

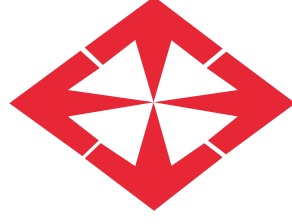
**T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı**

**KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA TEDAVİSİNİN  
DENEYSEL BAKTERİYEL KERATİT MODELİNDEKİ ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI VE TOPİKAL ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ VE  
KOMBİNE TEDAVİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.Begüm Bulam Kılıç**

**ANKARA, 2014**



**T.C.  
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı**

**KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA TEDAVİSİNİN  
DENEYSEL BAKTERİYEL KERATİT MODELİNDEKİ ETKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI VE TOPIKAL ANTİBİYOTİK TEDAVİSİ VE  
KOMBİNE TEDAVİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr.Begüm Bulam Kılıç**

**DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ  
Prof. Dr. Dilek Dursun Altınörs**

**ANKARA, 2014**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince hep yanımda olduğunu bildiğim, gerek teorik gerekse göz cerrahisi alanında yetişmemde büyük emeği ve katkısı olan, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Dilek Dursun Altınörs başta olmak üzere;

uzmanlık eğitimim süresince eğitimime büyük katkıları olan, eğitimim süresince iyi bir göz hekimi olarak yetişmem için gayret gösteren, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım değerli hocam ve bölüm başkanım Prof. Dr. Gürsel Yılmaz'a;

eğitimim süresince değerli tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, mesleki eğitimime büyük katkıları bulunan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Sibel Oto, Prof. Dr. Ahmet Akman, Doç. Dr. İmren Akkoyun, Doç. Dr. Yonca Arat, Yrd. Doç. Dr. Sezin Akça Bayar, Uzm. Dr. Sirel Gür Güngör ve Uzm. Dr. Leyla Asena' ya, Başkent Üniversitesi Konya Uygulama ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları kliniğinden Doç. Dr. Aylin Karalezli, Uzm. Dr. Ali Kal ve Uzm. Dr. Fatma Çorak Eroğlu'na;

tezimin ortaya çıkmasında katkıları bulunan, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Başkent Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın hocam Doç. Dr. Müge Demirbilek, Başkent Üniversitesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyelerinden sayın hocam Doç. Dr. Ersin Ögüş ve Uzm. Dr. Mustafa Agah Tekindal'a;

eğitimim boyunca pek çok şey paylaştığım, beraber uzmanlık eğitimi yapmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm klinik çalışanlarına;

ayrıca bütün hayatım boyunca en büyük destekçilerim, bugünlere gelmemi sağlayan canım annem, babam ve kardeşime, varlığıyla hayatımı daha anlamlı kılan, desteğini hep yanımda hissettiğim eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Begüm Bulam Kılıç  
Ağustos 2014, Ankara

## ÖZET

Bu çalışma, korneal kollajen çapraz bağlama (KÇB) tedavisinin deneysel bakteriyel keratit modelindeki etkisinin araştırılması, topikal antibiyotik tedavisi ve kombine tedavi ile karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. 40 adet genç erişkin dişi Sprague Dawley sıçanın, her iki gözünün santral kornea epiteli kazınarak 2 mm çapında epitel defekti oluşturuldu. Sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. 20 sıçanın her iki gözüne standart *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) suşu ile hazırlanan süspansiyondan 0.05 ml (Grup1), 20 sıçanın her iki gözüne standart *Metisilin Rezistan Staphylococcus Aureus* (MRSA) suşu ile hazırlanan süspansiyondan 0.05 ml (Grup 2) damlatıldı. Grup1 kendi içinde dört gruba ayrıldı: Grup 1A kollajen çapraz bağlama (KÇB) ile, grup 1C KÇB + KÇB sonrası topikal tobramisin damla ile, grup 1D topikal tobramisin damla ile tedavi edildi ve grup 1B tedavisiz bırakılarak kontrol grubu olarak ayrıldı. Grup 2 kendi içinde dört gruba ayrıldı: Grup 2A KÇB ile, grup 2C KÇB + KÇB sonrası topikal % 5'lik fortifiye vankomisin damla ile, grup 2D topikal % 5'lik fortifiye vankomisin damla ile tedavi edildi ve grup 2B tedavisiz bırakılarak kontrol grubu olarak ayrıldı. Mikroorganizma süspansiyon damlatılmasını takiben 3. gün KÇB uygulandı ve topikal damla tedavisi başlandı. Mikroorganizma süspansiyonu damlatılmasını takiben 3. gün ve 7. gün biyomikroskopik ve mikrobiyolojik değerlendirme yapıldı.

Tedavi ettiğimiz tüm gruplarda tedavi öncesine göre keratit odağındaki küçülme, korneal ödemdeki gerileme, korneal sürüntü örneklerinden elde edilen kültürdeki üremede azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,01$ ). 7. günde keratit odağında grup 1C ve 1D'de 1B'ye göre, grup 2A, 2C ve 2D'de 2B'ye göre istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). 7. günde korneal ödemde grup 1D'de 1B'ye göre, grup 2A, 2C ve 2D'de 2B'ye göre istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu izlendi ( $p<0,01$ ). 7. günde korneal sürüntü örneklerinden elde edilen kültürdeki üremede grup 1C ve 1D'de 1B'ye göre, grup 1C ve 1D'de 1A'ya göre, grup 2A, 2C ve 2D'de 2B'ye göre, grup 2C'de 2A'ya göre istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ( $p<0,01$ ).

Klinik ve mikrobiyolojik olarak KÇB tedavisinin etkinliğini değerlendirdiğimiz çalışmamızda, KÇB tedavisinin, KÇB tedavisi ile kombine topikal antibiyotik tedavisinin ve topikal antibiyotik tedavisinin *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) ve *Metisilin Rezistan Staphylococcus Aureus* (MRSA) keratitlerinde enfeksiyonun yoğunluğunu ve şiddetini azaltmakta etkili olduğu sonucuna ulaştık. Bu sonuçlar ışığında dirençli bakteriyel keratitlerin tedavisinde topikal antibiyotiklerle birlikte uygulanan KÇB tedavisinin daha etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Kornea, Bakteriyel Keratitler, Kollajen Çapraz Bağlama

## ABSTRACT

### **Investigation of the Effects of Corneal Collagen Cross-linking Treatment on an Experimental Bacterial Keratitis Model and Comparison of Topical Antibiotic Treatment with the Combined Treatment**

This study was conducted to investigate the effects of an experimental bacterial keratitis model on the corneal collagen cross-linking treatment (CXL), and also to compare topical antibiotic treatment with the combined treatment. The study involved 40 young adult female Sprague Dawley rats, which had a 2 mm scraped defect of the central corneal epithelium in both eyes. The rats were divided into two equal groups. The first group was inoculated into both eyes with standard *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) from a strain suspension prepared from 0.05 ml (Group 1), and the second group was inoculated with standard *Methicillin Resistance Staphylococcus Aureus* (MRSA) strains from a suspension prepared from 0.05 ml (Group 2). Group 1 was divided into four sub-groups: Group 1A were treated by collagen cross-linking (CXL), group 1C were treated with topical tobramycin drops CXL+CXL, group 1D were treated with topical tobramycin drops, and group 1B were left untreated in order to create a control group. Similarly, group 2 was also divided into four sub-groups: Group 2A were treated by CXL, group 2C were treated with topical 5% fortified vancomycin drops CXL + CXL, group 2D were treated with topical 5% fortified vancomycin drops, and group 2B were left untreated in order to create a control group. The CXL was performed on the third day following the inoculation and topical drop therapy. Following the inoculation of microorganisms on the third and seventh day, biomicroscopy and microbiologic assessments were performed.

In the treatment, which compared baseline in all groups before treatment, the size of keratitis infiltrations, recession of corneal edema, corneal swab samples were obtained from the reduction in reproduction. The results were statistically significant ( $p < 0.01$ ). Keratitis infiltrations groups were conducted on the seventh day for 1C and 1D according to 1B, whilst groups 2A, 2C and 2D were conducted according to 2B, which showed a significant statistical reduction ( $p < 0.01$ ). On the seventh day, focal groups were conducted in corneal edema group 1D according to 1B and in group 2A, 2C and 2D according to 2B, which revealed a significant statistical reduction ( $p < 0.01$ ). On the seventh day, reproduction in culture was obtained from corneal swab samples in groups 1C and 1D according to 1B, in groups 1C and 1D according to 1A, in groups 2A, 2C and 2D according to 2B and in group 2C according to 2A, where a significant statistical reduction was observed ( $p < 0.01$ ).

The Clinical and microbiological efficacy of the CXL treatment is evaluated in our study. CXL treatment, CXL treatment combined with topical antibiotic treatment and topical antibiotic treatment of *Pseudomonas Aeruginosa* (PA) and *Metisilin Rezistant Staphylococcus Aureus* (MRSA) keratitis infections led to an effective reduction in the density and severity (of infection), in accordance with the conclusion that we reached. From these results, it is shown that topical antibiotics and CXL potentiate each others effects in the treatment of resistant bacterial keratitis.

**Key Words:** Cornea, Bacterial Keratitis, Cross-Linking

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
İÇİNDEKİLER .....	v
KISALTMALAR .....	vii
ŞEKİL LİSTESİ .....	viii
TABLO LİSTESİ .....	x
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Kornea .....	3
2.1.1. Kornea Anatomisi .....	3
2.1.2. Korneanın Optik Özellikleri .....	4
2.1.3. Kornea Histolojisi .....	4
2.1.4 Kornea İnnervasyonu .....	7
2.1.5. Kornea Metabolizması .....	7
2.1.6. Korneanın İşlevleri .....	8
2.2. Bakteriyel Keratitler .....	9
2.2.1. Epidemiyoloji ve Patogenez .....	10
2.2.2. Klinik Özellikler .....	11
2.2.3. Tanı .....	11
2.2.4 Tedavi .....	12
2.3. Korneal Kollajen Çapraz Bağlama (KÇB) .....	14
2.3.3. Etki Mekanizması .....	14
2.3.4. Uygulama Tekniği .....	15
2.3.5. Farklı Uygulama Teknikleri .....	15
2.3.6. Etkinlik, Güvenlik ve Klinik Sonuçlar .....	16
2.3.7. Komplikasyonlar .....	18
2.3.8. Enfeksiyöz Keratitlerde Kollajen Çapraz Bağlama Tedavisi .....	18
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	21
3.1. Hayvan Modeli .....	21

3.2. Suşların Hazırlanması.....	25
3.3. Biyomikroskopik Değerlendirme .....	25
3.4. Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Tedavisi .....	25
3.5. Mikrobiyolojik Değerlendirme.....	28
3.6. İstatistiksel Analiz .....	28
4. BULGULAR .....	29
4.1. Biyomikroskopik Bulgular .....	29
4.2. Mikrobiyolojik Bulgular.....	40
5. TARTIŞMA.....	47
6. SONUÇLAR.....	52
7. KAYNAKLAR.....	53

## KISALTMALAR

<b>UV</b>	: Ultraviyole
<b>UVA</b>	: Ultraviyole A
<b>KÇB</b>	: Kollajen Çapraz Bağlama
<b>PA</b>	: Pseudomonas Aeruginosa
<b>MRSA</b>	: Metisilin Rezistan Staphylococcus Aureus
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>DNA</b>	: Deoksinükleik Asit
<b>µm</b>	: mikron
<b>mm</b>	: milimetre
<b>m/l</b>	: mililitre
<b>µl</b>	: mikrolitre
<b>nm</b>	: nanometre
<b>mg</b>	: miligram
<b>cm</b>	: santimetre
<b>kg</b>	: kilogram
<b>mW</b>	: megawatt
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>Ig</b>	: İmmunglobulin
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>K</b>	: Potasyum
<b>LASİK</b>	: Laser-Assisted in Situ Keratomileusis
<b>K</b>	: Keratometri
<b>D</b>	: Dioptri
<b>UDVA</b>	: Düzeltilmemiş uzak görme keskinliği
<b>CDVA</b>	: Düzeltilmiş uzak görme keskinliği
<b>GAT</b>	: Goldman aplanasyon tonometrisi
<b>PDKT</b>	: Pascal dinamik kontur tonometre
<b>ORA</b>	: Oküler cevap analizörü
<b>CFU</b>	: Koloni oluşturan birim
<b>°C</b>	: Santigrat
<b>J</b>	: Joule



## ŞEKİL LİSTESİ

	<i>Sayfa</i>
Şekil 2.1. Kornea Tabakaları .....	4
Şekil 2.2. Epitel hücre tabakası.....	5
Şekil 3.1. Normal sıçan gözünün mikroskopik görünümü .....	22
Şekil 3.2. Kornea epitelinde 11 numara bisturi ile abrazyon işlemi .....	23
Şekil 3.3. Kornea epitelinde 11 numara bisturi ile abrazyon işlemi sonrası.....	23
Şekil 3.4. Yaratılan epitel defekti bölgesine mikroorganizma süspansiyonu damlatılması.....	24
Şekil 3.5. Korneal sürüntü örneği alınması.....	24
Şekil 3.6. Işınlama öncesinde % 0.1'lik riboflavin solüsyonu damlatılması .....	26
Şekil 3.7. Işınlama sırasında % 0.1'lik riboflavin solüsyonu damlatılması.....	27
Şekil 3.8. CBM Vega X-Link cihazı ile Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulanması .....	27
Şekil 4.1. Grup 1 Keratit Odağındaki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	34
Şekil 4.2. Grup 2 Keratit Odağındaki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	34
Şekil 4.3. Grup 1 Korneal Ödemdeki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	35
Şekil 4.4. Grup 2 Korneal Ödemdeki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	35
Şekil 4.5. GRUP 1A KÇB Öncesi .....	38
Şekil 4.6. GRUP 1A KÇB Sonrası .....	38
Şekil 4.7. GRUP 1B Enfeksiyon Sonrası 3. Gün.....	38
Şekil 4.8. GRUP 1B Enfeksiyon Sonrası 7. Gün.....	38
Şekil 4.9. GRUP 1C KÇB+ Topikal Tobramisin Öncesi .....	38
Şekil 4.10. GRUP 1C KÇB+ Topikal Tobramisin Sonrası.....	38
Şekil 4.11. GRUP 1D Topikal Tobramisin Öncesi.....	39
Şekil 4.12. GRUP 1D Topikal Tobramisin Sonrası.....	39
Şekil 4.13. GRUP 2A KÇB Öncesi .....	39
Şekil 4.14. GRUP 2A KÇB Sonrası .....	39
Şekil 4.15. GRUP 2B Enfeksiyon Sonrası 3. Gün.....	39
Şekil 4.16. GRUP 2B Enfeksiyon Sonrası 7. Gün.....	39
Şekil 4.17. GRUP 2C KÇB+ Topikal Vankomisin Öncesi .....	40
Şekil 4.18. GRUP 2C KÇB+ Topikal Vankomisin Sonrası .....	40
Şekil 4.19. GRUP 2D Topikal Vankomisin Öncesi.....	40

<b>Şekil 4.20.</b> GRUP 2D Topikal Vankomisin Sonrası.....	40
<b>Şekil 4.21.</b> Grup 1 Üremedeki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	45
<b>Şekil 4.22.</b> Grup 1 Üremedeki Değişim (3. Ve 7. Gün).....	45

## TABLO LİSTESİ

	<i>Sayfa</i>
<b>Tablo 4.1.</b> GRUP 1A Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	31
<b>Tablo 4.2.</b> GRUP 1B Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	31
<b>Tablo 4.3.</b> GRUP 1C Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	32
<b>Tablo 4.4.</b> GRUP 1D Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	32
<b>Tablo 4.5.</b> GRUP 2A Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	32
<b>Tablo 4.6.</b> GRUP 2B Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	33
<b>Tablo 4.7.</b> GRUP 2C Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	33
<b>Tablo 4.8.</b> GRUP 2D Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3).....	33
<b>Tablo 4.9.</b> Grup 1 Keratit Odağındaki Değişim .....	36
<b>Tablo 4.10.</b> Grup 2 Keratit Odağındaki Değişim .....	36
<b>Tablo 4.11.</b> Grup 1 Korneal Ödemdeki Değişim.....	37
<b>Tablo 4.12.</b> Grup 2 Korneal Ödemdeki Değişim.....	37
<b>Tablo 4.13.</b> GRUP 1A Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3).....	42
<b>Tablo 4.14.</b> GRUP 1B Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3) .....	42
<b>Tablo 4.15.</b> GRUP 1C Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3) .....	42
<b>Tablo 4.16.</b> GRUP 1D Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3).....	43
<b>Tablo 4.17.</b> GRUP 2A Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3).....	43
<b>Tablo 4.18.</b> GRUP 2B Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3) .....	43
<b>Tablo 4.19.</b> GRUP 2C Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3) .....	44
<b>Tablo 4.20.</b> GRUP 2D Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3).....	44
<b>Tablo 4.21.</b> GRUP 1 Üremedeki Değişim.....	46
<b>Tablo 4.22.</b> GRUP 2 Üremedeki Değişim.....	46

# 1. GİRİŞ

Korneal enfeksiyonlar, görme sisteminde ciddi ve kalıcı hasarlara neden olabilirler. Mevcut görme düzeyini korumak için gerekli ilaç tedavisi ya da uygun cerrahi tedavi yapılmayan durumlarda körlüğün önemli bir nedeni olmaya devam etmektedir. Günümüzde, farklı tipte kornea enfeksiyonlarının yeterli olarak tedavisine olanak sağlayan çeşitli grup antibiyotikler mevcuttur. Ancak antibiyotiklere karşı artan bakteri direnci, göz sağlığını korumak için yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duymaktadır (1).

