou pe baie de aburi și se adaugă 50 g ceară de albine. Se amestecă până se topește (la foc mic). Se ia de pe foc și se amestecă pentru a nu se solidifica în straturi. Se adaugă în compoziție o fiolă de vitamina F și una de vitamina E (de la farmacie) și 20 g Propoderm (unguent de la Apicola). Se omogenizează. Se aplică local 24 ore; se poate acoperi cu pansament. După ce se spală eczema, se puned în nou unguent. În paralel, se face și un tratament intern contra acestei afecțiuni";

<http://www.sfatulmedicului.ro> din 02 noiembrie 2009, referitor la alte tratamente pentru ciuperca piciorului, în care agenții cauzali incriminați cel mai des sunt: *Tricophyton mentagrophytes* și *Tricophyton rubrum*, este menționat usturoiul care "poate preveni apariția ciupercii piciorului".

Problema tehnică, propusă spre rezolvare de prezenta cerere, constă în obținerea unui unguent antimicotic pentru tratamentul dermatomicozelor la câini, pisici și cobai.

Soluția constă în faptul că se asociază într-o bază de unguent tip lanolină un extract de *Allium sativum*.

Unguentul conform invenției este constituit din: 0,6...3,0% tiosulfinați rezultați dintr-un extract de *Allium sativum* stabilizat, înglobat într-o bază de unguent, de preferință lanolina.

Unguentul conform invenției este folosit pentru tratamentul extern al dermatomicozelor la câini, pisici, cobai, fără efecte secundare, inclusiv la femelele gestante.

Unguentul conform invenției și utilizarea acestuia prezintă următoarele avantaje:

- este destinat tratamentului micozelor cauzate de diferiți dermatofiti precum *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, etc;

- nu are efecte secundare la femelele gestante, de pisică, câine, utilizabil și la animalele foarte tinere;

- nu are incompatibilități cu alte antimicotice topice sau sistematice.

Se prezintă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției.

Exemplu de realizare. Materialul vegetal proaspăt curățat, bulbi de *Allium sativum*, s-a mărunțit printr-un aparat de tip Warning. La bulbii curățați a fost adăugată o soluție tampon fosfat $\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ($\text{pH} = 7,0$) de 4°C , în raport de 2 g bulb : 1 v soluție tampon. S-a efectuat mărunțirea în 2-3 etape, timp de maximum 1 min, pentru a preveni încălzirea masei de macerat și astfel o eventuală pierdere în tiosulfinați. Maceratul obținut a fost supus centrifugării

la 4°C, timp de 30 min, la 3500 rot/min, într-o centrifugă Janetzky cu răcire. După centrifugare, s-a separat supernatantul, care s-a prezentat ca un lichid galben-deschis cu miros specific, puternic înțepător. Supernatantul s-a filtrat pe hârtie Wathman 1, sterilizată în prealabil în etuvă. S-au obținut în medie 250 ± 32 ml extract. 1 3

Pentru obținerea unei cantități de 100 g unguent, se amestecă 30 g lanolină cu 47,5-50 ml extract de *Allium sativum*, ce corespunde unui conținut de 0,6-3% tiosulfinați. Se omogenizează, apoi se adaugă lanolină până la 100 g unguent. Se amestecă bine până la obținerea unei mase omogene. 5 7

În continuare, este prezentată pe larg invenția. 9

Se cunoaște că una dintre problemele importante ale procesului de extracție din produsul vegetal este ca el să fie adus într-o stare cât mai apropiată de starea în care se afla inițial, când celula era vie și care să permită difuziunea și osmoza, implicit dizolvarea substanțelor din celula vegetală. S-a observat că celulele moarte își pierd puterea lor osmotică, dar totuși, când prin perețele celular pătrunde o cantitate de apă, puterea osmotică a celulei este restabilită într-o oarecare măsură. 11 13 15

Invenția se referă și la determinarea principalilor bioconstituenți ai extractului și la testarea din punct de vedere al menținerii cantității de tiosulfinați în funcție de condițiile de condiționare și de depozitare. 17

Determinarea cantitativă a principalilor bioconstituenți din extractul obținut a fost efectuată după cum urmează: umiditatea și cenușa prin metoda gravimetrică, glucidele reductoare prin metoda Bertrand, lipidele totale prin metoda extracției cu solvenți (Soxhlet) și proteinele totale, prin metoda microKjeldhal. 19 21

