

**ОЦІНКА КЛІНІЧНОЇ КАРТИНИ ТА ІМУНОЛОГІЧНОГО СТАТУСУ У ЛАБОРАТОРНИХ ТВАРИН ПРИ МОДЕЛЬОВАНОМУ СТАФІЛОКОКОВОМУ ЕНДОФТАЛЬМІТІ**

**О. В. Зборовська**, канд. мед. наук, **Н. Б. Курильців**, аспірант

ДУ «Інститут очних хвороб і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України»

*Експериментальне дослідження проведено на 60 очах 30 кроликів породи шиншилла. Під місцевою анестезією в стекловидне тіло животним була введена культура музейного штаму *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 F-49 ( $1,5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>). Проведен аналіз клінічної картини, імунологічного відповіді та мікробіологічних змін. В результаті встановлено, що при моделюванні екзогенного ендоефталмиту у кроликів з нормальним імунно-неврологічним статусом відбувається активна відповідь клітин імунної захисту, що в комплексі з руйнівним впливом мікроорганізму призводить до формування незворотних морфо-функціональних змін в оці. На 3 дні експерименту були помічені зміни загальної та місцевої імунологічної відповіді, мікробіологічно підтверджено наявність збудника в середовищі ока при відсутності чіткої клінічної картини ендоефталмиту. До кінця експерименту відзначалась часткова аутостерилізація середовища ока за рахунок роботи імунної системи.*

**Ключові слова:** модельований екзогенний ендоефталміт, імунологічна відповідь, мікробіологічний аналіз

**Ключевые слова:** моделированный экзогенный эндофтальмит, иммунологический ответ, микробиологический анализ

**Введення.** Ендоефталміт (endophthalmitis, грец. Endon всередині + -ophthalmos око + -itis запалення) — це гнійне запалення внутрішніх оболонок очного яблука із просочуванням склистого тіла або формуванням абсцесу в ньому, яке може супроводжуватися повним розплавленням внутрішніх оболонок очного яблука. Ендоефталміт являється одним з найбільш важких різновидів запального процесу ока, що нерідко призводить не тільки до втрати зорових функцій, але й до втрати очного яблука як анатомічного органу [1].

В більшості випадків при гнійному іридоцикліті важко виключити ендоефталміт, особливо на ранніх стадіях. Наявність гнійного ексудату в склистому тілі є основним симптомом бактерійного ендоефталмиту, але на цьому етапі виявлення процесу, через появу деструктивних змін внутрішніх оболонок очного яблука, радикальне лікування не призводить до бажаного результату [2].

Можливість проведення бактеріологічного дослідження вологи передньої камери та скловидного тіла, визначення первинного загального та місцевого імунітету неодмінно призводить до зміни критеріїв та термінів можливої клінічної діагностики бактерійного ендоефталмиту.

**Мета:** вивчити клінічну картину, загальний та місцевий імунологічний статус в динаміці при експериментальному стафілококовому ендоефталміті.

**МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ.** Експериментальне дослідження проведено на 60 очах 30 кроликів породи шиншилла одного віку масою 2,5–3,0 кілограми, які утримувались в стандартних умовах та на стандартному раціоні харчування.

Всім тваринам було введено інтравітреально 0,1 мл культури музейного штаму мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F-49 ( $1,5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>) [3].

У всіх кроликів проводився клінічний аналіз органа зору з використанням зовнішнього огляду, прямої офтальмоскопії та додатково ехобіометрії, забір крові та слюзи для імунологічного аналізу, внутрішньоочної рідини, склистого тіла для мікробіологічного дослідження до початку інюкуляції збудника та в день виводу тварин з експерименту (3, 7, 10, 14, 21 та 30 дні від моменту інюкування).

При аналізі клінічних змін ми використовували шкалу, запропоновану Реуван Г. А. та колегами, що представлена в таблиці 1 [5].

Вивчення первинного імунного статусу проводили за стандартною методикою, запропованою ДУ «Інститут очних захворювань і тканинної терапії ім. В. П. Філатова НАМН України», для чого було проведено забирання крові з маргінальної вени вуха тварин. За допомогою методів прискореної первинної оцінки імунологічного статусу отримано: 1) абсолютну кількість лейкоцитів, 2) відносну та абсолютну кількість лімфоцитів, 3) відносну та абсолютну кількість Т-лімфоцитів, 4) відносну та абсолютну кількість Т-лімфоцитів-хелперів, 5) відносну та абсолютну кількість Т-лімфоцитів-супресорів, 6) відносну та абсолютну кількість В-лімфоцитів, 7) відносну та абсолютну кількість фагоцитуючих нейтрофілів.