Korneal enfeksiyonların tedavisinde korneal kollajen çapraz bağlama (KÇB)) kullanma fikri, ilk olarak riboflavin ve ultraviyole A (UVA) ışınlarının diğer bilim dallarında kullanılan antimikrobiyal uygulamalarından yola çıkılarak oluşturulmuştur. 1960 yılında UV ışınlarına maruz kalan riboflavinin bazı RNA virüslerini etkisiz hale getirdiği bulunmuştur (2). O zamandan beri, virüs, bakteri ve parazitleri etkisiz hale getirmek için bu yöntemin kullanılabileceği ortaya çıkmıştır (3).

KÇB UV-A ve riboflavin kullanarak, korneanın biyomekanik gücünü arttırmak için geliştirilmiş, böylece keratokonusun ilerlenmesini durdurmak için olanak veren bir tedavi yöntemidir (4, 5). Yöntem, ışığa duyarlaştırıcı olarak riboflavini kullanarak, 365 veya 370 nm UV-A tarafından aktive edildiğinde reaktif oksijen türleri açığa çıkması esasına dayanır. Tüm bu fotokimyasal reaksiyonlar, korneal stromada yeni kovalent ve çapraz bağlar oluşmasına neden olur (5).

Mikroorganizmalara karşı UV ışınlarının etkisi çok sayıda makalede gösterilmiştir ve UV ışınları, ameliyathanelerde steril koşulları arttırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (6). Son çalışmalar, riboflavinin plazma, trombositler ve kırmızı kan hücreleri içindeki patojenleri etkisiz hale getiren bir fotomediatör gibi davrandığını göstermiştir (7). Buna ek olarak, UV-A ve riboflavin ile kombine olarak indüklenen korneal KÇB tekniğinin, mikroorganizmaların enzimatik yıkımına karşı kornea direncini arttırdığı gösterilmiştir (8).

Enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde, antimikrobiyal ilaçların etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen, bu ilaçlara karşı artan mikroorganizma direnci nedeniyle yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. UV-A ve riboflavin kullanarak, korneanın biyomekanik gücünü arttırmak için geliştirilmiş olan korneal KÇB yönteminin, enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde kullanımıyla ilgili sınırlı sayıda literatür bilgisi mevcuttur. Yapacağımız bu deneysel çalışmadan beklentimiz, korneal KÇB uygulamasının bakteriyel

keratit tedavisindeki etkinliğini ve güvenilirliğini araştırarak literatüre ve klinik uygulamalara katkıda bulunmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kornea

#### 2.1.1. Kornea Anatomisi

Kornea embriyolojik olarak incelendiğinde nöroektoderm ve mezenşim olmak üzere iki dokudan köken almıştır. İlk olarak intrauterin hayatın 8. haftasında yüzeyel ektodermden kornea epiteli ve desme zarı gelişmektedir. Hemen devamında nöroektodermden endotel oluşmaktadır. 5. ayda mezenşim dokunun göçüyle kornea stroması ve yüzey tabakada bu hücrelerin yoğunlaşmasıyla da Bowman katı gelişmektedir (9, 10).

Kornea gözün ön kısmının merkezinde yer alan çevresindeki diğer dokulardan farklı olarak saydam, damarsız bir dokudur. Korneanın ön yüzü gözyaşı film tabakası ile arka yüzü aköz ile temas halindedir. Prekorneal gözyaşı film tabakası ortalama 7 µm kalınlıktadır (11, 12).

Üç tabakadan oluşur:

1. Lipit tabaka: En dış tabakadır. 0.5 µm kalınlığındadır, kolesterol esterleri ve yağ içerir. Meibomian, Zeiss ve Moll bezlerinden salgılanır. Gözyaşının buharlaşmasını geciktirir.
2. Aköz tabaka: 6.5 µm kalınlıktadır. NaCl, glukoz, üre, değişik enzim ve proteinler, Ig, kompleman ve albumin içerir. Lakrimal gland, Krause ve Wolfring bezlerinden salgılanır.
3. Musin tabaka: 0.2–0.5 µm kalınlıktadır. Goblet hücrelerinden salgılanır. Epitel ile gözyaşı film tabakası arasında yüzey gerilimini ayarlar.

Düzensiz olan kornea ön yüzü gözyaşı film tabakası ile ıslandığında düzgün bir optik yüzey elde edilmiş olur. Her göz kırpmaya hareketiyle kornea ön yüzeyi gözyaşı ile tekrardan ıslatılmaktadır. Havadaki serbest oksijen gözyaşında çözünmektedir ve bu durum damarsız olan korneanın beslenmesinde hayati öneme sahiptir.

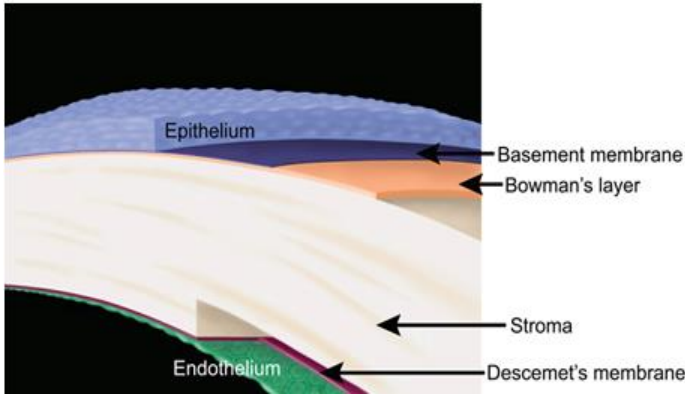
Erişkinde ortalama çapı horizontal meridyende 12,6 mm, vertikal meridyende 11,7 mm'dir, arka yüzeyde ise her iki çap ortalama 11,7 mm'dir. Ön yüz kurvatur yarıçapı 7,8 mm arka yüz ise 6,8 mm'dir (13). Kornea yüzeyi yaklaşık 1,3 cm<sup>3</sup>'dür ve bu gözün tüm yüzeyinin 1/14 kadardır. Saydam korneanın devamında opak sklera ve yarı saydam konjonktivadan oluşan oldukça damarlı limbus vardır (14).

## 2.1.2. Korneanın Optik Özellikleri

Korneanın ön yüzey düzgünlüğü kornea epiteli ve gözyaşı film tabakası ile sağlanmaktadır. Kornea ışığın gözyaşı-hava yüzeyinde kırılmaya uğradığı şartlarda yaklaşık +43 dioptrilik güce sahip bir mercektir. Bu gözün toplam kırıcılığının yaklaşık 2/3'üne tekabül eder. Kornea ön yüzü asferik olup sadece merkezi 3-4 mm'lik 3 kısım sferiktir. Kırıcılık santralden perifere gittikçe düşer. Korneanın arka yüzeyi ön yüzeyden daha eğimli olduğu için periferde yaklaşık 700 µm olan kornea kalınlığı santralde 500 µm civarındadır. Kornea kalınlığı merkezde 0.51 ile 0.56 mm periferde 0.63 ile 0.67 mm arasında değişmektedir. Kornea santralden perifere gittikçe düzleşme görülür. Bu düzleşme nazalde ve superiorda daha fazladır (15, 16).

## 2.1.3. Kornea Histolojisi

Kornea klasik olarak 5 tabakadan oluşur.



### Kornea tabakaları

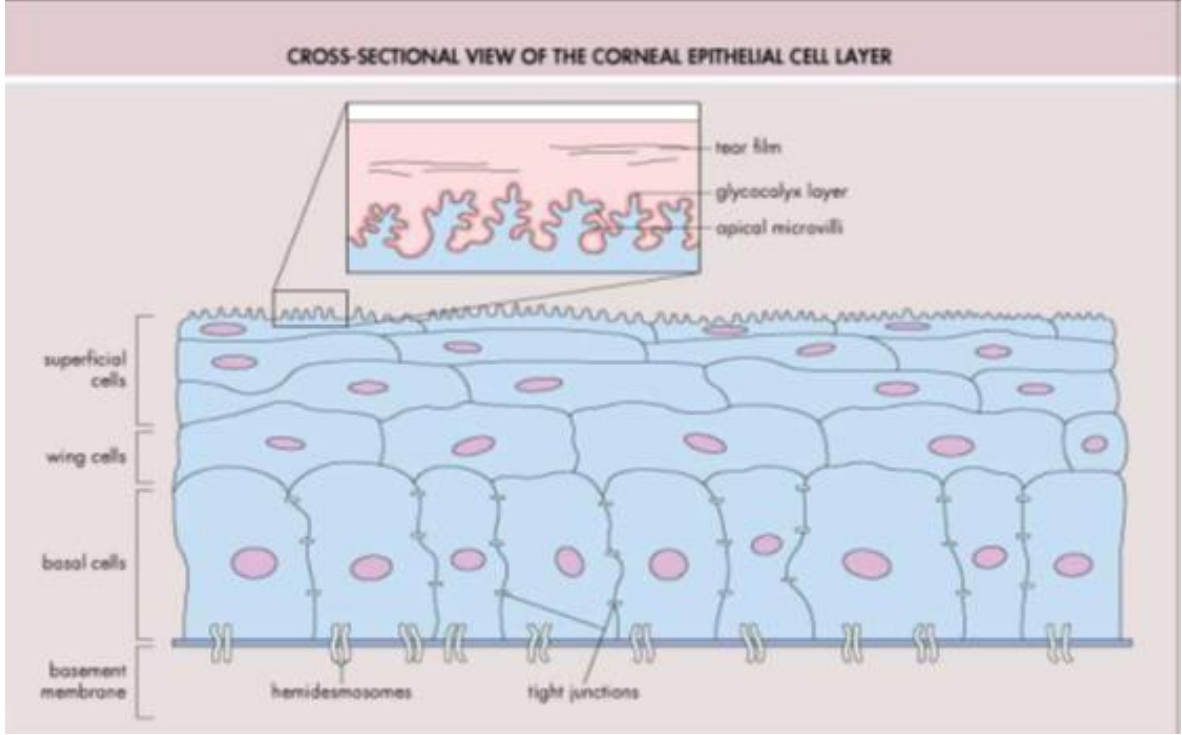
- 1- Epitel tabakası (30-50 µm)
- 2- Bowman tabakası (8-14 µm)
- 3- Stroma (400-700 µm)
- 4- Desme membranı (3-12 µm)
- 5- Endotel tabakası (4-6 µm)

**Şekil 2.1.** Kornea Tabakaları (Last JA, Thomasy SM, Croasdale CR, Russell P, Murphy CJ. Compliance profile of the human cornea as measured by atomic force microscopy. Micron 43 (12): 1293-1298, 2012.)

### 2.1.3.1. Epitel ve Bazal Lamina

Kornea epiteli 40-50 µm kalınlığındadır ve korneanın 1/10'unu yapar. 5-7 tabaka hücreden ibarettir. Üç tip hücre içerir:

1. Yüzeysel hücre
2. Poligonal kanatsız hücre
3. Kolumnar bazal hücre



**Şekil 2.2.** Epitel hücre tabakası (Sugar J. Kornea ve Yüzey Hastalıkları. Yanoff M, Duker JS Eds. Bavdek T (Çeviri editörü). Oftalmoloji 2. baskı. İstanbul Hayat Yayıncılık, 414, 2007.)

Yüzeyel hücreler elektron mikroskopik incelemede çok sayıda mikrovillus ve plika içerir. Ayrıca mikrokaliks ile yüzeyi örtülmüştür. Bu yapıları ile epitelin gözyaşı filmine yapışmasını sağlar. Hücreler arası sıkı bağlantılar ile hücreler arasında anatomik bariyer oluşturulur. Kolumnar hücreler, tek sıra halinde bazal membran üzerinde dizilir. Bu hücrelerin mitotik aktivitesi vardır. Çoğalıp öne doğru ilerleyerek kanatsız hücreleri oluştururlar. Kolumnar hücrelerde aktin filamanlar ve tonofilamanlar bulunur. Tonofilamanlar ile hücrenin iskeleti korunur. Aktin filamanlar ise yara iyileşmesi sırasında hücre göçünde rol alır. Hemidesmozomlar, epitel hücrelerini birbirlerine ve bazal laminaya bağlarlar. “Gap junction” denilen sıkı bağlantı noktaları ise sadece hücreler arasındaki küçük moleküllerin alışverişine izin verir (17).

Epitel hücreleri, korneada çevreden merkeze doğru ilerler. Bazal ve kanatsız hücreler, arkadan öne doğru ilerler ve dökülürler. Bu, X-Y-Z hipotezi olarak bilinmektedir. Kök hücreler limbusta yüzeyel olarak bulunurlar ve epitel yenilenmesinde yardımcı olurlar. Kornea epiteli gözyaşı, aköz hümör ve limbal kapillerden beslenir. Yenilenme kabiliyeti çok yüksektir. Oksijen ihtiyacı, atmosfer konjonktiva ve kapak damarları ve aközden temin edilir. Glukoz ihtiyacı yine aközden temin edilir. Laktik asit birikimi epitel



hücre membranını harap ederek bazal hücreyi bazal membrana yapıştırır ve kornea ödemeine sebep olur ve kistik değişiklikler, erozyon ve neovaskularizasyon oluşur. Ödem görmeyi bozar, ışık yansımaları ve düzensiz astigmatizmaya yol açar. Epitel tabakası olmadığında stromal iyileşme çok gecikir (17).

#### **2.1.3.2. Bowman Tabakası**

8 –14 µm kalınlıktadır. Kısa kollajen fibrillerden oluşur. Travmaya karşı dirençlidir. Mikroorganizma ve tümör hücrelerinin korneaya invazyonuna karşı bariyer oluşturur. Yenilenme yeteneği yoktur. Travma sonucu ince tabaka olarak iyileşir ama eski haline geri dönmez (18).

#### **2.1.3.3. Stroma**

Kornea kalınlığının % 90'ını oluşturur. % 78'i sudur. 500 µm kalınlığındadır. Kollajen lif demetleri mukopolisakkaritlerle lameller tarzda ayrılmıştır. Bu da lameller greftte alt tabakaların kolayca ayrılmasını sağlar. Kollajen fibriller birbirlerine paralel olarak uzanır. Fibril dizilişlerindeki anormallik şeffaflığı etkiler. Travma, enfeksiyon ve distrofiler stromada ödem ve skar dokusuna neden olur. Stroma içerisinde seyrek olarak dağılmış keratosit adı verilen fibroblast kökenli hücreler bulunmaktadır. Sayıları 200 milyon ile 1.5 milyar arasında değişmektedir. Keratositler glikozaminoglikan yapımına aktif olarak katılırlar. Glikozaminoglikanlar; fibriller arası mesafeleri doldurmakta ve anyonik bir ortam oluşturarak katyon ve su bağlamaktadır. Stromada 3 tip glikozaminoglikan bulunmaktadır; keratan sülfat ( % 50), kondroitin sülfat ( % 25 ) ve kondroitin sülfat A ( % 25 ) (18, 19).

#### **2.1.3.4. Desme Membranı**

Stromanın arka sınırı desme tabakasıdır. Kalınlığı yaşla artar ve elastik özelliğe sahiptir. 10 µm kalınlığındadır. İç kısımdaki endotelin ise bazal membranıdır. Bu yüzden korneanın endotelial hastalıkları onun yapısında karakteristik değişikliklere yol açar. Açıya 2 mm uzaklıkta son bularak schwalbe çizgisini yapar (18).

