

УДК 617.7–002.3–085.849.19–036–092.9

Особенности перебігу бактерійного енд офтальміту при використанні антимікробної фотодинамічної терапії з метиленовим синім в експерименті

Н. Б. Курильців, асистент кафедри офтальмології

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького; Львів (Україна)

E-mail: rakhmanovanb@yahoo.com

Ключові слова: бактерійний енд офтальміт, експеримент, антимікробна фотодинамічна терапія, метиленовий синій, інтравітреальне введення, ванкомицин

Ключевые слова: бактериальный эндофтальмит, эксперимент, антимикробная фотодинамическая терапия, метиленовый синий, интравитреальное введение, ванкомицин

Введение. Одним из неотложных состояний в офтальмологии можно считать бактериальный эндофтальмит (БЭ), который ведет к утрате зрительных функций и глазного яблока как анатомического органа. Актуальным является поиск новых эффективных методов лечения БЭ.

Цель: изучить в эксперименте влияние антимикробной фотодинамической терапии (АФДТ) с 0,1 % метиленовым синим (МС) на течение БЭ.

Материал и методы: для проведения эксперимента использовали 60 кроликов, породы шиншилла, которые были разделены на 2 группы: I — принимали АФДТ с 0,1 % МС, II — принимали АФДТ с 0,1 % МС и интравитреально 1,0 мг ванкомицина. Проведено изучение клинических изменений при БЭ и сравнение влияния каждого из этих методов лечения.

Результаты: количественный анализ клинических изменений при БЭ выявил статистически значимый терапевтический эффект при комбинированном лечении на 7 сутки эксперимента — в 76 % глаз наблюдалась интактность конъюнктивы, роговицы и радужки, что отмечалось только в 56 % глаз кроликов I группы. В 42 % глаз животных II группы рефлекс с глазного дна слабо-розовый, тогда как в I группе в 90 % случаев — стекловидное тело диффузно-мутное ($p < 0,05$). На 14 и 30 сутки — разница терапевтического эффекта была статистически незначимой ($p > 0,05$).

Выводы: применение АФДТ при самостоятельном и комбинированном использовании с антибиотиком характеризуется антимикробным действием на возбудитель БЭ. Комбинированное лечение разрешает сократить сроки лечения и достоверно получить менее выраженные пролиферативные изменения в стекловидном теле.

Peculiarities of the course of bacterial endophthalmitis in using antibacterial photodynamic therapy with methylene blue in experiment

N. B. Kuryltsev

Lviv National Medical University named after Danyla Galitsky; Lviv (Ukraine)

Introduction. Bacterial endophthalmitis (BE) is one of the emergency conditions in ophthalmology, causing loss of sight functions and eye bulb as an anatomic organ. Search of new effective methods of BE treatment is an actual issue.

Aim: to study experimentally influence of antibacterial photodynamic therapy (APhDTh) with 0,1 % of methylene blue (MB) on a course of BE.

Materials and methods: in the experiment 60 chinchilla rabbits took part, being divided into two groups: I — took APhDTh with 0,1 % MB, II — took APhDTh with 0,1 % MB and 1,0 mg of Vancomycin. We have made a detailed analysis of clinical changes in case of BE and comparison of impacts of each methods of treatment.

Results: quantitative analysis of clinics of BE showed a considerably better therapeutic effect in case of combined treatment on the day 7 of experiment — 76 % of eyes demonstrated integrity of conjunctiva, cornea and iris, that was observed only on 56 % of eyes of the rabbits of the I group, on 42 % of eyes of animals of the II group vitreum kept to be dull, while in the I group 90 % of cases showed diffuse dimness ($p < 0,05$). On the 14th and 30th days the difference was statistically not a considerable one ($p > 0,05$).