Valorile medii ale principalilor componenți chimici din extractul apos de *Allium sativum* au fost: umiditatea - $73,3 \pm 1,25\%$; cenușă - $0,8 \pm 0,02\%$; glucide - $20,3 \pm 0,98\%$; lipide - $0,24 \pm 0,04\%$; protide - $6,36 \pm 0,27\%$. 23 25

Compoziția în principalele macro- și microelemente din extractul de *Allium sativum* a fost următoarea: Ca - $62 \pm 0,5$ mg%; Mg - $55 \pm 1,3$ mg%; P - 480 ± 23 mg%; S - 55 ± 62 mg%; Cl - $31 \pm 0,7$ mg%; Na - 16 ± 18 mg%; K - $92 \pm 3,2$ mg%; Fe - $3,6 \pm 0,20$ μg%; Zn - $1,5 \pm 0,9$ μg%; Al - $0,60 \pm 0,21$ μg%; Ba - $0,72 \pm 0,12$ μg%; Mn - $0,60 \pm 0,10$ μg%; Cu - $0,2 \pm 0,05$ μg%; Sr - $0,30 \pm 0,02$ μg%; Se - $15 \pm 3,3$ μg%; Co - urme; V - urme. 27 29

Conținutul în principalii compuși cu sulf din *Allium sativum* s-a exprimat în cantitatea de tiosulfinați (mmol/100 ml extract) și a fost determinat (prin metoda Nakata), după diferite intervale de timp de depozitare la temperatura de 4°C. 31 33

Tiosulfinații suferă o depreciere aproape insesizabilă la extractul apos stabilizat la temperatura de 4°C. 35

Invenția se referă la un unguent antimicotic și la utilizarea acestuia, cu un conținut de 0,6-3,0% tiosulfinați (corespunzător concentrației extractului de *Allium sativum*), înglobat într-o bază de unguent, de preferință lanolină. 37

Pentru obținerea unei cantități de 100 g unguent, s-au amestecat 30 g lanolină cu 47,5-50 ml extract de *Allium sativum*, ce corespunde unui conținut de 0,6-3% tiosulfinați. S-au omogenizat, apoi s-a adaugat lanolină până la 100 g unguent. S-a amestecat bine până la obținerea unei mase omogene. Unguentul trebuie să fie cât mai omogen. 39 41

Conservarea se face în vase bine închise și la loc răcoros. 43

Durata de valabilitate a produsului este de 1 an.

Substanțele care servesc la prepararea unguentului trebuie să îndeplinească condițiile prevăzute în *Farmacopee*. 45

Unguentul este indicat în tratamentul micozelor cauzate de dermatofiți din genurile *Microsporum* și *Trichophyton*, el putând fi aplicat pe toate regiunile cutanate ale corpului. 47

1 Aplicarea unguentului se face în strat subțire pe porțiunile afectate, o dată pe zi, pre-
ferabil seara, timp de 15-30 de zile, până la dispariția leziunilor.

3 Durata terapiei variază cu intensitatea și întinderea leziunilor generate de dermatofiți.
Unguentul a fost testat în cadrul unui proiect de cercetare CNCSIS, realizat în perioada
5 2003-2005. Comparând rezultatele obținute de unguentul antimicotic cu *Allium sativum* în
terapia dermatofitiilor, față de unele unguente ce conțin antimicotice de sinteză, se poate spune
7 că, topic, efectele sunt comparabile.

TESTĂRI FARMACOLOGICE

9 În ultimele decenii, la nivel global se constată o creștere a incidenței dermatofitiilor, atât
la om cât și la animalele receptive. În mediul urban, în principal carnivorele domestice infectate
11 cu dermatofiți (cu evoluție simptomatică sau asimptomatică) reprezintă o sursă importantă de
infecție pentru om. Infecția cu *Microsporum canis* la om se realizează, în special, pornind de la
13 gazda animal (în principal pisică) deoarece după patru pasaje om-om, micetul își pierde
virulența.