### **2.1.3.5. Endotel Tabakası**

Endotel tabakası korneanın arka yüzeyini kaplayan tek sıra hücrelerden oluşmaktadır. Endotel hücreleri yaklaşık 5 µm kalınlıkta 18-20 µm genişliktedir. Endotel tabakasında yaklaşık 500000 hekzagonal hücre bulunmaktadır ve endotel hücreleri rejenere olamadıkları için bu sayı yaşla beraber azalmaktadır. Yenidoğanda endotel hücre yoğunluğu yaklaşık 5000 hücre/mm<sup>2</sup>'dir (20). Korneadaki büyümeye ve yaşa bağlı hücre ölümleri nedeniyle endotel sayısı 20 yaşında ortalama 3000 hücre/mm<sup>2</sup>'dir. Sonraki yıllarda endotel hücreleri yılda ortalama % 0.6 oranında azalmaktadır (21-22).

Endotel hücrelerinin stomadan aköz humöre doğru devamlı olarak aktif su pompalama görevleri vardır. Travma, geçirilmiş göz içi ameliyat, enflamasyon gibi durumlarda endotel sayısı azalmaktadır. Endotel sayısı stromadan aktif su pompalama işlevini göremeyecek kadar azaldığı durumlarda stromada ödem oluşmakta kornea lifleri arasındaki mesafe artmakta ve kornea saydamlığını kaybetmektedir. Endotel hücrelerinin pompa işlevi ortam ısısından ve göz içi basınçtan etkilenmektedir. Düşük sıcaklık ve yüksek göz içi basınçta aktif pompa işlevi azalmaktadır (23).

### **2.1.4 Kornea İnnervasyonu**

Kornea sinir yönünden çok zengindir. Bunların hepsi duyu sinirleridir ve N. Trigemini'nin oftalmik dalından (V1) gelen uzun arka siliyer sinirler, ön ve arka dala ayrılarak korneaya girmektedirler. Lifler korneaya ulaştıkları noktadan itibaren miyelin kılıflarını kaybederler. Ön kısma giden sinirler epitel bazal membranı ve bazal hücreler seviyesinde sonlanır. Buna karşılık endotel seviyesinde sinir lifi yoktur (24). Korneada fonksiyonu tam bilinmemekle beraber sempatik sinir lifleri de gösterilmiştir (25).

### **2.1.5. Kornea Metabolizması**

Korneanın saydamlığı ve dehidratasyonunun devamlılığı için enerji gereksinimi vardır. Kornea glikozu aköz humörden almaktadır. Gözyaşı ve limbal kapillerler yolu ile glikoz kazancı daha düşük düzeydedir. Korneada glikoz Krebs siklusu ile enerjiye çevrilmektedir. Krebs siklusu da oksijene gereksinim gösterir. Kornea endoteli gerekli oksijeni aköz humörden, epitel ve stroma ise limbal damarlardan ve gözyaşında çözülmüş oksijenden karşılar. Epitel düzeyinde glikoz, glikojen olarak depolanır. Epitel stromaya göre çok daha yüksek oranlarda ATP, glikojen ve oksidatif enzimler içerir (26).

Kornea endotelinin Krebs siklusu yanında, pentoz fosfat şantı ile çalışabilecek özellikleri bulunmaktadır. Bu yol ile kornea epitel lipit sentezi yapabilir. Elektrolit düzeyleri karşılaştırıldığında; kornea stroması  $\text{Na}^+$ , epitel ise  $\text{K}^+$  iyonu bakımından zengindir. İodoasetat gibi metabolik zehirlerle korneanın Krebs siklusu (glikoz) bloke edilirse korneada su tutulumu ve ödem tablosu gelişecektir. Epitel ve endotel metabolizması ATP yokluğundan bozulacak ve  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ATPaz pompası çalışmadığından korneada elektrolit ve su tutulumu görülecektir (26).

### 2.1.6. Korneanın İşlevleri

Kornea üzerinde çok önemli özellikleri barındırmaktadır. İlk akla gelenler ise kırıcılığı, saydamlığı, dehidratasyonu ve ilaç geçirgenliğidir.

Kornea saydamlığı: İlk şartı kollajen demetlerinin birbirlerine paralel ve düzgün dizilimidir. Fibrillerin birbirleri ile olan uzaklıkları hep aynıdır. Eğer aralarındaki mesafe farklılaşırsa bu ışık dağılmasına ve korneada bulanıklığa sebep olur. Ancak şüphesiz kornea saydamlığı sadece kollajen liflerin düzgün ve simetrik dizilimine bağlı değildir. Kollajen demetlerin uzaklığı ışık dalga boyundan kısa olduğu sürece saydamlık devam eder. Korneada kan damarının olmaması, korneadaki hücreler arası vasatın aynı kırıcılığa sahip olması ve korneanın su içeriği de saydam bir kornea için vazgeçilmez unsurlardır. Ani göz içi basıncı artışı kornea saydamlığını azaltır. Bunun muhtemel sebebi; ani basınç artışının glikozaminoglikan yapı içinde düzgün dizilmiş kollajen demetlerinin dağılımını değiştirmesi ve bu duruma bağlı olarak bölgesel kırıcılık indeksinin 2000 Å çapının değişikliğe uğramasıdır. Kornea liyofilik koloidal bir sistemdir. İçerdiği su miktarını ayarlayan başlıca faktör kollajen ve glikozaminoglikanlardan oluşan su emici bağ dokusu yapısıdır. Ayrıca korneanın saydam kalabilmesi için, onu çevreleyen sıvıların ozmotik basınçlarının en az intersitisyel sıvı basıncı kadar olması gerekir (24).

Korneal dehidratasyon: Korneanın toplam ağırlığının % 75–80'i sudur. İzotonik ortamda bekletildiği halde kornea su tutabilir ve daha önce belirtildiği gibi buradaki en önemli faktör stromal glikozaminoglikan yapının ozmotik gücüdür.

Korneanın su içeriği 5 faktöre bağlıdır:

- 1- Endotel ve epitel tabakalarının anatomik bütünlüğü gerek mekanik gerekse kimyasal faktörlerle bozulduğunda korneada su tutulumu kaçınılmazdır. Epitel hücreleri gözyaşına karşı, endotel hücreleri aköz humöre karşı bariyer

görevi görürken, aynı zamanda endotel hücreleri aktif bir pompa gibi çalışarak dehidratasyona yardımcı olur.

- 2- Kornea stroması glikozaminoglikan yapı nedeniyle hidrofilik özelliktedir. Bu yüzden stromaya doğru su akımı vardır. Endotel hücreleri stromada tutulan su ve elektrolitleri aköz hümöre pompalamaktadır. Gözyaşı ve aköz hümörün osmotik yükü kornea dehidratasyonuna doğrudan etki eder.
- 3- Kornea metabolizmasının bozulması aktif pompa fonksiyonunu bozacak ve korneada su tutulumuna yol açacaktır.
- 4- Göz yüzeyinden buharlaşma gözyaşının osmolaritesini artırarak korneal dehidratasyona yardımcı olur. Hipertonik gözyaşı korneadan su çekecektir.
- 5- Göz içi basıncının çok yükselmesi kornea ödemeine yol açar. Buradaki mekanizma hem endotel fonksiyonlarının bozulmuş olması hem de stromaya karşı aköz hidrostatik basıncının artmasıdır.

Kornea geçirgenliği: İşlevleri arasındaki en önemlilerinden birisidir. Hem oksijen ve glikoz geçişi hem de ilaç geçirgenliği korneanın katlarına bağlıdır. Kornea epiteli lipit yapıda olup özellikle ilaç için önemli bir bariyer oluşturur. Epitelin kaldırıldığı durumlarda suda eriyen maddelerin penetrasyonu logaritmik olarak artacaktır.

Hidrofilik yapıdaki stromadan penetrasyon, suda eriyen maddeler için daha kolay, lipofilik maddeler için daha güçtür. Endotel düzeyinde lipofilik yapı belirginleşir ve stromadan aköz hümöre diffüzyon, hidrofilik maddeler için daha güçleşir. Kornea geçirgenliğinde etkili diğer mekanizmalar ;

- 1- Maddenin kimyasal yapısı ( hidrofilik–lipofilik ve diğer )
- 2- Maddenin molekül ağırlığı ve konsantrasyonu
- 3- PH düzeyi ve osmolaritesi
- 4- Yüzey gerilimi ve ıslanma açısı

Kornea üzerine tüm bu özellikleri almış ve bu özelliklerden dolayı da çok önemli görevler üstlenmiş benzersiz bir dokudur. Üzerinde oluşan herhangi bir hasar görevlerinde aksamaya neden olur ki bu durumda ona aynı görevleri tekrar yüklemeye ihtiyaç doğar (24).

## **2.2. Bakteriyel Keratitler**

Bakteriyel keratit, sık görülen ve görmeyi tehdit eden oküler enfeksiyondur, gelişmekte olan ülkelerde tek taraflı körlüğün başta gelen sebebi olarak kabul edilir.

Hastalık genelde akut seyrederek ve stromal inflamasyonda hızlı bir ilerleme olur. Gözde ağrı ve rahatsızlığa neden olur. Kornea skarı ve görme kaybı olmaması için erken dönemde etkin tedavinin yapılması gerekmektedir. Tedavisiz olgularda ilerleyici doku hasarlanması ile perforasyon ve komşu dokulara infeksiyonun yayılımı görülebilir (27, 28).

### **2.2.1. Epidemiyoloji ve Patogenez**

Kornea yüzeyi çeşitli mekanizmalar tarafından çok iyi bir şekilde korunmaktadır. Göz kapakları yabancı maddelere karşı fiziksel bir bariyer oluşturması yanında her göz kırıldığında gözyaşının müsin tabakası içinde hapsedilen debris düzenli olarak gözden uzaklaştırılır. Kornea ve konjonktiva epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar mikrobiyal invazyona karşı bariyer görevi görür. Ayrıca epitel hücrelerinin mikroorganizmaları fagosite etme ve taşıma özellikleri vardır. Gözyaşında laktoferrin, lizozim, beta lizin, gözyaşına özgü albumin ve immunglobulin (Ig) A gibi immunaktif maddeler bulunur. Konjonktivada bulunan mast hücreleri ve konjonktivaya özgü lenfoid doku, plazma hücreleri, makrofajlar, T hücreleri, Ig G, Ig A, Ig M de kornea yüzeyini korumada etkindirler (29).

Bakteriyel keratit, genellikle bu immun mekanizmaların bozulmasına yol açan bir risk faktörünün varlığında gelişir. Entropion veya ektropion gibi göz kapağı anomalileri, kornea yüzeyinin açıkta kalması veya trikiyazis gibi patolojiler kornea epitelinin bozulmasına sebep olabilir. Gözyaşı miktarında azalma, gözyaşındaki antimikrobiyal maddelerde azalmaya, epitelin kurummasına ve hasara neden olabilir. Büllöz keratopati, ilaç toksisitesi, önceden geçirilmiş herpetik infeksiyon, kontakt lens kullanımına bağlı travma gibi epitelyal sebepler mikrobiyal yapışma ve invazyon riskini artırır. Katarakt ve keratorefraktif cerrahilerin sıklığının artışı postoperatif korneal infeksiyon riskini arttırmıştır. Mikroorganizmalar insizyon bölgesindeki epitelden geçerek stromaya ulaşabildikleri gibi direkt cerrahi sırasında da stromaya invaze olabilirler (30-32).

Gelişmekte olan ülkelerde kornea infeksiyonuna en çok travma, trahom ve kseroftalmi neden olurken (33), gelişmiş ülkelerde kontakt lens kullanımının artması kornea infeksiyon riskini arttırmaktadır (30, 34, 35). Çok sayıda mikroorganizma bakteriyel keratite sebep olur. İnfeksiyonların insidansı bölgelere göre değişiklik gösterir. Daha önceden bakteriyel korneal ülserlerden izole edilen en sık patojen *Streptococcus pneumoniae* iken kontakt lens kullanımının artması ile *Pseudomonas* ve *Staphylococcus*

infeksiyonların sıklığı artmıştır. Alkol kullanımı, malnütrisyon ve diyabet gibi düşünlük yaratan durumlarda *Moraxella* infeksiyonları görülebilir (29).

### **2.2.2. Klinik Özellikler**

Bakteriyel keratitin klinik bulgu ve semptomları büyük oranda mikroorganizmanın virülansına ve infeksiyonun süresine bağlıdır. Hastalar görmede azalma, ağrı, akıntı ve fotofobi şikayetleri ile başvururlar. Korneal bulgulardan en sık görüleni epitelin veya stromanın lokalize veya yaygın infiltrasyonudur. Gri beyaz nekrotik stromal infiltrasyonun üzerinde genelde epitel defekti mevcuttur. Primer infeksiyon bölgesinin dışında da infiltrasyonlar veya kornea ödemi görülebilir. Çoğu zaman göz kapağı ödemi, konjonktival injeksiyon ve kemozis eşlik eder. Skleral tutulum ve kornea perforasyonu olabilir. Sıklıkla ön kamara inflamasyonu ve hipopiyon vardır (29).

Keratitlerin infektif ve noninfektif ayrımı ile infektif olanlarda hangi mikrobiyal etkenin sorumlu olduğuna dair spesifik klinik bulgu yoktur. Klinisyen ayrıntılı bir anamnez ve risk faktörleriyle birlikte epitelin intakt veya ülsere olmasını, stromal inflamasyonun süpüratif veya nonsüpüratif olmasını, stromal inflamasyonun fokal, diffüz, multifokal ya da marjinal olmasını değerlendirir ve eğer infeksiyöz bir etkenden şüphelenirse mikroorganizmayı göstermek için laboratuvar yöntemlere başvurur (27, 36).

### **2.2.3. Tanı**

İnfeksiyöz keratitin tanısında klinik hikaye ve fizik muayene çok önemlidir. İnfeksiyöz ve steril infiltrasyon arasındaki ayrım ve sorumlu organizmanın belirlenmesi korneal kazıntılardan yapılan boyama ve kültürlerle sağlanır. Klinik uygulamada genelde etken organizmanın belirlenmesi ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması ancak ilk başlanan antibiyotik rejiminin başarısız olduğu ve tedavide değişiklik yapılması gerektiği durumlarda yapılmaktadır. İlerlemiş infeksiyon, santral tutulum, hastanın hikayesi ve infeksiyonun görünümünün filamantöz bakteriyel, mikobakteriyel, gonokokal, mikotik veya protozoal infeksiyonu düşündürdüğü durumlarda kesinlikle korneal kazıma yapılmalıdır (37).

Korneal ülserlerden kazıntı yapılırken materyal lezyonun en aktif bölgesinden alınmalıdır. Göz topikal anestetik ile uyuşturulur. Isı ile steril edilmiş platin spatül veya bistüri ile ülser kenarından kazıma yapılır. Eğer korneal incelme varsa perforasyon açısından dikkatli olunmalıdır.

Kazıntı materyeli hem direkt boyama için lam üzerine yayılır hem de doğrudan katı ve sıvı besi yerlerine kültür için ekim yapılır. En sık uygulanan boyalar Gram ve Giemsa boya larıdır.

Bakteriyel keratitlerin Gram boyama sonuçları incelendiğinde olguların % 75'i monobakteriyel keratitken, % 37'sinde polibakteriyel keratit bulunmuştur (37).

Korneal infeksiyon antibiyotik tedavisine rağmen iyileşmiyorsa, kazıma ile mikroorganizma gösterilemiyorsa korneal biyopsi yapılmalıdır. Biyopsi ile alınan materyalin bir kısmı patolojik incelemeye bir kısmı da mikrobiyal kültür ve antibiyotik duyarlılık testleri için mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmelidir (38).

#### **2.2.4 Tedavi**

Bakteriyel keratitlerde korneal dokunun hızlı zarar görme potansiyelinden dolayı, bakteriyel bir patojenden şüphe duyulduğu anda, etken mikroorganizmanın gösterilmesi beklenmeden etkin tedavi başlanmalıdır. Tedavide amaç şüpheli mikroorganizma ve hastaya ait risk faktörleri göz önünde tutularak infeksiyonu baskılamak, inflamatuvar yanıtı ve ağrıyı azaltmak, korneada yapısal hasarın önüne geçmek, epitel yüzeyin iyileşmesini hızlandırmaktır (37).