Key words: bacterial endophthalmitis, experiment, antibacterial photodynamic therapy, methylene blue, intravitreal injections, Vancomycin

Conclusions: *APhDTh, being applied either independently or in combination with antibiotic, makes fast antibacterial effect on causative agent of BE. Combined treatment enables shortening of a period of treatment and evidently get weaker proliferative changes in the vitreum.*

Вступ. Одним з невідкладних станів в офтальмології являється, безперечно, гнійне запалення внутрішніх оболонок очного яблука з формуванням абсцесу в склистому тілі, що розвивається в результаті внутрішньоочної інфекції, а саме бактерійний ендодфальміт (БЕ). БЕ нерідко призводить не тільки до втрати зорових функцій, але й до втрати очного яблука як анатомічного органа [1, 6]. Тому надзвичайно актуальним є пошук та вивчення нових ефективних методів лікування даного захворювання.

Мета дослідження — в експерименті вивчити вплив антимікробної фотодинамічної терапії (АФДТ) з 0,1 % метиленовим синім (МС) на перебіг бактерійного ендодфальміту.

Матеріал та методи

Проведена експериментальна робота на 60 кроликах породи шиншила (120 очей) з масою тіла 2,5–3,0 кілограми, які перебували в стандартних умовах віварію. Усім тваринам на обох очах було проведено інтравітреальне введення добової культури музейного штаму мікроорганізмів *Staphylococcus aureus* ATCC 25923F — 49 ($1,5 \cdot 10^5$ КОЕ/см³) [3]. Вже на другу добу після даної маніпуляції на 100 % очей отримано класичну картину БЕ. Усі кролики, що приймали участь в експерименті, були поділені на дві групи (кожна включала 30 тварин та, відповідно, 60 очей): I група кроликів з другої доби та до кінця експерименту отримувала АФДТ з 0,1 % МС, II група кроликів — з другої доби та до кінця експерименту АФДТ з 0,1 % МС, а також на 2 та 5 доби — інтравітреальне введення 1,0 мг ванкоміцину [4].

Методика АФДТ з 0,1 % МС: місцева інстиляція анестетика оксибупрокаїна, субкон'юнктивально (у верхнє склепіння кон'юнктиви) введено 0,1 % стерильного водного розчину метиленового синього (в кількості 0,8 мл з додаванням 2 % лідокаїну в кількості 0,2 мл). Через 30 хвилин транскорнеально, через 60 та 120 хвилин транспупілярно проводилось опромінення діодним лазером довжиною хвилі 630–670 нм та діаметром плями 3000 мкм протягом 3 хвилин [2].

Методика інтравітреального введення антибіотика відповідала стандартній методиці інтравітреальних ін'єкцій. Було введено 0,1 мл ванкоміцину.

До інюкації збудника та в дні виводу тварин з експерименту (7, 14, 30 дні від моменту інфікування) проводився аналіз клінічних змін органа зору, що включало зовнішній огляд, пряму офтальмоскопію та ультразвукове дослідження (УЗД).

При аналізі клінічних змін використовувалась шкала, яка була запропонована Г. А. Реуман та колегами та представлена в таблиці 1 [5].

Статистична обробка отриманих даних проводилась за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 10.0». Були обчислені середня арифметична величина (M) та стандартна помилка середнього (m). Достовірність показників оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Достовірною вважали різницю при $p < 0,05$. Всі оброблені показники знайшли своє відображення в таблицях.

Результати та їх обговорення

В кроликів двох досліджуваних груп на 2 добу після інфікування клінічна картина очей була схожою і характеризувала класичний початок інфекційного внутрішньоочного запалення. Вже під дією АФДТ з 0,1 % МС при самостійному використанні та в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкоміцину динаміка цих змін відрізнялась термінами купірування запалення та впливом на різні структури очного яблука.

При кількісному аналізі клінічних проявів БЕ за критерієм Ньюмена-Кейлса різниця клінічних проявів внутрішньоочного запалення між кроликами двох груп була статистично значимою на 7 добу дослідження ($p < 0,05$). Терапевтичний ефект від АФДТ з 0,1 % МС був статистично значимо гірший, ніж від комбінованого лікування. Далі (на 14 та 30 дні) різниця впливу різних методів лікування була статистично не значимою ($p > 0,05$) (табл. 2).

