

УДК 617.7-002.3:616.98:576.851.252]-092.9

DOI 10.11603/2415-8798.2019.1.9990

©Н. Б. Курильців, К. М. Галей

ДУ “Інститут очних захворювань і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України”, м. Одеса

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ СТАФІЛОКОКОВОГО ЕКЗОГЕННОГО ЕНДОФТАЛЬМІТУ

Резюме. Екзогенний ендофтальміт розвивається унаслідок проникнення збудника через зовнішні бар'єри в порожнину ока. Після операційні ендофтальміти у структурі цього захворювання домінують і складають близько 70–80 %, причиною якого стають найчастіше аеробні грампозитивні бактерії (90 %). Тоді як посттравматичний ендофтальміт складає близько 25 %, при якому в 26,9–37,1 % випадках етіологічним чинником виступає *Staphylococcus aureus*. Це найагресивніший представник стафілококів для людини.

Мета дослідження – створити ефективну модель екзогенного стафілококового ендофтальміту в експериментальних тварин.

Матеріали і методи. В експерименті використали 120 кроликів породи шиншила, яких поділили на 2 групи (по 60 кроликів або 120 очей у кожній): контрольну та основну. В контрольній групі на обох очах проводили інтравітреальне введення 10 000 мікробних тіл штаму *Staphylococcus aureus* 3^a, який виділили з кон'юнктиви хворого. В основній – 150 000 мікробних тіл добової культури музейного штаму мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F – 49 (1,5×10⁵ КОЕ/см³). Клінічну картину експериментального ендофтальміту оцінювали за бальною системою. Ступінь запальних змін в органі зору в кожній окремій групі дослідження визначали сумою балів середніх показників.

Результати досліджень та їх обговорення. В контрольній групі кроликів тільки на 4 добу після інфікування отримано ендофтальміт легкого ступеня тяжкості на 104 очах (86,6 %). Середня сумарна кількість балів вираження клінічних проявів запалення становила (4,3±0,6) бала. В основній групі кроликів вже на 2 добу після інюкуляції збудника на усіх очах (100 %) розвинувся ендофтальміт, де на 28 очах (23,3 %) запалення відповідало легкому ступеню тяжкості, на 92 очах (76,7 %) запалення характеризувало тяжкий ступінь. На двох очах (1,7 %) сталась перфорація очного яблука з витканням внутрішньоочного вмісту. Середня сумарна кількість балів вираження клінічних проявів запалення – (9,8±1,0) бала.

Висновки. Отримання ефективної моделі екзогенного стафілококового ендофтальміту дає можливість повторного її створення для дослідження різних аспектів розвитку та лікування даного захворювання.

Ключові слова: екзогенний ендофтальміт; *Staphylococcus aureus*; експериментальна модель; інюкуляція збудника.

ВСТУП Питання вивчення причин, патогенезу екзогенного ендофтальміту та пошук ефективних методів лікування даної патології є надзвичайно актуальним. Вагомим внеском у вивчення цієї проблеми стало створення ефективної експериментальної моделі екзогенного ендофтальміту з можливістю подальшого вивчення захворювання не тільки на клінічному, а й на морфологічному рівнях.

Екзогенний ендофтальміт розвивається унаслідок проникнення збудника через зовнішні бар'єри в порожнину ока. При цьому першочергово уражаються внутрішньоочні середовища і вторинно в процес втягуються судинний тракт і сітківка [1]. Гострий та відтермінований післяопераційний ендофтальміт у структурі цього захворювання домінують і складають близько 70–80 %, причиною яких стають найчастіше аеробні грампозитивні бактерії (90 %), у 10 % випадків – грамнегативні бактерії та гриби. Посттравматичний ендофтальміт у структурі внутрішньоочно-го запалення складає близько 25 %, при якому в 26,9–37,1 % випадках етіологічним чинником виступає *Staphylococcus aureus* [2, 3]. Найчастіше ендофтальміт розвивається після екстракції катаракти (близько 70–90 % випадків) [4]. Значно рідше ендофтальміт може розвинути після *pars plana Vitrektomie*, вторинної імплантації кришталіка, проникаючих операцій при глаукомі, пенетруючої кератопластики, парацентезу передньої камери тощо [5, 6]. Ендофтальміт є одним із найважчих ускладнень проникаючих поранень ока. Розвиток внутрішньоочної інфекції супроводжує перебіг від 4,5 до 50 % проникаючих травм, наявність внутрішньоочною стороннього тіла асоціюється з ендофтальмітом у 6,9–16,7 % випадків [7–9]. За даними різних авторів, найчастішим збудником посттравматичного ендофтальміту є грампозитивні бактерії, а саме, *Staphylococcus aureus* (26,9–37,1 %) та *Staphylococcus epidermidis* (7,7–27,8 %) [10, 11].