Güçlü, geniş spektrumlu, bakterisid etkili antibiyotik ilaçların sık uygulanımı ile bakteriyel keratit tedavisi yapılır. Ciddi süpüratif keratitlerde antibiyotik tedavisi çok sık aralıklarla uygulanmalıdır. Bakteriyel keratitin tedavisinde topikal antibiyotikler ilacın infeksiyon bölgesine ulaşabilirliği açısından en etkin yöntemdir (39, 40). Topikal ilaçlar tercih edilen yoldur çünkü bu yolla korneada ve ön kamarada hızlı bir şekilde yüksek konsantrasyon sağlanır. Göz damlaları en sık kullanılan topikal antibiyotiklerdir bunun yanında pomadlar, jeller, yavaş salımlı preparatlar da kornea stromasında uzun süreli yüksek konsantrasyon sağlamak için kullanılabilir. Kornea epiteli antibiyotik penetrasyonu için potansiyel bariyerken, ülseratif keratitlerde epitelin hasarlı olması ilacın stromaya erişimini kolaylaştırır. Hızlı pik kornea konsantrasyonuna ulaşmak için yükleme dozu yani başlangıçta sık uygulama yapmak gerekir. Keratitin ciddiyetine göre ilk 1 saat boyunca her 5-15 dakikada bir yükleme yapıldıktan sonra her 15-60 dakikada bir topikal antibiyotik uygulanır (41).

Antibiyotiklerin subkonjoktival injeksiyonu, injeksiyon bölgesinden diffüze olarak yüksek kornea konsantrasyonu sağlar. Eğer kornea ülseri belirginse terapotik amaçlı yumuşak kontakt lens uygulanımı, kornea yüzeyini göz kapağının mekanik etkisinden

koruyacak ve stroma iyileşmesini ve reepitelizasyonu hızlandıracaktır. Antibiyotik emdirilmiş kollajen lensler de yine yüksek kornea konsantrasyonu sağlamak için avantajlıdır (41). Noninflame gözlerde parenteral antibiyotik uygulamada ilacın emilimi çok zayıftır. Oküler inflamasyonun eşlik ettiği bakteriyel keratitlerde sistemik antibiyotiğin oküler penetrasyonu artar (42). Ciddi *gonokokkal* keratokonjonktivitler, *H.influenzae* ve *P.aeruginosa* keratitleri, perforasyon riski olan keratitler, perfore keratitler, korneaskleral travma sonrası gelişen keratitler ve skleral tutulumun eşlik ettiği keratitlerde parenteral uygulama yapılmalıdır (43).

Kültür ve antibiyotik sonuçları gelmeden ampirik tedaviye başlanmalıdır. Bakteriyel keratite neden olan potansiyel bütün mikroorganizmalara karşı etkin tek bir antibiyotik yoktur. Olası Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri kapsayacak geniş spektrumlu antibiyotikleri seçmek gerekir (39). Sefalosporinler Gram pozitif koklara karşı etkili bir antibiyotiktir, bir miktar Gram negatif basillere karşı etkinliği vardır. Sefazolinin 50mg/ml güçlendirilmiş konsantrasyonu topikal ve subkonjonktival uygulanım ile kornea tarafından çok iyi tolere edilebilmektedir. Gram negatif bakterilere karşı aminoglikozidler başlangıç tedavi için çok iyi bir seçimdir. Gentamisin, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter* gibi Gram negatif bakterilere karşı etkindir. Gentamisin dirençli *Pseudomonas* için tobramisin bir alternatif ilaç olabilir (44). Aminoglikozidlerin, özellikle tobramisinin uzun süreli sık kullanımda kornea toksisitesi görülebilir. Kornea infeksiyonlarında gentamisin ve tobramisin 10-20 mg/ml'lik güçlendirilmiş konsantrasyonda hazırlanır (29).

Florokinolonlar yüksek potansiyelleri ve hazır ticari preparatları olması sebebiyle bakteriyel keratit tedavisinde sık kullanılmaktadır. Florokinolonlar hem Gram negatif aerobik bakterilere hem de çoğu Gram pozitif bakterilere karşı bakterisidal etkilerinden dolayı başlangıç tedavi olarak seçilebilir. Akut bakteriyel keratitlerde fortifiye antibiyotik tedaviler ile karşılaştırılan çalışmalarda etkin ve güvenilir olduğu gösterilmiştir (45, 46). Penisilinler *streptokok* ve *stafilokok* gibi birçok gram pozitif organizmaya, *gonokoklara*, bazı anaerobik bakterilere etkilidir. Ancak *stafilokokların* bazı suşları beta laktamaz üretirler ve penisilinlere dirençlidirler. Amoksisilin ve ampisilin gibi genişletilmiş spektrumlu antibiyotikler Gram pozitiflere ve *Pseudomonas* türlerine etkili ama penisilinaz üreten *stafilokoklara* karşı etkisizdir. Penisilinler ve penisilin türevi antibiyotikler hem topikal hem de subkonjonktival uygulanabilir (29).



### **2.3. Korneal Kollajen Çapraz Bağlama (KÇB)**

Keratokonus, pellusid marjinal dejenerasyon ve LASİK sonrası korneal ektazilerin tedavisinde kullanılan minimal invaziv cerrahi bir yöntemdir (4,5,47,48). Keratokonusta, kollajen fibriller arasındaki çapraz bağların önemli ölçüde azaldığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Bu fibriller korneanın mekanik stabilitesini sağlar. Kollajen fibriller arasındaki çapraz bağların azalması, korneanın santral ve parasantral alanlarında incelmeye neden olurken korneayı giderek destabilize eder ve bu da düzensiz astigmatizma, miyopi ve görme keskinliğinde azalmaya neden olur (49).

KÇB, kollajen fibriller arasında uzanan kimyasal bağların güçlendirilmesi ve hastalıklı korneanın stabilize edilmesi prensibine dayanır. Aynı zamanda vitamin B2 olarak da bilinen riboflavin UV-A ışınları ile birlikte kullanılarak, kornea stromasındaki kollajen fibriller arasındaki çapraz bağların oluşumunu kolaylaştırırken, ektazilerin ilerlemesini durdurmak için korneal sertleşme etkisi de sağlar (4, 5). Ektazik kornea hastalıklarında KÇB tedavisinden önceki tedavi seçenekleri, gözlükle düzeltme, kontakt lensler, intrastromal korneal halka implantasyonu ve ileri durumlarda lameller veya penetran keratoplastidir. Tüm bu tedavi seçeneklerinin amacı semptomatik tedavidir. Ektazik bozuklukları stabilize etme amacı yoktur. Bunun aksine, KÇB hastalığın sadece semptomlarına değil, patofizyolojisine de etki ederek hastalığın ilerlemesini durdurur (50, 51).

#### **2.3.3. Etki Mekanizması**

KÇB, komşu kollajen lifleri arasında yarı iletken bir UV-A kaynağından gelen başlatıcı bir ultraviyole ışığının riboflavin fotosensitizatörüyle etkileşimi sonucunda başlar (52-54). UV-A ışınlarına maruz kalan riboflavinin fotomediatör özellikleri ve çevreleyen dokuya radyasyon etkisi ortaya çıkar. Maruziyet sonrasında riboflavin, tekli oksijen ve süperoksit anyonları gibi reaktif oksijen türevleri üretirler. Bunlar daha sonra komşu kollajen liflerinin aminoasitleri arasında yeni bir kovalent bağ oluşumunu indüklemek için hareket ederler. Oluşan polimerizasyon kornea kollajeninin rijiditesini ve keratektaziye karşı direncini artırır. Kollajenler arası çapraz bağlama etkisi tüm kornea derinliği üzerinde homojen dağılmaz. Sertleşme etkisi UV-A emiliminin yüksek olduğu korneanın 200-300 µm ön tabakasında yoğunlaşır. Sonuçta kollajen bağlarını güçlendirerek korneal dikliğin azalması ve santral kalınlığın artması sağlanır. Zararlı DNA ve retinal radyasyon seviyeleri

aşağıda kalırken, 370 nm dalga boyu UV-A riboflavinin maksimum etkileşiminin sağlanması için kullanılır (52-55).

#### **2.3.4. Uygulama Tekniği**

KÇB tedavisi riboflavinin % 1'lik damla formunun UV-A eşliğinde korneaya uygulanması ile yapılır. Tedavi ameliyathane şartlarında ameliyat mikroskobu altında uygulanır. Hasta ameliyat masasına alındıktan sonra topikal anestetik damla damlatılır. Göz ve çevresi % 5 povidin iyot ile temizlendikten sonra steril örtü ile örtülür ve göze ekartör konulur. Riboflavinin stroma içine difüzyonu için künt bir spatül yardımıyla kornea epitel mekanik olarak kaldırılır. Bu alanın büyüklüğü yaklaşık 5-9 mm çapında oluşturulur. % 20 dekstran içinde % 1'lik riboflavin solüsyonu epitel kaldırılmış kornea üzerine 3 ya da 5 dakika ara ile 30 dakika boyunca damlatılır. Hastanın ön kamarasında riboflavin floresansı görüldükten sonra, 365- 370 nm UV-A kornea yüzeyinden 4-5 cm uzaklıkta, yaklaşık 7 mm'lik bir alanda 30 dakika 3 mW/cm<sup>2</sup> uygulanır. UV tatbiki sırasında her 3-5 dakikada bir riboflavin damlatılır. İşlem sırasında korneal sıcaklık sabittir ve termal zarar oluşmaz. Uygulayan için zararlı bir etkisi tesbit edilmemiştir. İşlem göze bant kontakt lens takılarak sonlandırılır. Postoperatif antibiyotikli damla günde dört kez bir hafta, nonsteroid antiinflamatuvar damla günde dört kez ve koruyucu içermeyen suni gözyaşı tedavisi günde dört defa 1-2 hafta verilerek taburcu edilir (5,56).

#### **2.3.5. Farklı Uygulama Teknikleri**

KÇB tedavisinde farklı teknikler uygulamaktadır. Farklı tekniklerin uygulanması KÇB tedavisinin yeni bir yöntem olması, hastaların değişik yaş grubu ve farklı evrelerdeki özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Klasik KÇB tedavisinde riboflavin uygulaması kornea epitel kaldırılarak yapılır ve bu yolla riboflavinin kornea epitel bariyeri olmadan stromadan kolayca geçişi sağlanıp UV-A uygulanmasına hazır hale getirilmektedir (5, 57). Kornea epitel bir spatül yardımıyla mekanik olarak kaldırıldığı gibi bazı klinisyenler epitel kaldırma işlemini mikro keratom yardımıyla yapmaktadır (5, 54, 56). Epitel kaldırılarak yapılan yöntem etkinliği artırmakla birlikte minimal invaziv olması ve epitel iyileşinceye kadar ağrı, batma, sulanma gibi şikâyetlere yol açmaktadır (58). Bu nedenden dolayı epitel kaldırılmadan uygulama seçeneği gündeme gelmiştir. Kornea epitelini kaldırmadan KÇB tedavisine imkan veren ve direkt kornea üzerine damlatılan trans-epitelyal riboflavin preparatları üretilmiş ve bazı araştırmacılar tarafından bu yöntemin etkili olduğu

gösterilmiştir (59, 60). Fakat birçok çalışmada epitel kaldırılmadan yapılan tedaviler etkili bulunamamıştır (54-56). Diğer taraftan bu yöntem daha güvenilir ve tolere edilebilir olduğundan çocuklara, uyum sağlanamayanlara ve kornea kalınlığı 400 µm altında ince kornealılara önerilebilmektedir (5, 47, 56, 57). Farklı bir uygulama tekniği de daha önce intrastromal korneal halka yerleştirilmiş hastalara uygulanan intrastromal cep tekniğidir. Bu tekniğin klinik sonucu klasik uygulama ile benzer etkiyi gösterdiği bildirilmişse de yaygın kullanılan bir teknik değildir (54,60).

Tedavide bir diğer tartışma konusu uygulama süresidir. Güncel KÇB tedavisinde uygulanan süre 30 dakikadır. Bu sürenin 30 dakikadan az olması ile yeterli etki elde edilememektedir. Aynı şekilde sürenin daha uzun tutulması; deneysel olarak daha düşük mukavemet ve zayıf dokusal yapı oluşturduğundan ve hasta uyumunu olumsuz etkilediğinden uygulama süresinin daha uzun tutulması önerilmemektedir (61). Tedavi süresinin uzun olması özellikle uyum sorunu olan hastalar ve pediatrik yaş grubunda uygulamayı zorlaştırmaktadır. İlave olarak uzun süre hekim için de bir dezavantaj oluşturmaktadır. Bu dezavantajı gidermek amacıyla birim üzerine uygulanan UV-A gücünü artırarak süreyi kısaltan yeni UV sistemi geliştirilmiş ancak yaygın kullanıma girmemiştir. Bu yöntemde 30 dakika süreyle 3 mW/cm<sup>2</sup> uygulanan UV gücü, 30 mw/cm<sup>2</sup> güce çıkarılarak süreyi azaltmak amaçlanmıştır (54).

### **2.3.6. Etkinlik, Güvenlik ve Klinik Sonuçlar**

Avrupa ve ABD’de KÇB prosedürünün kısa, orta ve uzun vadede etkinliği ve güvenliği hakkında bilgi vermek için çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. Wollensak ve arkadaşları tarafından 2003 yılında yapılan ve 23 olgunun dahil edildiği çalışma insan gözünde yapılan ilk çalışmadır. Bu çalışmanın 4 yıllık takip sonuçları, tedavi edilen hastaların yaklaşık % 70’inde ortalama keratometrik (K) değerlerde iyileşme ve topografik stabilite göstermiştir. Ayrıca, tedavi edilen hastaların % 65’i görme keskinliğinde küçük bir iyileşme göstermiştir (4).

Caporossi ve arkadaşları, KÇB uyguladıkları 10 olgunun 6 aylık takip sonuçlarını sunmuştur (62). Ortalama sferik ekivalanda 2.5 D kadar azalma olduğu refraktif sonuçlarda gösterilmiştir ve ortalama K değerindeki azalma topografiyle desteklenmiştir. Aynı araştırma grubu tarafından yapılan ikinci çalışmanın minimum 48 aylık takip sonuçlarında 44 olguda korneal ektazik bozukluğun devam ettiği bulunmuştur. Hastaların % 85’inde korneal simetri geliştiği görülmüştür (63).

Coşkunseven ve arkadaşları tarafından yapılan bir sonraki karşılaştırılmalı çalışmada, Wollensak ve arkadaşları (4) tarafından rapor edilen ilk bulgular doğrulanmıştır (56). KÇB'yi takiben, tedavi edilen grupta sferik ekivalandaki ortalama azalma  $1.03 \pm 2.22$  D olarak bulunmuştur. Düzeltilmemiş uzak görme keskinliğinde (UDVA)  $0.06 \pm 0.05$  D ve düzeltilmiş uzak görme keskinliğinde (CDVA)  $0.10 \pm 0.14$  D artış tespit edilmiştir. Buna karşılık tedavi edilmeyen gözlerde, test edilen tüm parametrelerde progresyon olduğu gösterilmiştir (56).

Agrawal ve arkadaşları hint gözlerinde yaptığı çalışmada KÇB tedavisinden 1 yıl sonra gözlerin % 54'ünde düzeltilmiş CDVA en az bir satır artma olduğunu göstermiştir (64). Apeks K değeri, gözlerin % 66'sında ortalama 2.73 D azalmış, gözlerin % 22'sinde ( $\pm 0.50$  D içinde) stabil kalmıştır. Asri ve arkadaşları tarafından 142 gözü kapsayan benzer bir çalışmanın 1 yıllık takip sonuçlarının etkinliği olguların % 21.3 K değerlerindeki fark 2.0 D'den fazla ve olguların % 68.8'inde ise stabil olarak rapor edilmiştir (65). 12 ay sonra yapılan farklı iki çalışmada da, test edilen tüm parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı benzer gelişmeler bildirilmiştir (66, 67). Vinciguerra ve arkadaşları, 28 gözü kapsayan serilerinde keratometrik ve refraktif bulgularda benzer kazanımlar tespit etmelerinin yanında korneal ve toplam wavefront aberasyonlarda KÇB tedavisinden 1 yıl sonra azalma olduğunu göstermişlerdir (68).

Kiyionis ve arkadaşları, Goldmann aplanasyon tonometrisi ile yapılan intraoküler basınç ölçümlerinde KÇB tedavisini takiben 6. ayda ( $9.95 \pm 3.01$ 'den  $11.40 \pm 2.89$  mmHg'a) ve 12. ayda ( $9.95 \pm 3.01$  'den  $11.35 \pm 3.38$  mmHg'a) anlamlı bir artış bulmuşlardır ( $p < 0.001$ ) (69). Gkika ve arkadaşları, KÇB öncesi ve sonrası üç farklı tonometri ile (Goldman aplanasyon tonometrisi (GAT), Pascal dinamik kontur tonometre (PDKT) ve oküler cevap analizörü (ORA) tonometre) intraoküler basınçları değerlendirmiş ve PDKT'nin KÇB öncesi ve sonrasında keratokonus hastalarında daha doğru olduğu sonucuna varmıştır (70).