Відсутність значимості різниці між групами дослідження може пояснюватись недоліком сумачії балів, що виражають клінічну картину даного захворювання, оскільки однакова кількість балів може характеризувати як запальні зміни тільки переднього відрізка ока, так і помутніння в склисто-

Таблиця 1. Шкала клінічних змін при гострому ендодфальміті

Шкала	Кон'юктива	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
2	Набряк, помірна гіперемія, легкий ексудат	Дифузний набряк	Значна гіперемія	Помірно-мутне, рефлекс з очного дна слабо-рожевий, деталі очного дна не видно
3	Набряк, значна гіперемія, значний ексудат	Мутна	Значна гіперемія, синехії, нерухома або в'ялорухома зіниця	Немає рефлексу з очного дна

Таблиця 2. Кількісна оцінка проявів БЕ у кроликів при застосуванні АФДТ з 0,1 % МС самостійно та в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкоміцину (в балах, М±m)

Дні	АФДТ з 0,1 % МС	АФДТ з 0,1 % МС + 1,0 мг ванкоміцину
7	6,4±0,6 (n=50)	4,7±0,6* (n=50)
14	4,3±0,6 (n=30)	3,5±0,6 (n=30)
30	3,2±0,1 (n=10)	3,0±0,1 (n=10)

Примітка: * — різниця між двома групами статистично значима (p<0,05).

му тілі при повній відсутності гострого запалення в оці. Тому були також проаналізовані зміни відносно кожної запропонованої клінічної ознаки та проведений порівняльний аналіз між групами, що дає можливість конкретніше побачити, які саме структури і на який термін підлягають кращому терапевтичному ефекту від тієї чи іншої методики.

Так, на 7 добу експерименту у кроликів, де в якості лікування використовували АФДТ з 0,1 % МС в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкоміцину, вже у 72 % випадків кон'юктива була спокійна, що відмічалось тільки на 49 % очей тварин, які отримували АФДТ з 0,1 % МС самостійно (p<0,05). Рогівка була інтактною у кроликів II групи у 64 % випадків, а у тварин I групи — у 40 % (p<0,05). Поступовий регрес стосувався і райдужки. В групі з використанням комбінованого лікування на 91 % очей залишався помірний ірит, який в

I групі тварин спостерігався тільки у 78 % випадків (p<0,05). Склисте тіло піддавалось найбільш вираженим патологічним змінам, помутніння його несли різний характер. Так, у 42 % очей тварин II групи склисте тіло зберігалось ще помірно-мутним зі слабо-рожевим рефлексом з очного дна, тоді як більшість випадків у I групі (90 %) характеризували дифузні його помутніння без збереження рефлексу з очного дна (p<0,05) (табл. 3).

На 14 добу в 93,3 % очей кроликів II групи кон'юктива та рогівка були спокійні, у 80 % — інтактна райдужка та в 23,3 % — спостерігався збережений слабо-рожевий рефлекс з очного дна (виражене стухання БЕ з появою проліферацій в склистому тілі). А от в кроликів I групи в 10 % очей ще були відмічені незначні запальні зміни кон'юктиви та райдужки (p<0,05), тільки в 10 % очей залишалися ознаки іриту. Склисте тіло кроликів даної групи у 100 % випадків було дифузномутне (табл. 4).

На 30 добу дослідження в 100 % очей кроликів II досліджуваної групи кон'юктива, рогівка та райдужка були без ознак запалення. Вдалося зберегти слабо-рожевий рефлекс з очного дна в 20 % очей. В кроликів I групи спостерігався ще більший регрес внутрішньоочного запалення, порівняно з попередніми термінами, та тільки в 25 % очей залишалися незначні набряк і гіперемія райдужки. Склисте тіло у 100 % випадків було дифузномутне (табл. 5).