Місцевий імунітет вивчений за допомогою методу цитологічного вивчення кон'юнктиви, який заключався в отриманні мазків-відбитків кон'юнктиви [4]. Для цього необхідним є наявність пластинок-переносників, які виготовлялися з поролонової пластики і були квадратної форми та розміром 8×8 міліметрів. Перед використанням вони стерилізувалися.

лізувалися. Після інстиляції анестетика в кон'юнктивальну порожнину, до поверхні нижньої пальпебральної та бульбарної кон'юнктиви за допомогою стерильного пінцету прикладалася стерильна пластинка-переносник на 3 хвилини, в результаті чого на її поверхні залишався шар епітеліальних клітин, різних видів лейкоцитів при бактерійному ураженні мікроорганізми та слизу. Після того пластинку-переносник поміщали на предметне скло, щільно віддавлювали на нього, а отриманий мазок профарбовували гематоксилін-еозином і мікроскопували. При мікроскопії відбитка підраховувалась кількість епітеліальних клітин і пластів на 100 клітин, кількість підтипів лейкоцитів на 100 клітин в лейкоцитарній формулі та індекс співвідношення лейкоцитів і лімфоцитів.

Таблиця 1

Оцінка клінічних змін при гострому ендодфальміті за шкалою Реупан G. A.

Шкала	Кон'юнктива	Рогівка	Райдужка	Склисте тіло
0	Нормальна	Прозора	Нормальна	Прозоре
1	Помірний набряк	Фокальний набряк	Помірна гіперемія	Наявні ділянки помутнінь, червоний рефлекс збережений, деталі очного дна не видно
2	Набряк, помірна гіперемія, легкий екссудат	Дифузний набряк	Значна гіперемія	Помірно-мутне, рефлекс з очного дна слабо-рожевий, деталі очного дна не видно
3	Набряк, значна гіперемія, значний екссудат	Мутна	Значна гіперемія, синехії, нерухомо або в'ялорухомо зіниця	Немає рефлексу з очного дна

При мікробіологічному дослідженні вологи передньої камери та склистого тіла експериментальних тварин проводився посів досліджуваного матеріалу на 5 % кров'яний агар і «Середовище для контролю стерильності». Аналіз результатів проводився через 24 і 48 годин.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.** *Клінічний аналіз.* Вже на третю добу після інокуляції збудника на одному оці (1,7 %) спостерігалась перфорація очного яблука. На 14 очах (23,3 %) відмічалась кон'юнктивальна ін'єкція, хемоз, наявність незначного екссудату з кон'юнктивальної порожнини. Водночас, рогівка залишалась прозорою, відмічалась прозора волога передньої камери та помірна гіперемія райдужки. У 26 (43,3 %) випадках клінічна картина була більш важкою. Це проявлялось в наявності фокального

набряку рогівки, опалесценції вологи передньої камери, значної гіперемії райдужки та наявності плаваючих точкових помутнінь в склистому тілі зі збереженням червоного рефлексу з очного дна. У 19 (31,7 %) очах відмічалось напруження та набряк повік, екзофтальм, хемоз, значна гнійна кон'юнктивальна екссудация, мутна рогівка, гіпопіон. З них на 4 очах (21 %) вже на 7 день експерименту відбулась перфорація очного яблука з витіканням внутрішньоочного вмісту, на 21 день — на 3 (15,8 %) очах та на 30 день у 2 випадках (10,5 %), у решті очей (52,7 %) до 30 дня експерименту гнійно-запальна реакція не зменшувалась та утворилась масивна неоваскуляризація рогівки.

З 40 очей (66,6 %), що на третій день мали клінічну картину різної важкості, у 18 очах (45 %) запальний процес протікав у вигляді хронічного ендодфальміту. До кінця експерименту поступово відбувалось стухання процесу, не було зафіксовано циліарної ін'єкції, хемозу, гнійної екссудации, відмічався фокальний набряк рогівки, задні синехії або зарощення зіниці з бомбажем райдужки, катаракта, фіброзні зміни в скловидному тілі. При огляді решти 22 (55 %) очей була відмічена клініка гострого ендодфальміту з поступовим прогресуванням процесу. При ехобіометрії у 100 % випадків було зафіксоване тракційне та екссудативне відшарування сітківки.