KÇB tekniğinin güvenilirliğinin değerlendirildiği yayınlanmış araştırma serileri mevcuttur (71-73). İlk çalışmada, speküler mikroskop ile kornea endoteli ve kapsamlı fundus muayenesi ve optik koherens tomografi analizi ile retina değerlendirilmiştir. Araştırmacılar KÇB sonrası, hiçbir morfolojik anormallik tespit etmemişler ve endotel hücre yoğunluğu ve fovea kalınlığının değişmeden kaldığı sonucuna varmıştır (71). Bir sonraki çalışma, KÇB sonrası 12. ayda kristalin lens yoğunluğunda ve fovea kalınlığında değişiklik olmadığını bildirirken üçüncü çalışma da, KÇB sonrası retinada morfolojik değişikliklerin olmadığını onaylamıştır (72, 73).

### **2.3.7. Komplikasyonlar**

KÇB tedavisinin güvenli ve komplikasyonlarının az olduğu bildirilmiştir. Ancak son yıllarda gerek tek vakalı bildirimler gerekse birçok vakadan oluşan bildirimler yayınlanmaktadır (74-79). Tedavi sonrası karşılaşılan önemli bir bulgu korneal bulanıklık gelişimidir. Bazı hastalarda korneal bulanıklık kalıcı olmakta ve görmeyi etkilemektedir. Bu konuda yayınlanmış, bir yıllık süreyle takip edilen bir çalışmada % 8,6 kalıcı korneal bulanıklık bildirilmiştir (74,75). Korneal bulanıklık gelişmeyen grupla karşılaştırıldığında maksimum tepe keratometrik değerinin yüksek olması ve santral kornea kalınlığının ince olması korneal bulanıklık gelişiminde önemli risk faktörü olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada bir hastanın iki gözünde basit korneal bulanıklıktan farklı olarak halka şeklinde intrastromal infiltrasyon bildirilmiş ancak takiplerde kalıcı hasar bırakmadan infiltrasyonun gerilediği gözlenmiştir (76). Yine bir çalışmada KÇB tedavisi öncesi keratit hikâyesi olmayan bir hastada KÇB sonrası polimeraz zincir reaksiyonu ile doğrulanan ve on günlük antiviral tedaviyle iyileşen herpetik keratit tesbit edilmiştir. (77). 23 yaşında genç bir hastada tedaviden bir gün sonra başlayan korneal erimenin bildirildiği bir çalışmada, başlangıçta fotofobi, kızarıklık, sulanma ve görme azlığı şikayetleri mevcut olan hastanın biyomikroskopik muayenesinde, akut enflamatuvar cevaba bağlı ciddi korneal bulanıklık, nonspesifik presipitatlar gözlenmiş ve sonrasında desmatosel-korneal perforasyon oluşmuş (78). KÇB tedavisi uygulanmış insan kadavra gözünün incelenmesinde, limbal hücrelerin zarar gördüğü ve uygulama esnasında metal koruyucuyla limbal hücrelerin korunmasının uygun olacağı bildirilmiştir (79).

### **2.3.8. Enfeksiyöz Keratitlerde Kollajen Çapraz Bağlama Tedavisi**

Mikrobiyal keratitlerin KÇB ile tedavisi son zamanlarda bilimsel alanlarda ilgi çekmeye başlamıştır. Korneal infeksiyonların tedavisinde korneal KÇB kullanma fikri, ilk olarak riboflavin ve UV-A ışınlarının diğer bilim dallarında kullanılan antimikrobiyal uygulamalarından yola çıkılarak oluşturulmuştur (2). Riboflavin, lipid hücre zarından geçebilme yeteneğine sahiptir ve nükleik asit zincirleri arasına girebilir. UV-A ışınları ile aktive olan riboflavin, okside olan nükleik asitlerdeki reaktif oksijen türlerini ortaya çıkarır. Böylece, patojenlerin DNA ve RNA'sına hasar verir. Buna ek olarak, UV ışınlanması nükleik asitleri yıkıma uğratarak bakterisid ve virüs id etkiler ortaya çıkarır (80, 81).

Kornea kalınlığının % 90'nını oluşturan stroma, matriksi proteoglikanlar, proteinler, glikoproteinler ve kollajen lameller arasına yerleşmiş keratositleri içeren kollajen fibril ağdan oluşmaktadır. Bakteri ve mantarlar gibi patojenik mikroorganizmalar, kollajeni yıkabilen, korneal erime ve perforasyona yol açabilen enzimler açığa çıkarırlar. Kollajenin enzimatik bozulması ve proteoliz, mikrobiyolojik iyileşmeye rağmen klinik olarak progresif ülser olarak kalabilir. Domuz gözünde yapılan bir çalışmada, kollajenaz, tripsin ve pepsin ile olan enzimatik yıkıma karşı kornenin çapraz bağlarının etkinliği gösterilmiştir. Çapraz bağlama, soruna neden olan mikroorganizmaları doğrudan elimine etmeye ek olarak, çapraz bağlanma ile sağlanan kornea sağlamlığı kornea stromasının proteoliz ve progresif kornea erimesine duyarlılığını azaltabilir (3, 8, 82).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, ilaçlara dirençli *Streptococcus Pneumoniae* ve Gram-negatif *Escherichia coli* gibi enfeksiyon durumlarında KÇB tedavisinin yararlı olduğu klinik olarak gösterilmiştir (83-85). Martins ve arkadaşları, bakteriyel ve fungal izolatlarda riboflavin/UV-A (365 nm) kombinasyonunun antimikrobiyal etkinliğini in vitro olarak kanıtlanmıştır (84). Yayınlanan tüm çalışmalarda, KÇB tedavisini takiben yara yerinde hızlı bir düzelme ve kornea reepitelizasyonda hızlanma olduğu gösterilmiştir. Iseli ve arkadaşlarının yaptığı beş hastalık olgu serisinde, topikal ve sistemik antibiyotik tedavisi sonrası uygulanan KÇB tedavisi sonrasında enfeksiyöz keratit odağında gerileme olduğu bildirilmiştir. Tüm olgularda, kornea erimesi durmuş ve acil kornea nakli gereksiz hale gelmiştir (86).

KÇB tedavisinin, enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde rutin bir prosedür olarak görülmemesi gerektiği, hastalıklı kornealarda toksik etkileri olabileceğinden dikkatli bir şekilde uygulanması gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca tüm patojenlerin KÇB tedavisine olumlu cevap vermeyeceği bildirilmiştir. Bu durumun özellikle, UV ışığının kullanımının virüs replikasyonunu ve enfeksiyonu arttırarak kornea perforasyonuna yol açabilen *herpes simplex* virüs enfeksiyonunda geçerli olduğu gösterilmiştir (87, 88).

KÇB tedavisinin klinik ve mikrobiyolojik olarak değerlendirildiği bir çalışmada, KÇB sonrası fungal enfeksiyon yoğunluğunun ve şiddetinin azaldığı, ancak bu tedavinin enfeksiyöz fungal keratit tedavisinde yeterince etkin olmadığı gösterilmiştir. Tedaviye dirençli fungal keratit enfeksiyonlarında medikal tedaviye yardımcı olarak yararlı kabul edilebilir olduğu sonucuna varılmıştır (1).

Makdoui ve arkadaşlarının ciddi keratiti olan 7 gözde yaptıkları çalışmada, riboflavin ve UV-A kullanılarak yapılan KÇB tedavisinin, mevcut tedavilerle kombine edilerek enfeksiyöz keratit tedavisinde yeni bir yol olabileceğini desteklemiştir. Bu

tedavinin avantajlı olabileceğini fakat yeni çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini bildirmişlerdir (3).

Riboflavin ve UV-A kombinasyonu, çoklu ilaca dirençli *Pseudomonas Aeruginosa*, *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, *Metisilin Dirençli S. Aureus* ve ilaca dirençli *Streptococcus Pneumoniae* gibi geniş bir oküler patojen yelpazesine karşı antibakteriyel özelliklere sahiptir. *Acanthamoeba* keratit olgularında, semptomlarda belirgin bir rahatlama, görmede iyileşme ve KÇB sonrası ilk 24 saatte iyileşme belirtileri olduğu gösterilmiştir. Doku hasarını etkili bir şekilde önleyen ve amip yayılmasını engelleyen KÇB ile kornea stabilitesinin elde edildiği gösterilmiştir (84, 89, 90).

16 mikrobiyal keratit olgusunu kapsayan bir çalışmada, önceden antibiyotik tedavisi almadan primer tedavi yöntemi olarak KÇB uygulanmıştır. Standart topikal antibiyotik tedavisi gerektiren iki olgu dışında tüm olgularda epitelde iyileşme ve inflamasyonda azalma olduğu gösterilmiştir (91).

KÇB tedavisinin kornea üzerine anti-ödematöz etkisi olduğu gösterilmiştir ve büllöz keratopati olgularında başarıyla uygulanabileceği gösterilmiştir (92). Kozobolis ve arkadaşları ve Ehlers ve arkadaşları, geleneksel tedavi yöntemlerine yanıt vermeyen kombine ülseratif keratit ve büllöz keratopatili hastalardaki KÇB sonuçlarını sunmuşlardır. Her iki çalışmada da hastaların ülseri, görme keskinliği ve kornea ödemi belirgin düzelmiştir (93, 94).

KÇB ve enfeksiyonlarla ilgili yapılan son prospektif çalışmalarda, KÇB'nin bakteriyel kornea enfeksiyonlarının tedavisinde etkili ve fungal olgularda etkisiz olabileceği, *herpes simplex* keratitinde ise kaçınmak gerektiği gösterilmiştir. Bu prosedürün, kornea yüzeyi üzerinde kullanımının iyi tolere edilebilmesine ve enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde potansiyel kullanım göstermesine rağmen, yine de etkinliğini doğrulamak için oküler antibiyotiklerle birlikte karşılaştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır (95).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Çalışma Laboratuvarında, Deneysel Çalışma Etik Kurulunun onayıyla gerçekleştirildi (Onay no: DA 13/45).

#### 3.1. Hayvan Modeli

Ağırlıkları 230–250 gram arasında değişen 40 adet genç erişkin (6-12 ay) dişi Sprague Dawley sıçan kullanıldı. 50 mg/kg intraperitoneal Ketamin Hidroklorid + 7 mg/kg Xylazine ile sedasyona ek olarak % 0.5 propakain hidroklorid ile topikal anestezi yapıldı. Kornea epitel defekti oluşturmak için santralde 2 mm çapında tek kullanımlık dermatolojik deri punch (Acu-Punch, Acuderm, Ft. Lauderdale, FL) ile işaretleme sonrası mikroskop altında kornea epiteli 11 numara bisturi ile kazındı. Samsung note 10.1 tablet ile x16 büyütmede mikroskop altında fotoğraflanarak kaydedildi. (Şekil 3.1, 3.2, 3.3) Sıçanlar rastgele iki gruba ayrıldı. 20 sıçanın her iki gözüne Başkent Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından standart PA suşu ile hazırlanan süspansiyondan 0.05 ml (GRUP 1), 20 sıçanın her iki gözüne Başkent Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından standart MRSA suşu ile hazırlanan süspansiyondan 0.05 ml (GRUP 2) damlatıldı. (Şekil 3.4) Üç gün sonra biyomikroskopik olarak yapılan muayenede bütün sıçanların her iki gözünde keratit olduğu görüldü. Bütün ratların her iki gözünden korneal sürüntü örnekleri alınarak enfeksiyon olduğu mikrobiyolojik olarak gösterildi. (Şekil 3.5) Bütün bu işlemler aynı araştırmacı (BB) tarafından gerçekleştirildi.

Korneal sürüntü alındıktan sonra PA ile keratit oluşturulan 20 sıçanın (GRUP 1) her iki gözü (toplam 40 göz) rastgele dört gruba ayrıldı.

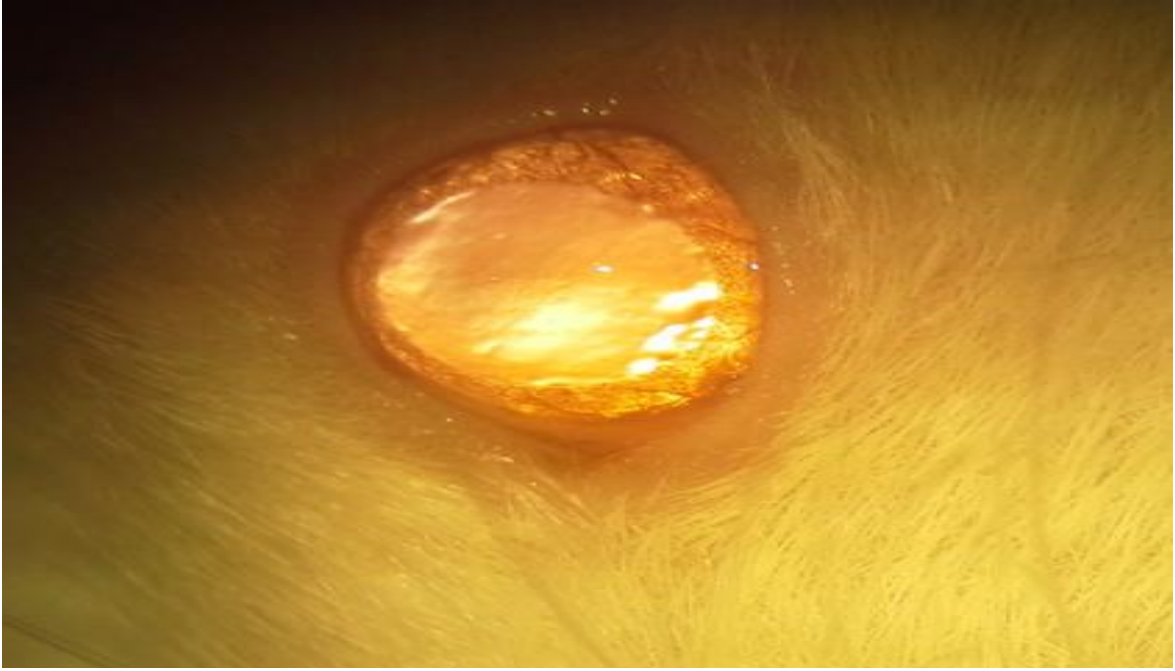
- 1- GRUP 1A (n=10) Sadece KÇB ile tedavi edildi.
- 2- GRUP 1B (n=10) Tedavisiz bırakıldı (kontrol grubu).
- 3- GRUP 1C (n=10) KÇB + KÇB sonrası topikal tobramisin damla ile günde 4 kez 4 gün boyunca tedavi edildi.
- 4- GRUP 1D (n=10) Sadece topikal tobramisin damla ile günde 4 kez 4 gün boyunca tedavi edildi.



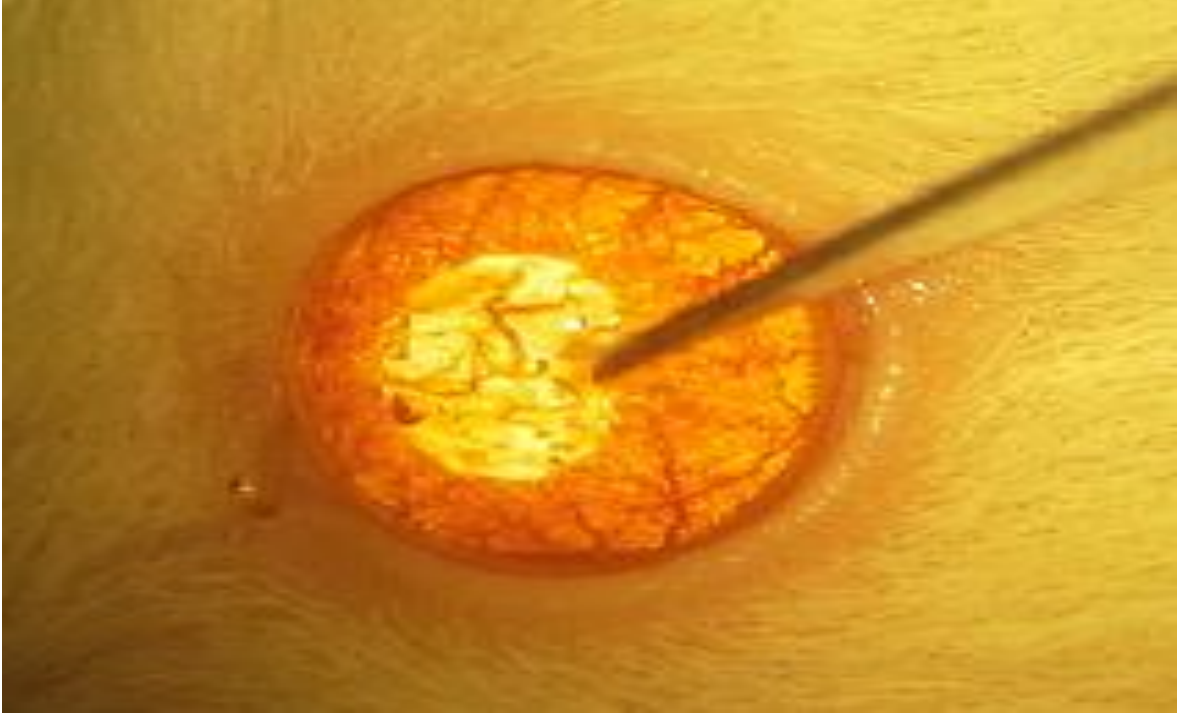
Korneal sürüntü alındıktan sonar MRSA ile keratit oluşturulan 20 sıçanın (GRUP 2) her iki gözü (toplam 40 göz) rastgele dört gruba ayrıldı.