Таблиця 3. Розподіл очей кроликів з різними клінічними проявами БЕ при застосуванні АФДТ з 0,1 % МС самостійно та в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкоміцину на 7 добу експерименту (n=50)

	Бали	АФДТ з 0,1 % МС	АФДТ з 0,1 % МС + 1,0 мг ванкоміцину
Кон'юктива	0	24 (48,0 %)	36 (72,0 %)*
	1	25 (50,0 %)	11 (22,0 %)*
	2	1 (2,0 %)	2 (4,0 %)
	3	0 (0,0 %)	1 (2,0 %)
	$\chi^2=15,5; p=0,02$		
Рогівка	0	20 (40,0 %)	32 (64,0 %)*
	1	25 (50,0 %)	12 (24,0 %)*
	2	4 (8,0 %)	1 (2,0 %)
	3	1 (2,0 %)	5 (10,0 %)*
	$\chi^2=26,4; p=0,00$		
Райдужка	0	5 (10,0 %)	2 (4,0 %)
	1	16 (32,0 %)	44 (88,0 %)*
	2	23 (46,0 %)	2 (4,0 %)*
	3	5 (12,0 %)	2 (4,0 %)
	$\chi^2=35,3; p=0,00$		
Склисте тіло	0	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	1	0 (0,0 %)	3 (6,0 %)*
	2	5 (10,0 %)	21 (42,0 %)*
	3	45 (90,0 %)	26 (52,0 %)*
	$\chi^2=20,7; p=0,00$		

Примітка: * — різниця між двома групами статистично значима (p<0,05).

Таблиця 4. Розподіл очей кроликів з різними клінічними проявами БЕ при застосуванні АФДТ з 0,1 % МС самостійно та в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкоміцину на 14 добу експерименту (n=30)

	Бали	АФДТ з 0,1 % МС	АФДТ з 0,1 % МС + 1,0 мг ванкоміцину
Кон'юктива	0	29 (96,7 %)	29 (96,7 %)
	1	0 (0,0 %)	1 (3,3 %)
	2	1 (3,3 %)	0 (0,0 %)
	3	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	$\chi^2=12,4; p=0,01$		
Рогівка	0	27 (90,0 %)	27 (90,0 %)
	1	0 (0,0 %)	3 (10,0 %)*
	2	1 (3,3 %)	0 (0,0 %)
	3	2 (6,7 %)	0 (0,0 %)
	$\chi^2=17,9; p=0,01$		
Райдужка	0	27 (90,0 %)	24 (80,0 %)*
	1	0 (0,0 %)	5 (16,7 %)*
	2	0 (0,0 %)	1 (3,3 %)
	3	3 (10,0 %)	0 (0,0 %)*
	$\chi^2=25,1; p=0,00$		
Склисте тіло	0	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	1	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	2	0 (0,0 %)	7 (23,3 %)*
	3	30 (100,0 %)	23 (76,7 %)*
	$\chi^2=16,6; p=0,00$		

Примітка: * — різниця між двома групами статистично значима (p<0,05).

Таблиця 5. Розподіл очей кроликів з різними клінічними проявами БЕ при застосуванні АФДТ з 0,1 % МС самостійно та в комбінації з інтравітреальним введенням 1,0 мг ванкомицину на 30 добу експерименту (n=10)

	Бали	АФДТ з 0,1 % МС	АФДТ з 0,1 % МС +1,0 мг ванкомицину
Кон'юнктива	0	10 (100,0 %)	10 (100,0 %)
	1	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	2	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	3	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
$\chi^2 = -$; $p = -$			
Рогівка	0	10 (100,0 %)	10 (100,0 %)
	1	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	2	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	3	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
$\chi^2 = -$; $p = -$			
Райдужка	0	8 (80,0 %)	10 (100,0 %) [*]
	1	2 (20,0 %)	0 (0,0 %) [*]
	2	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	3	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
$\chi^2 = 4,8$; $p = 0,00$			
Склисте тіло	0	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	1	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
	2	0 (0,0 %)	2 (20,0 %)
	3	10 (100,0 %)	8 (80,0 %)
$\chi^2 = 52,3$; $p = 0,00$			

Примітка: * — різниця між двома групами статистично значима ($p < 0,05$).