Стафілококи дуже поширені представники мікрофлори шкіри та слизових людини. Одним із найагресивніших серед стафілококів для людини є *Staphylococcus aureus* (золотистий стафілокок) – стійкий, легко пристосовується до змін

умов при переході з одного середовища до другого, високівірulentний, він дуже швидко стає нечутливим до антимікробних препаратів, може персистувати в кон'юнктиві та носовій порожнині, є основним штамом внутрішньолікарняної інфекції [12, 13]. Також встановлено, що *Staphylococcus aureus* є головним чинником ендофтальмітів після інтравітреальних ін'єкцій, особливо якщо хірурги проводять їх не в умовах операційної та без захисних масок [12, 13].

Метою дослідження було створити ефективну модель екзогенного стафілококового ендофтальміту в експериментальних тварин.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Для проведення експериментального дослідження використали 120 кроликів-самців породи шиншила одного віку масою 2,5–3,0 кг, які перебували на стандартному раціоні харчування та в стандартних умовах віварію ДУ “Інститут очних захворювань і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України”.

Експериментальних тварин поділили на 2 групи по 60 кроликів (120 очей) у кожній: контрольну та основну. На усіх очах дослідних тварин проводили інстиляцію 1 % розчином бетадіну в кон'юнктивальну порожнину. Далі, в контрольній групі кроликів під місцевою анестезією оксиду прокаїну на обох очах за допомогою інсулінового шприца (26 gauge) проводили інтравітреальне введення (3,5 мм дозоду від лімба через плоску частину циліарного тіла у верхньозовнішньому квадранті ока) 10 000 мікробних тіл *Staphylococcus aureus* 3^a в 0,1 мл розчині Рінгера штаму, який виділили з кон'юнктиви хворого. Це є відомий спосіб створення моделі стафілококового ендофтальміту в кролика [14]. В основній групі за тією ж методикою було введено 150 000 мікробних тіл добової культури музейного штаму мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F – 49 (1,5×10⁵ КОЕ/см³) в 0,1 мл стерильного фізичного розчину.

Клінічну картину експериментального ендофтальміту оцінювали за бальною системою за критеріями, запропонованими G. A. Reuman et al. [15], де представлені 4 критерії за 3-бальною системою, та максимальна кількість балів становить 12 (табл.). Ступінь запальних змін

Таблиця. Шкала клінічних змін при гострому ендодфальміті у балах

Шкала	Кон'юнктива	Рогівка	Райдужка	Скliste тіло
0	Нормальна	Прозора	Нормальна	Прозоре
1	Помірний набряк	Фокальний набряк	Помірна гіперемія	Наявні ділянки помутнінь, червоний рефлекс збережений, деталі очного дна офтальмоскопуються
2	Набряк, помірна гіперемія, легкий ексудат	Дифузний набряк	Значна гіперемія	Помірномутне, рефлекс з очного дна слаборожевий, деталей очного дна не видно
3	Набряк, значна гіперемія, значний ексудат	Мутна	Значна гіперемія, синехії, нерухома або в'ялорохома зіниця	Немає рефлексу з очного дна

органа зору в кожній окремій групі дослідження визначали сумою балів середніх показників. Клінічну картину оцінювали, спираючись на зовнішній огляд, обстеження при боковому фокальному освітленні, огляд в прохідному світлі, пряму офтальмоскопію та ультразвукове дослідження (УЗД) органа зору.