- 1- GRUP 2A (n=10) Sadece KÇB ile tedavi edildi.
- 2- GRUP 2B (n=10) Tedavisiz bırakıldı (kontrol grubu).
- 3- GRUP 2C (n=10) KÇB + KÇB sonrası topikal % 5'lik fortifiye vankomisin (50 mg/ml) damla ile günde 4 kez 4 gün boyunca tedavi edildi.
- 4- GRUP 2D (n=10) Sadece topikal %5'lik fortifiye vankomisin (50 mg/ml) damla ile günde 4 kez 4 gün boyunca tedavi edildi.

KÇB tedavisi mikroorganizma süspansiyon damlatılmasını takiben 3. gün uygulandı. Topikal damla tedavisi KÇB uygulanan gruplarda KÇB sonrası (3. gün), KÇB tedavisi uygulanmayan sadece topikal antibiyotik tedavisi alan gruplarda da mikroorganizma süspansiyonu damlatılmasını takiben 3. günde başlandı.



**Şekil 3.1.** Normal sıçan gözünün mikroskopik görünümü



**Şekil 3.2.** Kornea epitelinde 11 numara bisturi ile abrazyon işlemi



**Şekil 3.3.** Kornea epitelinde 11 numara bisturi ile abrazyon işlemi sonrası



**Şekil 3.4.** Yaratılan epitel defekti bölgesine mikroorganizma süspansiyonu damlatılması



**Şekil 3.5.** Korneal sürüntü örneği alınması

### 3.2. Suşların Hazırlanması

Çalışmada PA ATCC 9027 ve MRSA ATCC 33591 standart suşları kullanıldı. Kullanım zamanına kadar -86°C de saklanan suşlar deneyler öncesinde % 5 koyun kanlı agara ekilerek canlandırıldı. Suşlar kanlı agara 2 kere pasajlandıktan sonra deneyler için kullanıldı. Suşların steril serum fizyolojik içinde yoğun süspansiyonları hazırlandı. Daha sonra sıçan gözlerine uygulanacak olan 50 µl süspansiyon içinde, son konsantrasyon 1.0×10<sup>8</sup> CFU/mL bakteri olacak şekilde, spektrofotometrik olarak serum fizyolojik ile dilüe edilerek hazırlandı.

### 3.3. Biyomikroskopik Değerlendirme

Bütün sıçanların mikroorganizma süspansiyonu damlatılmasını takiben 3. gün (KÇB tedavisi öncesi) ve 7. gün (KÇB tedavisi sonrası 4. gün) biyomikroskopik muayenesi yukarıda tanımlanan anestezi sonrası yapıldı. Keratit odağının büyüklüğü ve korneal ödem değerlendirildi. Samsung note 10.1 tablet ile x16 büyütmede mikroskop altında fotoğraflanarak kaydedildi. 3. ve 7. gün biyomikroskopik muayene ile keratit odağının büyüklüğü ve korneal ödem aşağıda tanımlandığı şekilde skorlandı. Fotoğrafları çekilerek kaydedildi.

#### Keratit Odağını Büyüklüğü

0: Keratit odağı yok

1: Keratit Odağı < 1,5 mm

2: Keratit Odağı 1,5-3 mm

3: Keratit odağı > 3 mm

#### Korneal Ödem

0: Korneal ödem yok

1: Minör korneal ödem

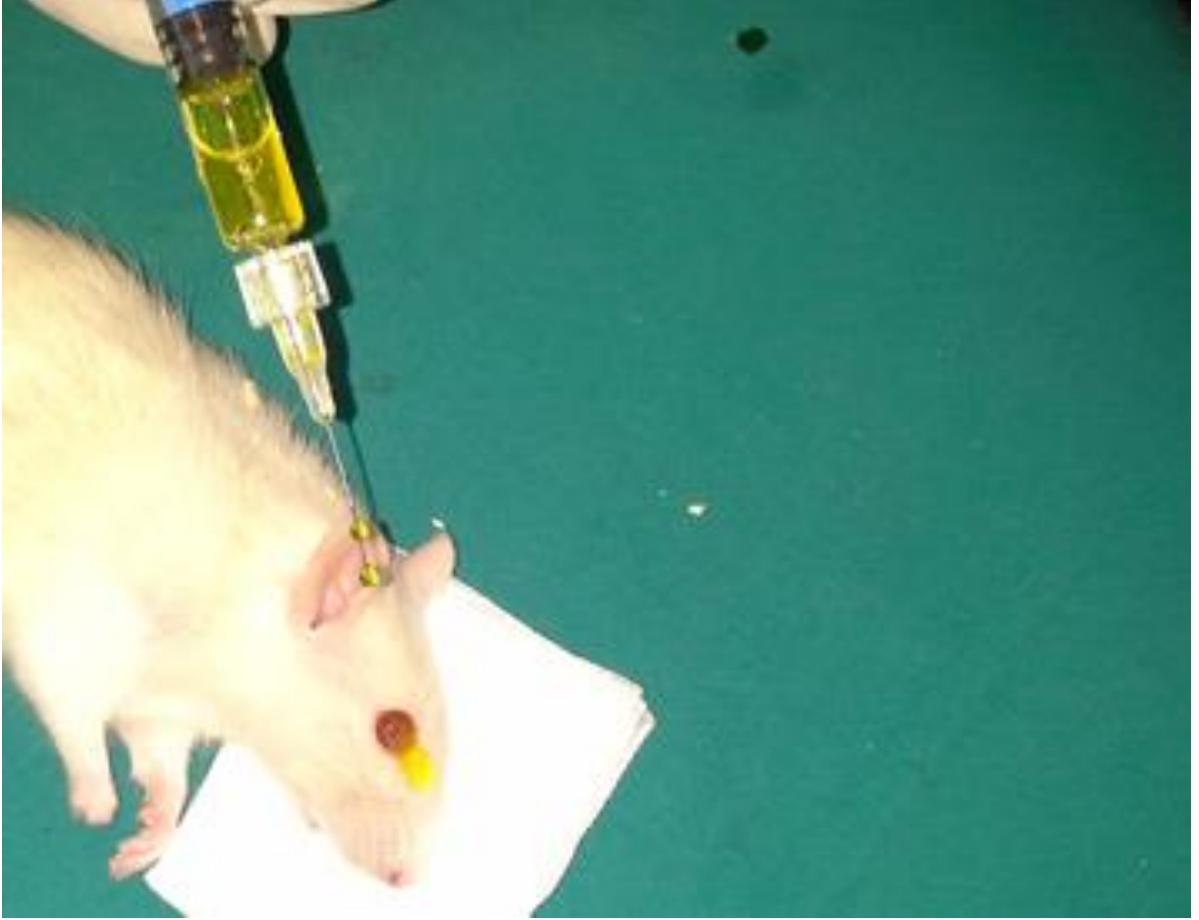
2: Korneanın iki kadranını kapsayan korneal ödem

3: Korneanın iki kadranından daha fazlasını kapsayan korneal ödem

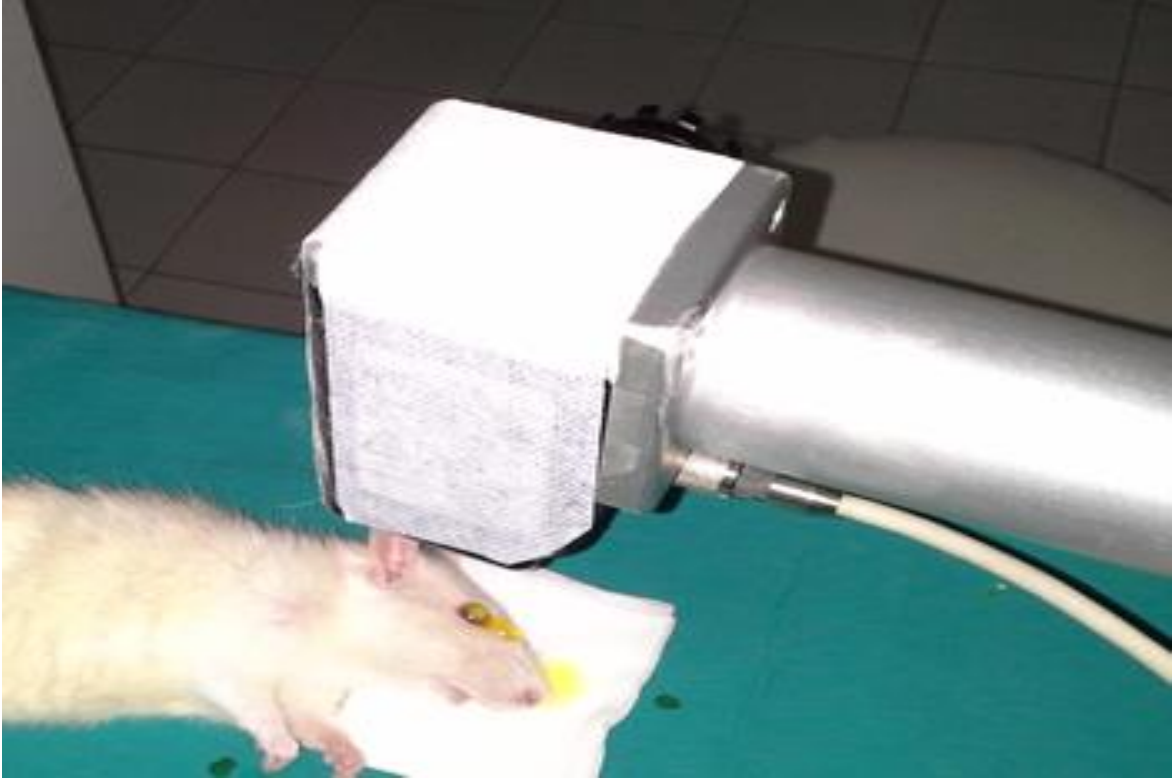
### 3.4. Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Tedavisi

Korneal KÇB tedavisi mikroorganizma süspansiyon damlatılmasını takiben 3. gün yukarıda belirtilen gruplardan grup 1A, 1C, 2A ve 2C'ye uygulandı. Korneal KÇB için % 0.1'lik riboflavin solüsyonu (10 ml % 20'lik T-500 dekstran içine 10 mg riboflavin 5-

fosfat ile hazırlanan) kullanıldı. Hazırlanan solüsyon ışınlama öncesinde 30 dakika her 5 dakikada bir ve ışınlama sırasında (30 dakika) her 5 dakikada bir damlatıldı. (Şekil 3.6, Şekil 3.7) İşlem için, 370 nm'lik UV ışık diyotları, ışın saçma güç yoğunluğu  $3 \text{ mW/cm}^2$ , azami yayılan güç  $4 \text{ mW}$ , ışın saçma alan çapı 4-11 mm ve UV kaynağı tek led UV-A olan CBM Vega X-Link cihazı kullanıldı. (Şekil 3.8) İşlem, 54 mm mesafeden grup 1A, 1C, 2A ve 2C'deki bütün gözlere 30'ar dakika boyunca uygulandı.



**Şekil 3.6.** Işınlama öncesinde % 0.1'lik riboflavin solüsyonu damlatılması



**Şekil 3.7.** Işınlama sırasında % 0.1'lik riboflavin solüsyonu damlatılması



**Şekil 3.8.** CBM Vega X-Link cihazı ile Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulanması

### 3.5. Mikrobiyolojik Değerlendirme

Bütün sıçanlardan mikroorganizma süspansiyonu damlatılmasını takiben 3. gün (KÇB tedavisi öncesi) ve 7. gün (KÇB tedavisi sonrası 4. gün) yukarıda tanımlanan anestezi sonrası amies transport besiyeri (laboratuvara geçiş sırasında organizmaların canlılığını devam ettirmek üzere tasarlanmış, sıvı bazlı besiyeri) içine alınan korneal sürüntü örnekleri, laboratuvarında % 5 koyun kanlı agara ekildi. Plaklar 37°C’de bir gece inkübe edildikten sonra üremeler değerlendirildi. Üreme yoğunluklarına göre sıfırdan dörde kadar aşağıda belirtildiği şekilde skora yapıldı.

Üreme yok= 0

Sadece birinci alanda az sayıda koloni = 1

Birinci alanda çok sayıda koloni = 2

İkinci alanda da üreme = 3

Üçüncü alana yayılan yoğun üreme = 4

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Version 17, Chicago IL, USA) istatistik paket programı kullanılmıştır. Değişkenler ortalama±standart sapma olarak tanımlanmıştır. Verilerin tekrarlanan ölçümler varyans analizine uygunluğu Mauchy’s Küresellik Testi ve Box-M Varyansların Homojenliği Testi ile değerlendirilmiştir. Ortalamaların karşılaştırmaları için faktöriyel düzende faktörlerden biri tekrarlanan ölçümler varyans analizi kullanılmıştır. Eğer parametrik testlerin (faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümler varyans analizi) ön şartlarını sağlamıyorsa serbestlik derecesi düzeltmeli Greenhouse-Geisser (1959), ya da Huynh-Feldt (1976) testlerinden biri kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar ise Düzeltilmiş Bonferroni Testi ile gerçekleştirilmiştir. Testlerin anlamlılık düzeyi için  $p<0,05$  ve  $p<0,01$  değeri kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Biyomikroskopik Bulgular

Gruplar 3. ve 7. gün biyomikroskopik muayene sonrası yapılan evrelemeyle elde edilen skorlamaya göre değerlendirildi. (Tablo 4.1-4.8) Tedaviden önce (3. gün) keratit odağının ortalama büyüklüğü grup 1A'da  $2,60 \pm 0,52$ , grup 1B'de  $2,30 \pm 0,48$ , grup 1C'de  $2,90 \pm 0,32$ , grup 1D'de  $2,60 \pm 0,52$ , grup 2A'da  $2,10 \pm 0,31$ , grup 2B'de  $1,80 \pm 0,42$ , grup 2C'de  $2,00 \pm 0,00$ , grup 2D'de  $2,00 \pm 0,00$  olarak bulundu.

Tedaviden önce (3. gün) keratit odağı grup 1C (KÇB+tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre istatistiksel olarak anlamlı daha büyük bulundu ( $p=0,04$ ). Grup 1A (KÇB) ve 1B (tedavisiz) ( $p=0,949$ ), grup 1A (KÇB) ve 1C (KÇB+tobramisin) ( $p=0,949$ ), grup 1A (KÇB) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,999$ ), grup 1C (KÇB+tobramisin) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,949$ ), grup 1B (tedavisiz) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,949$ ) arasında tedaviden önce (3. gün) keratit odağının büyüklüğünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Grup 2A (KÇB) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,092$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,590$ ), grup 2D (Vankomisin) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,590$ ), grup 2A (KÇB) ve 2C (KÇB+Vankomisin) ( $p=0,999$ ), grup 2A (KÇB) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,999$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,999$ ) arasında tedaviden önce (3. gün) keratit odağının büyüklüğünde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Tedaviden sonra (7. gün) keratit odağının ortalama büyüklüğü grup 1A'da  $2,00 \pm 0,00$ , grup 1B'de  $2,40 \pm 0,52$ , grup 1C'de  $1,90 \pm 0,32$ , grup 1D'de  $1,70 \pm 0,48$ , grup 2A'da  $1,10 \pm 0,31$ , grup 2B'de  $2,00 \pm 0,00$ , grup 2C'de  $1,00 \pm 0,00$ , grup 2D'de  $1,00 \pm 0,00$  olarak bulundu.