15 Având în vedere aceste considerente, utilizarea unor mijloace eficiente de control para-
zitolgic al dermatomicozelor la carnivore reprezintă o modalitate de prevenire și combatere a
17 acestora atât la om, cât și animale. Eșecurile terapeutice și profilactice în dermatofitiile sunt
cauzate de: terapia necontrolată sau efectuată pe perioade prea scurte, utilizarea îndelungată
19 a aceluiași antimicotic, terapia fără o prealabilă antimicogramă, tratamente empirice, folosirea
unor medicamente imunosupresoare sau neutilizarea terapiei adjuvante care să țină cont de
21 fiecare caz în parte, etc.

23 În general, în tratamentul dermatofitiilor se utilizează antimicotice de sinteză sau bio-
sinteză, aplicate topic sau sistemic. Cele mai bune rezultate se obțin prin combinarea utilizării
topică și sistemice, în același timp împiedicându-se și contaminarea mediului.

25 Totuși, la pisicile gestante, întrucât antimicoticele sistemice au efecte teratogene, se
recomandă terapia topică până când pisica și puii după înțarcare pot fi tratați corespunzător.

27 Dacă în bolile infecțioase, vaccinările reprezintă o importantă variantă de profilaxie, în
dermatofitiile, datorită complexității moleculare a fungilor, rezultatele obținute prin imunoprofilaxie
29 nu sunt foarte încurajatoare.

31 Pe baza cunoștințelor acumulate până în prezent, cu privire la controlul dermatofitiilor,
s-a urmărit testarea eficacității terapeutice a unor extracte naturale în microsporie la pisică și
câine și a unor vaccinuri în microsporia experimentală la pisici.

33 A. TESTAREA EFICACITĂȚII TERAPEUTICE A UNOR ANTIMICOTICE ÎN DERMATOFITII LA CÂINE ȘI PISICĂ

35 1. Testarea eficacității terapeutice a unor extracte naturale din plante în microsporia
experimentală la pisică

37 MATERIALE ȘI METODE

39 Testarea acțiunii antimicotice a unor extracte naturale a fost efectuată pe 9 pisici,
grupate în trei loturi de câte 3 care, au fost infectate experimental în ziua 0 cu *M. canis* pe cale
cutanată, în regiunea dorsală a capului, prin scarificare. Inoculul de *M. canis* a provenit dintr-o
41 cultură pe mediul Sabouraud, având ca origine o pisică cu microsporie. Soluția cu *M. canis* a
fost aplicată pe zona tunsă și scarificată. Protecția s-a realizat cu un plasture și un guler
43 Elisabetan.

45 Extractul de *Allium sativum* a fost administrat începând cu a 30-a zi post-infecție; zilnic
s-au aplicat local, pe zona afectată, soluțiile mai sus menționate, prin tamponare.

47 De asemenea, în zilele 30, 36, 43, 52 și 60, au fost efectuate examene clinice, apreciind
evoluția post-terapeutică. În ziua a 30-a, când a început tratamentul, și în ziua a 60-a, când
experimentul a fost încheiat, s-a efectuat examen microscopic de raclat cutanat și examen al
49 culturii microbiene (Tabelul 1).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Rezultatul acțiunilor terapeutice antimicotice a extractelor naturale testate sunt redate în tabelul 2.

La începutul experimentului, toate cele 9 pisici infectate cu *M. canis* prezentau pe cap cruste și scuame de culoare albă, eritem și leziuni de grataj.

Pe parcursul terapiei cu *Allium sativum*, crustele au început să se desprindă și părul să se regenereze. După 30 zile, s-a obținut vindecarea clinică, confirmată cultural în proporție de 100%. La două din cele trei pisici s-au observat leziuni secundare (Tabelul 2).

La lotul II tratat cu extract antimicotic crud, într-un ritm mai redus decât la primul lot, crustele au început să dispară și părul să se regenereze. Totuși, la 30 zile post-terapie încă o pisică mai prezenta cruste mici. Vindecarea s-a produs în proporție de 66%, confirmarea venind și prin examen cultural.

Lotul martor III netratat, după 30 zile de la începerea experimentului de testare a medicației antimicotice și, respectiv, 60 zile de la infecția experimentală cu *M. canis*, mai prezenta puține cruste, dar și o ameliorare clinică evidentă. Totuși, examenul cultural a evidențiat prezența parazitului la toate pisicile.