Методику УЗД заднього відрізка ока кроликів проводили у В-режимі на апараті "Alcon Ultra Scan", використовували датчики з робочою частотою 10 MHz, що дозволило отримати чітке зображення структур ока на глибини 2; 3; 4; 5 та 6 см. Метод дослідження – через шкіру повік, через нижню або верхню закрити повіку (транскутанний та транспальпебральний методи) [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У результаті експериментального дослідження в контрольній групі кроликів тільки на 4 добу після інфікування отримано ендодфальміт легкого ступеня тяжкості на 104 очах (86,6 %), на яких спостерігали незначну змішану ін'єкцію очного яблука, поверхневий набряк рогівки, також на деяких очах набряк та повнокров'я райдужки, незначну опалесценцію вологи передньої камери, рожевий рефлекс з очного дна. При УЗД – незначні помутніння в склистому тілі, сітківка прилягала. Середня сумарна кількість балів вираження клінічних проявів запалення – (4,3±0,6) бала.

В основній групі кроликів вже на 2 добу після інюкуляції збудника на усіх очах (100 %) розвинувся ендодфальміт, що проявлявся більшою чи меншою мірою наявністю ознак внутрішньоочного запалення (змішана ін'єкція очного яблука, значний хемоз, поверхневий або стромальний набряк рогівки, опалесценція вологи передньої камери, гіпопіон).

У даній групі на 28 очах (23,3 %) реакція внутрішньоочного запалення відповідала легкому ступеню тяжкості за запропонованими критеріями. А саме, відмічали змішану ін'єкцію очного яблука, незначний хемоз, в деяких випадках фокальний набряк рогівки. Водночас, була наявна прозора волога передньої камери та помірна гіперемія райдужки, збереження червоного рефлексу з очного дна. При УЗД цих очей – відсутні або ніжні помутніння в склистому тілі, сітківка прилягає. У решті 92 очей (76,7 %) запалення характеризувало тяжкий ступінь. 3

них на 52 (43,3 %) очах були виражений набряк та ексудація кон'юнктиви, фокальний або дифузний набряк рогівки, опалесценція вологи передньої камери, значна гіперемія та набряк райдужки, наявність плаваючих точкових помутнінь у склистому тілі зі збереженням слаборожевого рефлексу з очного дна. Очне дно в деталях не офтальмоскопувалось через мутні оптичні середовища, що і підтверджувалось результатом УЗД. У 38 (31,7 %) очах наявні напруження та набряк повік, екзофтальм, значний хемоз та ексудація кон'юнктиви, мутна рогівка, гіпопіон, решта середовищ не видно. Це характеризувало розвиток панодфальміту. На двох очах (1,7 %) сталась перфорація очного яблука з витіканням внутрішньоочного вмісту. Середня сумарна кількість балів вираження клінічних проявів запалення – (9,8±1,0) бала.

У результаті проведеного експериментального дослідження вдалось отримати ефективну модель екзогенного стафілококового ендодфальміту в кроликів. Зважаючи на методику вже існуючої моделі, стало відомим, що вона є недосконалою, оскільки вдається отримати низький відсоток розвитку ендодфальміту легкого ступеня тяжкості тільки на 4 добу після інфікування, при необхідності отримання ендодфальміту середнього та важкого ступенів тяжкості на 2 добу після інфікування. Крім того, використовувати штаб, виділений із кон'юнктиви хворого, складно через необхідність дослідження його патогенності та вірулентності для подальшого застосування даного штабу в експерименті.

ВИСНОВКИ У ході проведеного експериментального дослідження вдалось отримати ефективну модель екзогенного стафілококового ендодфальміту, що підтвердилось виникненням розвиненої клінічної картини внутрішньоочного запалення вже на 2 добу після інюкуляції збудника.

Перспективи подальших досліджень Модифікація моделі дозволяє проводити повторне її створення для дослідження різних аспектів розвитку екзогенного стафілококового ендодфальміту на імунологічному та морфологічному рівнях. А також це дає можливість подальше експериментально досліджувати вплив різних методів лікування даної патології.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Weishaupt K. Identification of singlet oxygen as the cytotoxic agent in photoinactivation of murine tumor / K. Weishaupt, C. Gomer, T. Dougherty // Cancer Res. – 1976. – Vol. 36. – P. 2326–2329.
- Гундорова Р. А. Травми глаза / Р. А. Гундорова, В. В. Нероева, В. В. Кашникова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 560 с.
- Seal D. Ocular infection / D. Seal, U. Pleyer. – NY: Informa healthcare, 2007. – 380 p.
- Photodynamic therapy for cervical dysplasia / P. Wyss, Y. Tadir, B. J. Tromberg, U. Haller // Photomedicine in Gynecology and Reproduction. – 2000. – P. 265–269.
- Складчикова Н. Ю. Острый бактериальный эндодфальмит как осложнение хирургии катаракты. Результаты лечения / Н. Ю. Складчикова, В. С. Стебнев, Н. И. Складчикова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. – № 14 (133). – С. 337–339.