Grup 1A (KÇB), 1C (KÇB+tobramisin), 1D (tobramisin), 2A (KÇB), 2C (KÇB+vankomisin), 2D (vankomisin)'de tedaviden sonra (7. gün) tedavi öncesine (3. gün) göre keratit odağında istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). (Şekil 4.1-4.2)

7. günde keratit odağında grup 1C (KÇB+tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,039$ ), grup 1D (tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,002$ ) istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü. 7. günde keratit odağında grup 1A (KÇB) ve 1B (tedavisiz) ( $p=0,161$ ), grup 1A (KÇB) ve 1C (KÇB+tobramisin) ( $p=0,999$ ), grup 1A



(KÇB) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,551$ ), grup 1C (KÇB+tobramisin) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,999$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu.

7. günde keratit odağında grup 2A (KÇB)'da grup 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin)'de grup 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 2D (Vankomisin)'de grup 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü. 7. günde keratit odağında grup 2A (KÇB) ve 2C (KÇB+Vankomisin) ( $p=0,995$ ), grup 2A (KÇB) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,995$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,995$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu.

Tedaviden önce (3. gün) korneal ödem ortalaması grup 1A'da  $2,60 \pm 0,52$ , grup 1B'de  $1,80 \pm 0,42$ , grup 1C'de  $2,50 \pm 0,53$ , grup 1D'de  $2,20 \pm 0,63$ , grup 2A'da  $1,40 \pm 0,51$ , grup 2B'de  $1,00 \pm 0,00$ , grup 2C'de  $1,30 \pm 0,49$ , grup 2D'de  $1,40 \pm 0,51$  olarak bulundu.

Tedaviden önce (3. gün) korneal ödem grup 1A (KÇB)'da grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,11$ ), grup 1C (KÇB+ tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,33$ ) istatistiksel olarak anlamlı daha fazla bulundu. Grup 1A (KÇB) ve 1C (KÇB+tobramisin) ( $p=0,999$ ), grup 1A (KÇB) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,599$ ), grup 1C (KÇB+tobramisin) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,999$ ), grup 1B (tedavisiz) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,599$ ) arasında tedaviden önce (3. gün) keorneal ödemde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Grup 2A (KÇB) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,291$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,805$ ), grup 2D (Vankomisin) ve 2B (tedavisiz) ( $p=0,291$ ), grup 2A (KÇB) ve 2C (KÇB+Vankomisin) ( $p=0,999$ ), grup 2A (KÇB) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,999$ ), grup 2C (KÇB+Vankomisin) ve 2D (Vankomisin) ( $p=0,999$ ) arasında tedaviden önce (3. gün) korneal ödemde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Tedaviden sonra (7. gün) korneal ödem ortalaması grup 1A'da  $1,60 \pm 0,52$ , grup 1B'de  $2,10 \pm 0,74$ , grup 1C'de  $1,50 \pm 0,53$ , grup 1D'de  $1,00 \pm 0,82$ , grup 2A'da  $0,40 \pm 0,51$ , grup 2B'de  $1,60 \pm 0,51$ , grup 2C'de  $0,30 \pm 0,49$ , grup 2D'de  $0,30 \pm 0,49$  olarak bulundu.

Grup 1A (KÇB), 1C (KÇB+tobramisin), 1D (tobramisin), 2A (KÇB), 2C (KÇB+vankomisin), 2D (vankomisin)'de tedaviden sonra (7. gün) tedavi öncesine (3. gün) göre korneal ödemde istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu görüldü ( $p<0,01$ ). (Şekil 4.3, 4.4)

7. günde korneal ödemde grup 1D (tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu görüldü ( $p=0,004$ ). 7. günde korneal ödemde

grup 1A (KÇB) ve 1B (tedavisiz) (p=0,601), grup 1A (KÇB) ve 1C (KÇB+tobramisin) (p=0,999), grup 1A (KÇB) ve 1D (tobramisin) (p=0,302), grup 1B (tedavisiz) ve 1C (KÇB+tobramisin) (p=0,302), grup 1C (KÇB+tobramisin) ve 1D (tobramisin) (p=0,601) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu.

7. günde korneal ödemde grup 2A (KÇB)'da grup 2B (tedavisiz)'ye göre (p=0,001), grup 2C (KÇB+vankomisin)'de grup 2B (tedavisiz)'ye göre (p=0,001), grup 2D (vankomisin)'de grup 2B (tedavisiz)'ye göre (p=0,001) istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu görüldü. 7. günde korneal ödemde grup 2A (KÇB) ve 2C (KÇB+vankomisin) (p=0,999), grup 2A (KÇB) ve 2D vankomisin) (p=0,999), grup 2C (KÇB+vankomisin) ve 2D (vankomisin) (p=0,999) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu. (Tablo 4.9-4.12, Şekil 4.5-4.20).

**Tablo 4.1.** GRUP 1A Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 A	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	3	2	3	2
2	2	2	2	1
3	3	2	3	2
4	3	2	3	2
5	2	2	2	1
6	2	2	2	1
7	2	2	2	1
8	3	2	3	2
9	3	2	3	2
10	3	2	3	2

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1A: KÇB

**Tablo 4.2.** GRUP 1B Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 B	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	2	2	2	2
2	3	3	2	3
3	2	2	1	1
4	2	2	1	1
5	3	3	2	3
6	3	3	2	3
7	2	3	2	2
8	2	2	2	2
9	2	2	2	2
10	2	2	1	2

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1B: Tedavisiz

**Tablo 4.3. GRUP 1C Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)**

GRUP 1 C	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	3	2	3	2
2	3	2	3	2
3	3	2	3	2
4	2	1	2	1
5	3	2	3	2
6	3	2	2	1
7	3	2	3	2
8	3	2	2	1
9	3	2	2	1
10	3	2	2	1

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1C: KÇB+ Tobramisin

**Tablo 4.4. GRUP 1D Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)**

GRUP 1 D	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. 2GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	3	2	2	1
2	3	2	2	1
3	3	2	3	2
4	2	1	1	0
5	3	2	3	2
6	3	2	2	1
7	3	2	2	1
8	2	1	2	0
9	2	2	3	2
10	2	1	2	0

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1D: Tobramisin

**Tablo 4.5. GRUP 2A Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)**

GRUP 2 A	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. 2GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	3	2	2	1
2	2	1	1	0
3	2	1	2	1
4	2	1	2	1
5	2	1	2	1
6	2	1	1	0
7	2	1	1	0
8	2	1	1	0
9	2	1	1	0
10	2	1	1	0

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2A: KÇB

**Tablo 4.6.** GRUP 2B Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 2 B	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. 2GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	2	2	1	2
2	2	2	1	2
3	2	2	1	1
4	2	2	1	1
5	1	2	1	1
6	2	2	1	2
7	1	2	1	2
8	2	2	1	2
9	2	2	1	1
10	2	2	1	2

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2B: Tedavisiz

**Tablo 4.7.** GRUP 2C Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 2 C	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. 2GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	2	1	1	0
2	2	1	2	1
3	2	1	1	0
4	2	1	2	1
5	2	1	2	1
6	2	1	1	0
7	2	1	1	0
8	2	1	1	0
9	2	1	1	0
10	2	1	1	0

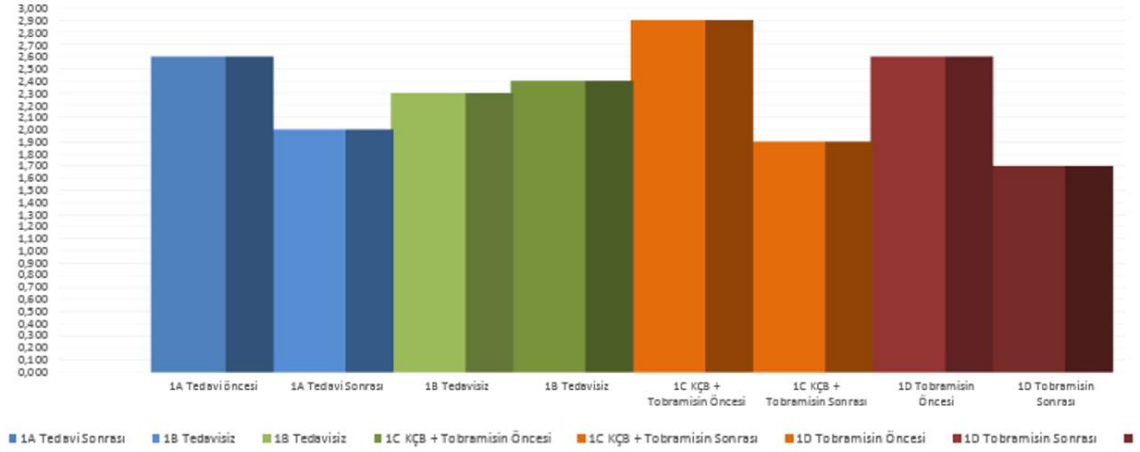
K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2C: KÇB+ Vankomisin

**Tablo 4.8.** GRUP 2D Biyomikroskopik Muayene Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 2 D	K.O. 3. GÜN	K.O. 7. GÜN	K.Ö. 3. 2GÜN	K.Ö. 7. GÜN
1	2	1	2	1
2	2	1	2	1
3	2	1	2	1
4	2	1	1	0
5	2	1	1	0
6	2	1	1	0
7	2	1	2	0
8	2	1	1	0
9	2	1	1	0
10	2	1	1	0

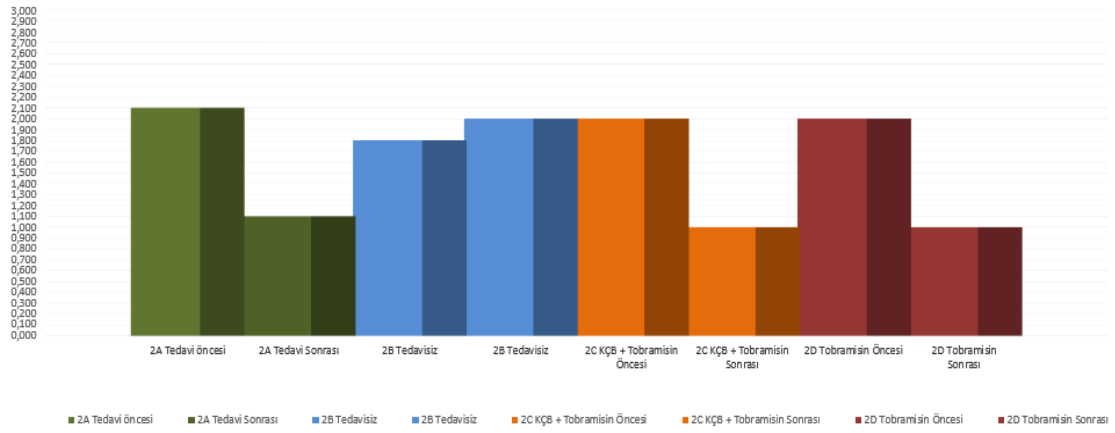
K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2D: Vankomisin

*Pseudomonas Aeruginosa* Keratit Odağındaki Değişim

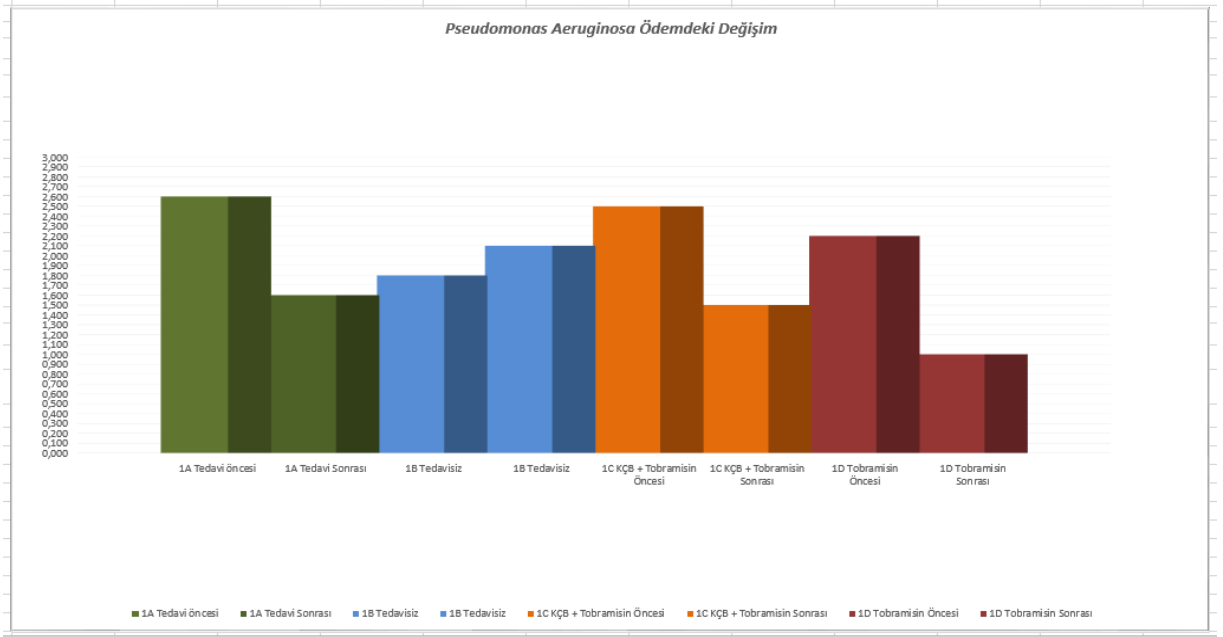


Şekil 4.1. Grup 1 Keratit Odağındaki Değişim (3. Ve 7. Gün)

Metisiline Dirençli *Staphylococcus Aureus* (MRSA) Keratit Odağındaki Değişim

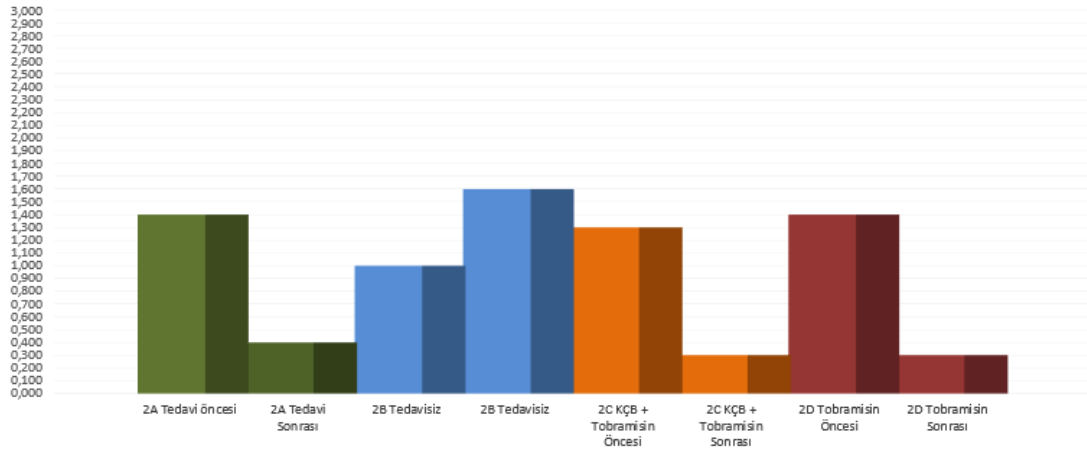


Şekil 4.2. Grup 2 Keratit Odağındaki Değişim (3. Ve 7. Gün)



Şekil 4.3. Grup 1 Korneal Ödemdeki Değişim (3. Ve 7. Gün)

*Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA)* Korneal Ödemdeki Değişim



Şekil 4.4. Grup 2 Korneal Ödemdeki Değişim (3. Ve 7. Gün)

**Tablo 4.9.** Grup 1 Keratit Odağındaki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON p	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
1A	2,60 ± 0,52	2,00 ± 0,00	0,001	3-7 gün
1B	2,30 ± 0,48	2,40 ± 0,52		3-7 gün
1C	2,90 ± 0,32	1,90 ± 0,32		3-7 gün
1D	2,60 ± 0,52	1,70 ± 0,48		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ	1B-1C	1B-1C 1B-1D		

**Tablo 4.10.** Grup 2 Keratit Odağındaki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON p	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
2A	2,10 ± 0,31	1,10 ± 0,31	0,001	3-7 gün
2B	1,80 ± 0,42	2,00 ± 0,00		3-7 gün
2C	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00		3-7 gün
2D	2,00 ± 0,00	1,00 ± 0,00		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ		2A-2B 2B-2C 2B-2D		

**Tablo 4.11.** Grup 1 Korneal Ödemdeki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON p	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
1A	2,60 ± 0,52	1,60 ± 0,52	0,001	3-7 gün
1B	1,80 ± 0,42	2,10 ± 0,74		3-7 gün
1C	2,50 ± 0,53	1,50 ± 0,53		3-7 gün
1D	2,20 ± 0,63	1,00 ± 0,82		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ	1A-1B 1B-1C	1B-1D		