RO 127079 B1

Tabelul 1

Protocol experimental privind acțiunea antimicrobică a unor extracte naturale

Lot	Nr. pisici	Specificarea activităților desfășurate					
		Ziua 0	Ziua 30	Ziua 36	Ziua 43	Ziua 52	Ziua 60
I	3	Infecție experimentală cu <i>M. canis</i>	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural -Terapie locală cu extract de <i>Allium sativum</i> *	Examen clinic	Examen clinic	Examen clinic	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural
II	3	Infecție experimentală cu <i>M. canis</i>	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural -Terapie locală cu extract antimicrobic crud*	Examen clinic	Examen clinic	Examen clinic	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural
III	3	Infecție experimentală cu <i>M. canis</i>	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural	Examen clinic	Examen clinic	Examen clinic	- Examen clinic - Examen microscopic - Examen cultural

Legendă: * = zilnic, timp de 30 de zile

RO 127079 B1

Tabelul 2

Eficacitatea terapeutică a unor extracte naturale în infecția experimentală cu *Microsporum canis*

Lot	ZIUA POST-TERAPIE				
	0	6	13	22	30
I Tratat cu <i>Allium sativum</i> (n = 3)	-Ex. clinic: cruste și scuame de culoare albă, eritem și leziuni de grataj 3/3 - Ex. microscopic: + 3/3 - Ex. cultural: + 3/3	- mici cruste cafenii sau cenușii, cu ameliorare evidentă 3/3	- mici cruste, părul începe regenerarea 3/3	- fără cruste, părul se regenerează 3/3 - leziuni secundare 2/3	- vindecare clinică 3/3 - Ex. cultural: + 0/3 - leziuni secundare 2/3
II Tratat cu extract antimicotic crud (n = 3)	- Ex. clinic: cruste și scuame de culoare albă, eritem și leziuni de grataj 3/3 - Ex. microscopic: + 3/3 - Ex. cultural: + 3/3	- mici cruste și scuame gri-albicioase, ameliorare clinică 3/3	- fără cruste, părul se regenerează 1/3 - cruste maronii aderente, parțial părul se regenerează 2/3 - leziuni secundare 1/3	-fără cruste 1/3 - cu cruste mici 2/3 - leziuni secundare 1/3	- vindecare 2/3 - Ex. cultural: +1/3 - leziuni secundare 1/3
III Martor netratat (n = 3)	- Ex. clinic: cruste și scuame de culoare albă, eritem și leziuni de grataj 3/3 - Ex. microscopic: + 3/3 - Ex. cultural: + 3/3	- cruste groase de culoare gri-albicioasă 3/3	- cruste gri-albicioase 3/3 - leziuni de grataj 1/3	- cruste și scuame cu început de regenerare păr 3/3 - leziuni secundare 2/3	- mici cruste, ameliorare clinică evidentă 3/3 - Ex. cultural: + 3/3 - leziuni secundare: 2/3

Rezultatele obținute cu aceste extracte naturale sunt comparabile cu cele realizate de substanțele antifungice de sinteză dar, în plus, au avantajul că sunt ecologice. Extractul de *Allium sativum* a fost superior extractului antimicotic crud. Ambele însă s-au comportat ca toate topicele, au acționat local, permițând apariția de leziuni secundare. Având în vedere aceste considerente, extractele naturale ar putea fi utilizate în asociere cu antimicoticele sistemice și, pe de altă parte, ar putea reprezenta o variantă de terapie topică pentru femelele gestante și pentru puii acestora înainte de înțărare.

2. Testarea eficacității terapeutice a unui extract natural în microsporia naturală la pisică și câine.

MATERIALE ȘI METODE

Pentru determinarea eficacității antimicotice a extractului de *Allium sativum* au fost identificați 5 câini și 11 pisici parazitare cu *Microsporum canis*.

S-au utilizat două variante ale extractului de *Allium sativum*, respectiv, extractul apos și unguentul. După identificarea cazuisticii prin examen clinic, microscopic și cultural, s-a aplicat terapia topică, o dată pe zi, timp de 30 de zile. Rezultatele examenului clinic au fost evaluate la 15 zile. La 30 de zile post-terapie s-a făcut evaluarea clinică, microscopică și culturală finală (Tabelul 3).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Eficacitatea terapeutică a extractului de *Allium sativum* în infecția naturală cu *M. canis* la câini și pisici este prezentată în tabelul 4.