6. A 10 year retrospective survey of cataract surgery and endophthalmitis in a single eye unit: injectable lenses lower the incidence of endophthalmitis / E. Mayer, D. Cadman, P. Ewings [et al.] // Br. J. Ophthalmol. – 2003. – Vol. 87. – P. 867–869.
7. Albert D. M. Postoperative endophthalmitis / D. M. Albert, F. A. Jakobiec // Principles and Practice of Ophthalmology. – 2000. – P. 2441–2462.
8. Antibacterial therapy and intraocular surgery: problems and decisions / C. W. Roberts, P. J. McDonnell, S. E. Pascucci [et al.] // Ophthalmol. Times. – 2002. – Vol. 27 (5). – P. 16.
9. Bacterial endophthalmitis: Epidemiology, therapeutics, and bacterium – host interactions / M. C. Callegan, M. Engelbert, W. Parke [et al.] // Clinical Microbiology Reviews. – 2002. – Vol. 15. – P. 111–124.
10. The endophthalmitis vitrectomy study: relationship between clinical presentation and microbiologic spectrum / M. W. Johnson, B. H. Doff, S. F. Kelsey [et al.] // Ophthalmology. – 1997. – Vol. 104. – P. 261–272.
11. Al-Omran A. M. Microbiologic spectrum and visual outcomes of post-traumatic endophthalmitis / A. M. Al-Omran, E. B. Abboud, A. M. Abu El-Asrar // Retina. – 2007. – Vol. 27 (2). – P. 236–242.
12. Histopathological studies of staphylococcal alpha-toxin: effects on rabbit corneas / J. M. Moreau, G. D. Sloop, L. S. Engel [et al.] // Curr. Eye Res. – 1997. – Vol. 16. – P. 1221–1228.
13. Booth M. C. Accessory gene regulator controls *Staphylococcus aureus* virulence in endophthalmitis / M. C. Booth, R. V. Atkuri, S. K. Nanda [et al.] // Invest. Ophthalmol. Visual Sci. – 1995. – Vol. 36. – P. 1828–1836.
14. Родин С. С. Интравитреальное применение гедокса в лечении экзогенного бактериального эндофтальмита: дисс. ... канд. мед. наук : 14.00.08 / С. С. Родин; Украинский НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В.П.Филатова. – Одесса, 1993. – 196 с.
15. Postoperative endophthalmitis: A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin / G. A. Peyman, J. T. Paque, H. I. Meisels [et al.] // Ophthalmic Surg. – 1975. – P. 26–35.
16. Ultrasound imaging in the management of endophthalmitis / D. Satger, P. Pegourie, J. P. Romanet [et al.] // Fr. J. Ophthalmol. – 2007. – Vol. 30 (10). – P. 1037–1048.

Отримано 01.02.19

©Н. В. Кuryltsiv, К. М. Halei

N. Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy, National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Odesa

EXPERIMENTAL MODEL OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS EXOGENOUS ENDOPTHALMITIS

Summary. Exogenous endophthalmitis develops due to the penetration of the pathogen into the eye. Postoperative endophthalmitis dominates and makes up about 70–80 %, most often the cause of that is aerobic gram-positive bacteria (90 %). Whereas, post-traumatic endophthalmitis makes up about 25 %, in which in 26.9–37.1% of cases etiological factor is *Staphylococcus aureus*.

The aim of the study – creation of an effective model of exogenous staphylococcus aureus endophthalmitis in experimental animals.