*Імунологічний аналіз.* При порівнянні з отриманими результатами до інокуляції збудника, при цитології кон'юнктиви кількість епітеліальних клітин та пластів була зменшена на всі дні дослідження (3, 7, 14, 21, 30), кількість лімфоцитів виросла в 1,5 рази на 3, 7 та 14 день дослідження, кількість нейтрофілів була підвищена в 2,5–3 рази у всі дні. У всіх полях зору з 7 дня спостерігалась велика кількість некротичних та бактеріальних клітин. При дослідженні первинного загального імунітету протягом всього експерименту відмічалось значне зростання кількості лейкоцитів, фагоцитуючих нейтрофілів, лімфоцитів, Т- та В-лімфоцитів, зокрема хелперів на всі дні дослідження; зменшення числа супресорів та натуральних кіллерів. До 30 дня після інокуляції кількість лімфоцитів поступово нормалізувалась, що свідчило про часткове подолання запального процесу.

*Мікробіологічний аналіз.* В результаті введеної культури *Staphylococcus aureus* інтравітально на 3, 10, 14 дні після інокуляції у волозі передньої камери та склистому тілі всіх досліджуваних очей спостерігався активний ріст даної культури та дорівнював  $10^4$ . На 7 день на двох очах, на 21 день на трьох очах у волозі передньої камери відмічався негативний результат росту бактерій, в той же час у кроликів відмічався найвищий рівень клітинної реакції імунного захисту. На 30 день після інокуляції у всіх досліджуваних середовищах, окрім склисто-

го тіла чотирьох очей, не виявлено росту культури стафілококу, тобто швидка реакція імунної системи призвела до часткової аутостерилізації процесу. Слід відзначити, що кількість бактеріального росту була стабільною та дорівнювала  $10^4$  на 3, 7, 10, 14, 21 дні експерименту.

### ВИСНОВКИ

1. При моделюванні екзогенного стафілококового ендофтальміту у тварин з нормальним імуноневрологічним статусом у 16,7 % очей відбувалися швидкі деструктивні зміни внаслідок руйнівної сили збудника та гіперактивної відповіді компонентів імунної системи, що проявилось розвитком панофтальміту; у 83,3 % очей відбувалась активна імунна відповідь місцевого та загального імунітету з досягненням зниження запального процесу та переходом в хронічний процес.

2. У 66,6 % випадків на третій день після інюкціяції збудника спостерігалися перші прояви внутрішньоочного запалення, але ще не було чітких ознак ендофтальміту. Водночас, було зафіксовано активну відповідь місцевого і загального імунного статусу та висівання *Staphylococcus aureus* в волозі передньої камери та в склистому тілі.

3. Активна первинна імунна відповідь на інтравітреальне введення культури *Staphylococcus aureus* свідчить про швидке поширення реакції антиген-антитіло поза межами склистого тіла.

4. Відсутність росту бактерій у 93,3 % очей у волозі передньої камери та склистому тілі на 30 день експерименту свідчить про аутостерилізацію серед-

овищ ока внаслідок активної роботи компонентів імунної системи.

5. Оскільки до 30 дня експерименту у 100 % очей кроликів відбулися необоротні морфофункціональні зміни органа зору внаслідок важкого запального процесу всіх структур ока, то отримання позитивних результатів можливо при застосуванні ефективних методів лікування на найбільш ранніх стадіях розвитку процесу. Знання клінічної картини, мікробіологічних показників, імунологічних змін в комплексі дають можливість прослідкувати перші ознаки початку захворювання, передбачити необоротні наслідки та попередити їх розвиток.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Ocular infection / by David Seal, Uwe Pleyer. — 2<sup>nd</sup> ed. — 2007. — 380.
2. **Логай И. М.** Экзогенный бактериальный эндофтальмит. / Логай И. М., Родин С. С. — Издательство «Черноморье»: Одесса., 1996. — 152 с.
3. **Зборовская А. В., Кустрин Т. Б., Насинник И. О.** Экспериментальная модель бактериального эндофтальмита. // Офтальмолог. журн. — 2011. — № 4. — С. 81–83.
4. **Кульбаба, О. Г.** Зміни місцевого імунітету при лікуванні хворих на герпетичний кератит // Офтальмологіческий журнал — 2007 — № 6 — С.42–45.
5. **Peyman G. A., Paque J. T., Meisels H. I., Bennett T. O.** Postoperative endophthalmitis: A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin. // Ophthalmic Surg. — 1975. — P. 26–35.

Поступила 24.11.2011

Рецензент д-р мед. наук С. К. Дмитриев

## EVALUATION OF THE CLINICAL PICTURE AND IMMUNOLOGICAL STATUS OF THE LABORATORY ANIMALS IN MODELING OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ENDOPHTHALMITIS

Zborovska O. V., Kuryltsiv N. B.

Odessa, Ukraine

Modeling of exogenous staphylococcus endophthalmitis of rabbits with the normal immune and neurological status is accompanied by hyperactive or active ocular and general immune response achieving development of panophthalmitis or reduction of inflammation and conversion to the chronic process.