În urma evaluării evoluției clinice, la 15 zile post-terapeutic, s-a putut observa o ameliorare clinică la toate cazurile. În plus, unii pacienți nu mai prezentau cruste, ci doar scuame, iar părul începea să se regenereze.

După 30 de zile de terapie, examenul microscopic și cultural a fost negativ la cei 3 câini tratați cu extract apos de *Allium sativum*. Vindecarea clinică a fost înregistrată la 2 câini, doar unul mai prezentând scuame. De asemenea, prin examen clinic, microscopic și cultural, la unul dintre câini s-au identificat leziuni de microsporie.

La lotul II, alcătuit din 2 câini, tratat cu unguent de *Allium sativum*, vindecarea clinică a fost confirmată microscopic și cultural, în proporție de 100%. Nu s-au înregistrat leziuni secundare. Este posibil ca forma de unguent a extractului să fi împiedicat răspândirea și difuzarea micetului.

În cazul pisicilor, la lotul I, tratat cu extract apos de *Allium sativum*, s-a constatat o vindecare clinică în proporție de 80%. Examenul microscopic și cultural, la 30 de zile post-terapie, a fost negativ, la toate cele cinci pisici tratate. Cu toate acestea, la trei dintre cele cinci pisici, s-au observat leziuni secundare.

Lotul de pisici tratat cu unguent de *Allium sativum* a evoluat clinic spre vindecare. Doar la o pisică, după 30 de zile de tratament, s-au putut observa scuame la locul fostelor leziuni. Examenul microscopic și cultural a fost negativ la toate pisicile tratate. S-a înregistrat doar un caz la care au apărut leziuni secundare.

Comparând rezultatele obținute cu extractele de *Allium sativum*, în terapia microsporiei, cu cele din literatura de specialitate când s-au folosit substanțe antimicotice de sinteză, se poate spune că, topic, efectele sunt comparabile.

Unguentul cu *Allium sativum* s-a dovedit a fi mai eficient în prevenirea apariției leziunilor secundare.

RO 127079 B1

Tabelul 3 1

Protocol terapeutic în microsporia naturală la câini și pisici

Specia	Lot	Terapie cu:	Activități desfășurate			
			Ziua 0	Ziua 15	Ziua 30	
canină	I (n=3)	Extract apos de <i>Allium sativum</i>	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural Terapie topică	Examen clinic	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural	3 5 7 9
	II (n=2)	Cremă cu <i>Allium sativum</i>	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural Terapie topică	Examen clinic	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural	11 13
felină	I (n=5)	Extract opus de <i>Allium sativum</i>	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural Terapie topică	Examen clinic	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural	15 17
	II (n=6)	Cremă cu <i>Allium sativum</i>	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural Terapie topică	Examen clinic	Examen clinic Examen microscopic Examen cultural	19 21

Terapie topică - zilnic până în ziua 30.

RO 127079 B1

Tabelul 4

Eficacitatea terapeutică a extractului de Allium sativum în infecția naturală cu M. canis la câini și pisici