Materials and Methods. The experiment was conducted in 120 chinchilla rabbits, which were divided into 2 groups (60 rabbits or 120 eyes each): the control and the main. In the control group, intravitreal injection of 10.000 microbial bodies of the strain *Staphylococcus aureus* 3^a from the patient's conjunctiva was performed on two eyes. In the main – 150.000 microbial bodies of the daily culture of the museum strain of microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F - 49. The clinical picture of the experimental endophthalmitis was evaluated by point system. The degree of inflammatory changes in the eye in each group of the study was determined by the sum of the scores of the averages.

Results and Discussion. In the control group of rabbits, only on the 4th day after infection, mild endophthalmitis was obtained in 104 eyes (86.6 %). The average total number of points of severity of inflammation was (4.3±0.6). In the main group of rabbits, on the 2nd day after the inoculation of the pathogen, endophthalmitis developed in all eyes (100 %), where in 28 eyes (23.3 %) inflammation corresponded to mild severity, in 92 eyes (76.7 %) – severe. In two eyes (1.7 %) an eyeball perforation occurred. The average total number of points of the severity of inflammation was (9.8±1.0).

Conclusions. Obtaining an effective model of exogenous staphylococcal endophthalmitis makes it possible to re-create it for the study of various aspects of the development and treatment of this pathology.

Key words: exogenous endophthalmitis; *Staphylococcus aureus*; experimental model; inoculation of pathogen.

©Н. Б. Курьльцив, К. Н. Галей

ГУ “Институт глазных болезней и тканевой терапии имени В. П. Филатова НАМН Украины”, г. Одесса

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ СТАФИЛОКОККОВОГО ЭКЗОГЕННОГО ЭНДОФТАЛЬМИТА

Резюме. Экзогенный эндофтальмит развивается вследствие проникновения возбудителя через внешние барьеры в полость глаза. Послеоперационные эндофтальмиты в структуре этого заболевания доминируют и составляют около 70–80 %, причиной которого чаще всего есть аэробные грамположительные бактерии (90 %). Тогда как посттравматический эндофтальмит составляет около 25 %, при котором в 26,9–37,1 % случаев этиологическим фактором выступает *Staphylococcus aureus*. Это самый агрессивный представитель стафилококков.

Цель исследования – создать эффективную модель экзогенного стафилококкового эндофтальмита у экспериментальных животных.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 120 кроликов породы шиншилла, которых разделили на 2 группы (по 60 кроликов или 120 глаз в каждой): контрольную и основную. В контрольной группе на двух глазах проводили интравитреальное введения 10 000 микробных тел штамма *Staphylococcus aureus* 3^a, который выделили из конъюнктивы больного. В основной – 150 000 микробных тел суточной культуры музейного штамма микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F – 49 (1,5×10⁵ КОЕ/см³). Клиническую картину экспериментального эндофтальмита оценивали по бальной системе. Степень воспалительных изменений органа зрения в каждой отдельной группе исследования определяли суммой баллов средних показателей.

Результаты исследований и их обсуждение. В контрольной группе кроликов только на 4 сутки после инфицирования получено эндофтальмит легкой степени тяжести на 104 глазах (86,6 %). Среднее суммарное количество баллов выраженности клинических проявлений воспаления составляло $(4,3 \pm 0,6)$ бала. В основной группе кроликов уже на 2 сутки после инокуляции возбудителя на всех глазах (100 %) развился эндофтальмит, где на 28 глазах (23,3 %) воспаление соответствовало легкой степени тяжести, на 92 глазах (76,7 %) – тяжелой степени тяжести. На двух глазах (1,7 %) произошла перфорация глазного яблока. Среднее суммарное количество баллов выраженности клинических проявлений воспаления – $(9,8 \pm 1,0)$ бала.

Выводы. Получение эффективной модели экзогенного стафилококкового эндофтальмита дает возможность повторного ее создания для исследования различных аспектов развития и лечения данного заболевания.

Ключевые слова: экзогенный эндофтальмит; *Staphylococcus aureus*; экспериментальная модель; инокуляция возбудителя.

Адреса для листування: К. М. Галей, ДУ “Інститут очних захворювань і тканинної терапії імені В. П. Філатова НАМН України”, Французький бульвар, 49/51, Одеса, 65061, Україна, e-mail: galej_kamy@tdmu.edu.ua