Література

- Гундорова Р. А. Травмы глаза / Р. А. Гундоров, В. В. Нероев, В. В. Кашников — Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 560 с.
- Пасечникова Н. В. Антибактериальное действие метиленового синего, активированного лазерным излучением с длиной волны 630 нм, на культуру золотистого стафилококка / Н. В. Пасечникова, А. В. Зборовская, Н. А. Самолук // Офтальмол. журн. — № 1–2. — 2009. — С. 88–91.
- Родин С. С. Интравитреальное применение гордокса в лечении экзогенного бактериального эндофтальмита: дис. ...канд.мед.наук: 14.00.08 / С. С. Родин; Украинский НИИ глазных болезней и тканевой терапии им. В. П. Филатова. — Одесса, 1993. — 196 С.

За даними УЗД очей кроликів, які отримували АФДТ з 0,1 % МС самостійно, до кінця експерименту на 24 очах тварин (40 %) відмічалось різного характеру помутніння в СТ, циліарне тіло та власне судинна оболонка незмінні, сітківка прилягала. В той же час, на 36 очах кроликів (60 %) діагностовані різного характеру помутніння в СТ, а також відшарування сітківки та власне судинної оболонки.

За даними УЗД очей кроликів IV групи до кінця експерименту, на 38 очах (63,3 %) виявлено помутніння в СТ, циліарне тіло та хоріоїдеа незмінні, шварт між СТ та сітківкою не було, сітківка прилягала. На 22 очах досліджуваних тварин (36,7 %) — різного характеру помутніння в СТ та відшарування сітківки.

Заключення. Антимікробна фотодинамічна терапія як при самостійному, так і при комбінованому використанні з антибіотиком чинить швидкий антимікробний вплив на збудника БЕ, що призводить до регресу внутрішньоочного запалення. Комбіноване використання АФДТ з МС та інтравітреального введення антибіотика дозволяє скоротити терміни лікування та достовірно отримати менш виражені проліферативні зміни в склистому тілі, зменшити частоту помутніння рогики та відшарування сітківки і судинної оболонки.

- Салих А. М. Фотодинамическая терапия неоваскуляризации роговицы с применением метиленового синего и лазерного излучения длиной волны 578 нм: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.08. / Респуб. гос. казенное предпр. «Казахский ордена «Знак почета» научно-исследовательский институт глазных болезней». — Алматы, 2006. — 24 с.
- Peyman G. A. Postoperative endophthalmitis: A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin / G. A. Peyman, J. T. Paque, H. I. Meisels, and T. O. Bennett // Ophthalmic Surg. — 1975. — P. 26–35.
- Seal D. Ocular infection / D. Seal, U. Pleyer. — NY : Informa healthcare, 2007. — 380 p.

Поступила 29.09.2014

References

- Gundorov RA, Neroyev VV, Kashnikov VV. Trauma of the eye. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. 560 p.
- Pasechnikova N. V., Zborovskaya A. V., Samoluk N. A. Antibacterial effect of methylene-blue activated by laser irradiation with a wave length of 630 nm on the culture of Staphylococcus Aureus. Ophthalmol Zh. 1–2;2009:88–91. Russian.
- Rodin SS. Intravitreal application of gordox in the treatment of exogenous bacterial endophthalmitis: thesis for Candidate of Med. Science: 14.00.08; The Filatov Research Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy. Odessa. 1993. 196 p.

- Salikh AM. Photodynamic therapy for corneal neovascularization using methylene blue and laser light at 578 nm: author's thesis for Candidate of Med/ Science: 14.00.08. Kazakh Research Institute of Eye Diseases. Almaty. 2006. 24 p.
- Peyman GA, Paque JT, Meisels HI, Bennett TO. Postoperative endophthalmitis: A comparison of methods for treatment and prophylaxis with gentamicin. Ophthalmic Surg. 1975; 26–35.
- Seal D, Pleyer U. Ocular infection. NY: Informa healthcare; 2007. 380p.

Received 29.09.2014