Specia	Lot	Rezultate		
		Ziua 0	Ziua 15	Ziua 30
canină	I Tratat cu Extract apos de <i>Allium sativum</i> (n=3)	- Ex. clinic: cruste și scuame 3/3 - Ex. microscopic: +2/3 - Ex. cultural: + 3/3	Ex. clinic: ameliorare 3/3	- Vindecare clinică: 2/3 - Ex. microscopic: + 0/3 - Ex. cultural: + 0/3 - Leziuni secundare: 1/3
	II Tratat cu cremă de <i>Allium sativum</i> (n=2)	- Ex. clinic: cruste, scuame, grataj 2/2 - Ex. microscopic: + 1/2 - Ex. cultural: + 2/2	Ex. clinic: - ameliorare 2/2 - fără cruste 1/2	- Vindecare clinică 2/2 - Ex. microscopic: + 0/2 - Ex. cultural: + 0/2 - Leziuni secundare: 0/2
felină	I Tratat cu Extract apos de <i>Allium sativum</i> (n=5)	- Ex. clinic: - cruste și scuame 5/5 - eritem 2/5 - Ex. microscopic: + 4/5 - Ex. cultural: + 5/5	Ex. clinic: - ameliorare 5/5 - fără cruste 2/5	- Vindecare clinică 4/5 - Ex. microscopic: + 0/5 - Ex. cultural: + 0/5 - Leziuni secundare: 3/5
	II Tratat cu cremă de <i>Allium sativum</i> (n=6)	- Ex. clinic: - cruste și scuame 6/6 - eritem 2/6 - prurit 1/6 - Ex. microscopic: + 4/6 - Ex. cultural: + 6/6	Ex. clinic: - ameliorare 6/6 - fără cruste 4/6	- Vindecare clinică 5/6 - Ex. microscopic: + 0/6 - Ex. cultural: + 0/6 - Leziuni secundare: 1/6

B. TESTAREA EFICACITĂȚII UNOR VACCINURI ANTIMICOTICE LA PISICĂ	1
MATERIALE ȘI METODE	
Protocolul experimental de testare a eficacității unui vaccin antimicotic, în microsporidie la pisici, este prezentat în tabelul 5. În experiment, au fost luate 9 pisici, împărțite în trei loturi a câte 3 pisici. Lotul I a fost vaccinat cu Biocan M (Bioveta), lotul II a fost imunosupresat cu dexametazonă, în timp ce lotul III a reprezentat martorul. La cinci zile de la începerea experimentului, toate cele 9 pisici au fost infectate experimental cu <i>Microsporium canis</i> din cultură, pe cale cutanată, după scarificare. Clinic, animalele au fost examinate în zilele 7, 12, 15, 18, 30 și 64 post-infecție. De asemenea, la 18 și, respectiv, la 64 zile post-infecție, prezența lui <i>M. canis</i> a fost verificată prin examene culturale (Mediul Sabouraud).	3
REZULTATE ȘI DISCUȚII	11
Rezultatul infecției cu <i>M. canis</i> și evoluția clinică în microsporidie, la loturile de pisici vaccinate, imunosupresate și martor, sunt prezentate în tabelul 6. La șapte zile post-infecției, toate pisicile martor și imunosupresate prezentau leziuni macroscopice cutanate, în timp ce, la cele vaccinate, leziuni aveau două din trei. La 12 zile post-infecție, toate pisicile infectate prezentau leziuni, mai grave la cele imunosupresate. A 18-a zi și după realizarea infecției, la toate cele 9 pisici, prin examen cultural, a fost izolat <i>M. canis</i> . Deci infecția cu <i>M. canis</i> a fost realizată în proporție de 100%, indiferent de condițiile experimentale.	13
După 64 zile post-infecție, toate cele trei pisici infectate și vaccinate nu mai prezentau cruste, iar părul a început să crească. Examenul cultural a fost negativ.	15
La lotul II imunosupresat, la 12 zile post-infecție o pisică a murit. Celelalte două pisici, la 64 zile post-infecție, mai prezentau mici leziuni iar examenul cultural a fost pozitiv. În plus, una dintre ele prezenta leziuni secundare.	17
La lotul martor, chiar în lipsa vaccinării și terapiei, la 64 zile post-infecție, nu existau leziuni macroscopice și părul începea regenerarea. O pisică prezenta leziuni secundare și, cultural, s-a identificat <i>M. canis</i> doar la una dintre cele trei pisici.	19
Pe baza rezultatelor obținute, se poate spune că vaccinul Biocan M, deși nu previne infecția experimentală, grăbește procesul de vindecare și negativare. Imunosupresia, în condițiile infecției experimentale cu <i>M. canis</i> , agravează simptomatologia, împiedică vindecarea spontană a bolii și favorizează apariția leziunilor secundare. Prin infecție experimentală cu <i>M. canis</i> , s-a demonstrat că vindecarea se poate produce spontan la unele cazuri.	21
Rezultatele obținute cu vaccinul Biocan M sunt similare cu altele obținute de diverși autori și cu cele găsite în urma utilizării altor vaccinuri. În general, este recunoscut că vaccinurile în microsporidie fie nu protejează deloc împotriva infecției cu <i>M. canis</i> , fie au permis o vindecare mai rapidă.	23
CONCLUZII	25
Extractul apos de <i>Allium sativum</i> are o eficacitate de 100% în infecția experimentală cu <i>Microsporium canis</i> , dacă este aplicat zilnic, timp de o lună.	27
Extractul antimicotic crud determină vindecarea a 66% dintre pisicile infectate experimental cu <i>M. canis</i> .	29
Extractul apos de <i>Allium sativum</i> și unguentul de <i>Allium sativum</i> au o eficacitate de 100% în infecția naturală cu <i>M. canis</i> la câini și pisici. Sub formularea de unguent, extractul de <i>A. sativum</i> determină o vindecare mai rapidă a leziunilor și previne în mai mare măsură apariția leziunilor secundare;	31
Vaccinul Biocan M, deși nu previne infecția cu <i>M. canis</i> , după două vaccinări la interval de 15 zile, grăbește procesul de vindecare a leziunilor și de negativare culturală.	33
Imunosupresia terapeutică în infecția cu <i>M. canis</i> agravează leziunile și împiedică vindecarea.	35

RO 127079 B1

Tabelul 5

Protocol experimental de testare a eficacității unui vaccin antimicotic în microsporie la pisici

Lot	Nr. pisici	Data și specificarea activităților desfășurate						
		18.03.03	22.03.03	29.03.03	3.04.03	9.04.03	18.04.03	22.05.03
I	3	Vaccin, im, 0,5 ml	Infecție cutanată cu <i>M. canis</i>	Ex. clinic	Vaccin, im, 0,5 ml Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural	Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural
II	3	Dexametazonă im, 0,5 ml/kg	Infecție cutanată cu <i>M. canis</i>	Ex. clinic	Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural	Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural
III Martor	3		Infecție cutanată cu <i>M. canis</i>	Ex. clinic	Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural	Ex. clinic	Ex. clinic Ex. cultural

RO 127079 B1

Tabelul 6 1

Evoluția clinică la pisicile infectate experimental cu M. canis și vaccinate sau imunosupresate

Lot	Ziua post -infecție						
	7	12	15	18	30	64	
I Vaccinat și infectat (n=3)	- 1/3 fără leziuni macroscopice - 2/3 cruste cafenii	- 3/3 cruste mici cafenii	- 1/3 cruste groase de culoare albă - 2/3 puține cruste	- 1/3 cruste alb cenușii - 2/3 piele umedă cu cruste și ușoare sângerare - Ex. cultural + 3/3	- 3/3 cruste alb cenușii	- 3/3 fără cruste, părul începe să crească - Ex. cultural + 0/3	3 5 7 9
II. Imunosupresat și infectat (n=3)	- 2/3 cruste și noduli - 1/3 cruste, noduli, leziune sângerândă	- 2/3 cruste mari și noduli subcutanați - 1/3 pisică moartă, cruste mari și noduli	- 2/2 cruste și scuame, eritem	- 2/2 cruste mici cafenii - Ex. cultural + 2/2	- 2/2 cruste mici, eritem, hiperpigmentare	- 2/2 mici scuame, părul începe să crească - Ex. cultural + 2/2 - 1/2 leziuni secundare pe urechi (cruste, congestii, crevase sângerânde)	11 13 15
III. Martor infectat (n=3)	- 3/3 mici scuame	- 3/3 cruste mari cafenii	- 3/3 cruste și scuame	- 2/3 cruste aderente umede - 1/3 mici cruste uscate - Ex. cultural + 3/3	- 3/3 cruste aderente	- 3/3 fără leziuni, părul crește - 1/3 leziuni secundare - Ex. cultural + 1/3	17 19

Revendicări

1. Unguent antimicotic, caracterizat prin aceea că este constituit din 0,6...3,0% tiosulfinați rezultați dintr-un extract de *Allium sativum* stabilizat, înglobat într-o bază de unguent, de preferință lanolina.

2. Utilizarea unguentului, definit la revendicarea 1, pentru tratamentul extern al dermatomicozelor cu *Microsporum canis* și *Trichophyton mentagrophytes*, la câini, pisici, cobai.



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
sub comanda nr. 702/2015