**Tablo 4.12.** Grup 2 Korneal Ödemdeki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON p	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
2A	1,40 ± 0,51	0,40 ± 0,51	0,001	3-7 gün
2B	1,00 ± 0,00	1,60 ± 0,51		3-7 gün
2C	1,30 ± 0,49	0,30 ± 0,49		3-7 gün
2D	1,40 ± 0,51	0,30 ± 0,49		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ		2A-2B 2B-2C 2B-2D		





**Şekil 4.5.** GRUP 1A KÇB Öncesi



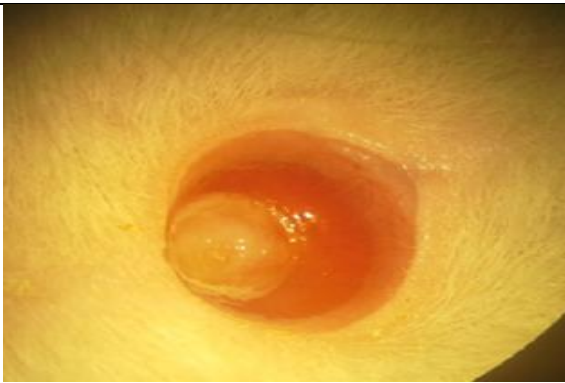
**Şekil 4.6.** GRUP 1A KÇB Sonrası



**Şekil 4.7.** GRUP 1B Enfeksiyon Sonrası 3. Gün



**Şekil 4.8.** GRUP 1B Enfeksiyon Sonrası 7. Gün



**Şekil 4.9.** GRUP 1C KÇB+ Topikal Tobramisin Öncesi



**Şekil 4.10.** GRUP 1C KÇB+ Topikal Tobramisin Sonrası



**Şekil 4.11.** GRUP 1D Topikal Tobramisin Öncesi



**Şekil 4.12.** GRUP 1D Topikal Tobramisin Sonrası



**Şekil 4.13.** GRUP 2A KÇB Öncesi



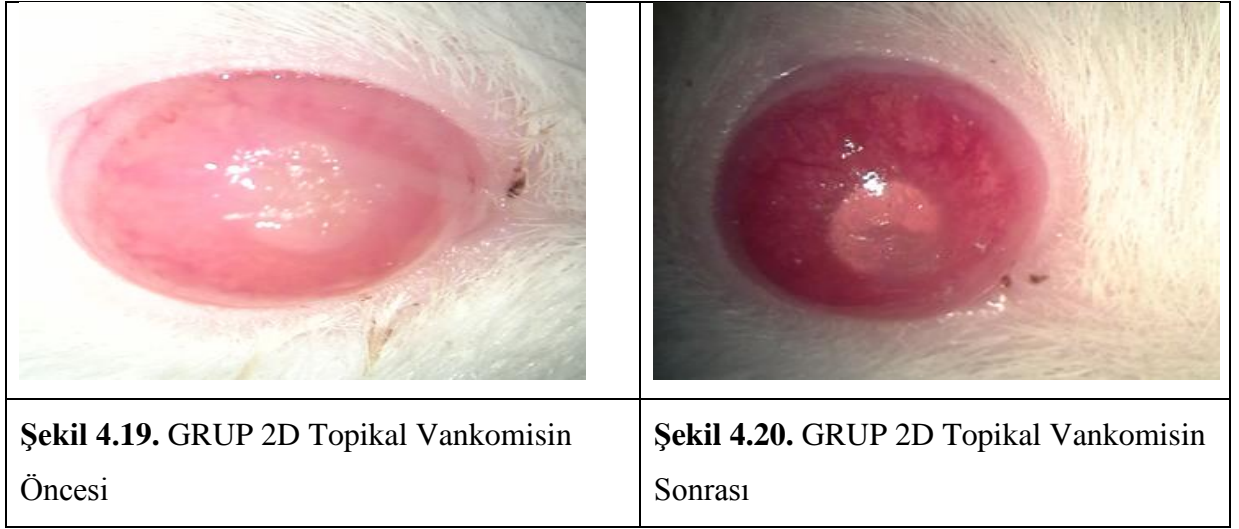
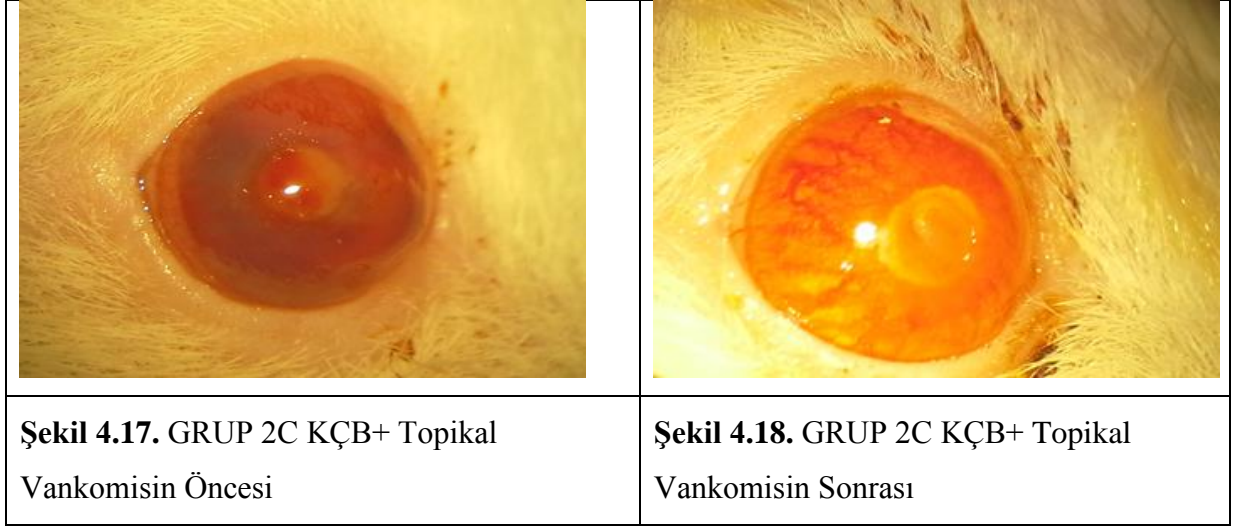
**Şekil 4.14.** GRUP 2A KÇB Sonrası



**Şekil 4.15.** GRUP 2B Enfeksiyon Sonrası 3. Gün



**Şekil 4.16.** GRUP 2B Enfeksiyon Sonrası 7. Gün



#### 4.2. Mikrobiyolojik Bulgular

Gruplar 3. ve 7. gün alınan korneal sürüntü örneklerinden elde edilen kültürdeki üreme sonucuna göre yapılan skorlamaya göre değerlendirildi. (Tablo 4.13-4.20) Tedaviden önce (3. gün) kültürdeki üreme ortalaması grup 1A'da  $2,00 \pm 0,00$ , grup 1B'de  $1,60 \pm 0,52$ , grup 1C'de  $1,80 \pm 0,63$ , grup 1D'de  $1,60 \pm 0,52$ , grup 2A'da  $1,20 \pm 0,42$ , grup 2B'de  $1,40 \pm 0,69$ , grup 2C'de  $1,30 \pm 0,49$ , grup 2D'de  $1,80 \pm 0,42$  olarak bulundu. Tedaviden önce (3. gün) kültürdeki üremede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ).

Tedaviden sonra (7. gün) kültürdeki üreme ortalaması grup 1A'da  $1,60 \pm 0,52$ , grup 1B'de  $1,70 \pm 0,48$ , grup 1C'de  $0,30 \pm 0,48$ , grup 1D'de  $0,20 \pm 0,42$ , grup 2A'da  $0,80 \pm$

0,42, grup 2B'de  $1,80 \pm 0,79$ , grup 2C'de  $0,00 \pm 0,00$ , grup 2D'de  $0,40 \pm 0,51$  olarak bulundu.

Grup 1A (KÇB), 1C (KÇB+tobramisin), 1D (tobramisin), 2A (KÇB), 2C (KÇB+vankomisin), 2D (vankomisin)'de tedaviden sonra (7. gün) tedavi öncesine (3. gün) göre üremede istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü ( $p < 0.01$ ). (Şekil 4.21, 4.22) 7. Günde kültürdeki üremede grup 1C (KÇB+tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 1D (tobramisin)'de grup 1B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 1C (KÇB+tobramisin)'de grup 1A (KÇB)'ya göre ( $p=0,001$ ), grup 1D (tobramisin)'de grup 1A (KÇB)'ya göre ( $p=0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü. 7. Günde üremede grup 1A (KÇB) ve 1B (tedavisiz) ( $p=0,999$ ), grup 1C (KÇB+tobramisin) ve 1D (tobramisin) ( $p=0,999$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu.

7. günde üremede grup 2A (KÇB)'da grup 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 2C (KÇB+vankomisin)'de grup 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 2D (vankomisin)'de 2B (tedavisiz)'ye göre ( $p=0,001$ ), grup 2C (vankomisin)'de grup 2A (KÇB)'ya göre ( $p=0,008$ ) istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü. 7. günde üremede grup 2A (KÇB) ve 2D (vankomisin) ( $p=0.551$ ), grup 2C (KÇB+vankomisin) ve 2D (vankomisin) ( $p=0.551$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu. (Tablo 4.21, 4.22)

**Tablo 4.13.** GRUP 1A Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 A	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	2	2
2	2	1
3	2	2
4	2	2
5	2	2
6	2	2
7	2	1
8	2	2
9	2	1
10	2	1

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1A: KÇB

**Tablo 4.14.** GRUP 1B Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 B	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	2	2
2	1	1
3	2	2
4	2	2
5	1	1
6	2	2
7	2	2
8	1	1
9	2	2
10	1	2

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1B: Tedavisiz

**Tablo 4.15.** GRUP 1C Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 C	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	2	1
2	2	0
3	2	0
4	2	0
5	2	1
6	1	0
7	3	1
8	1	0
9	2	0
10	1	0

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem,1C: KÇB+TOBRAMİSİN

**Tablo 4.16.** GRUP 1D Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 1 D	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	2	0
2	1	0
3	2	1
4	1	0
5	2	1
6	2	0
7	2	0
8	1	0
9	2	0
10	1	0

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 1D: Tobramisin

**Tablo 4.17.** GRUP 2A Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 2A	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	1	1
2	1	1
3	1	0
4	2	0
5	2	1
6	1	1
7	1	1
8	1	1
9	1	1
10	1	1

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2A: KÇB

**Tablo 4.18.** GRUP 2B Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

GRUP 2B	ÜREME 3. GÜN	ÜREME 7. GÜN
1	2	2
2	1	1
3	1	3
4	1	3
5	1	2
6	2	2
7	1	1
8	2	2
9	1	1
10	1	1

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2B: Tedavisiz

**Tablo 4.19.** GRUP 2C Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

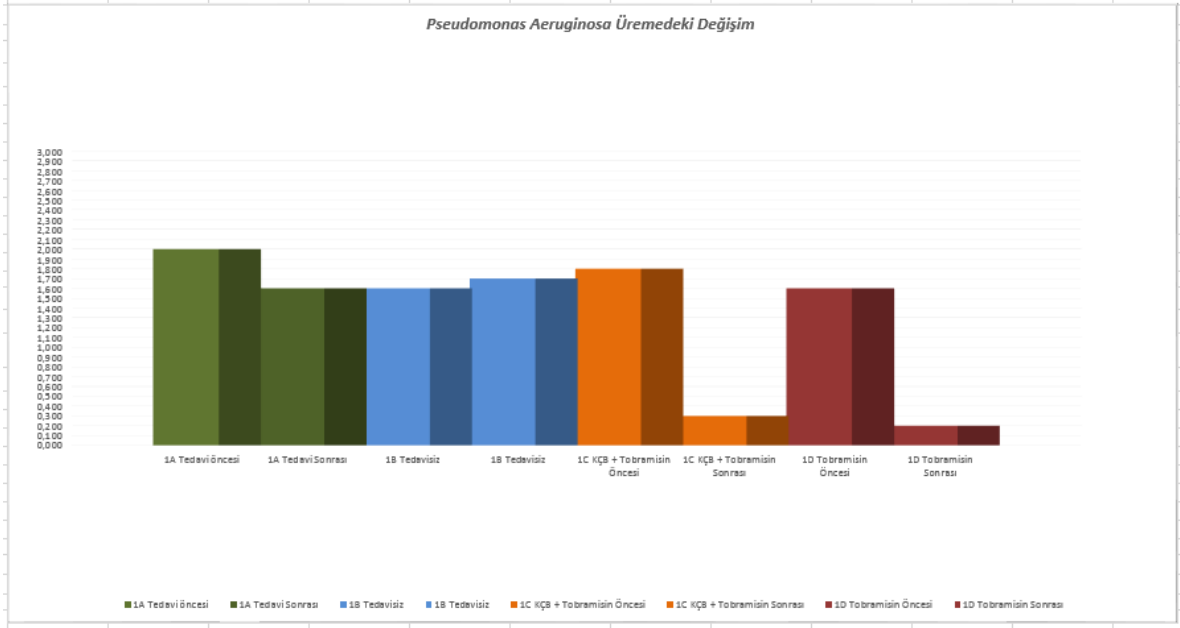
<b>GRUP 2 C</b>	<b>ÜREME 3. GÜN</b>	<b>ÜREME 7. GÜN</b>
<b>1</b>	1	0
<b>2</b>	2	0
<b>3</b>	2	0
<b>4</b>	1	0
<b>5</b>	2	0
<b>6</b>	1	0
<b>7</b>	1	0
<b>8</b>	1	0
<b>9</b>	1	0
<b>10</b>	1	0

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2C: KÇB+ Vankomisin

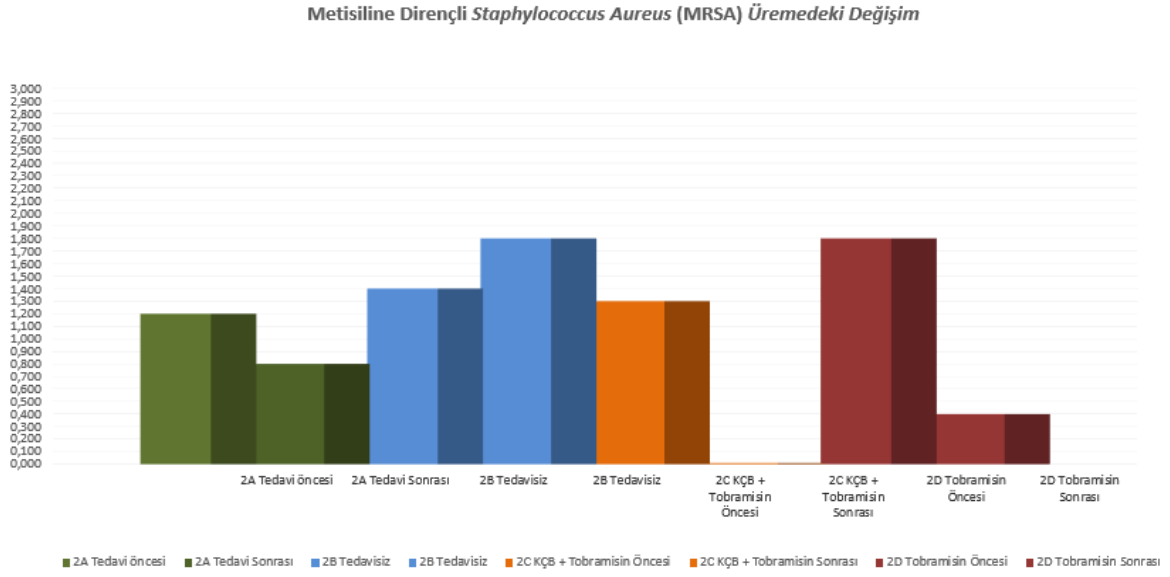
**Tablo 4.20.** GRUP 2D Mikrobiyolojik Değerlendirme Skorlama (Evre 0-3)

<b>GRUP 2D</b>	<b>ÜREME 3. GÜN</b>	<b>ÜREME 7. GÜN</b>
<b>1</b>	2	1
<b>2</b>	2	1
<b>3</b>	2	0
<b>4</b>	2	0
<b>5</b>	2	0
<b>6</b>	2	0
<b>7</b>	2	0
<b>8</b>	1	1
<b>9</b>	2	0
<b>10</b>	1	1

K O. :keratit odağı, K Ö. : korneal ödem, 2D: Vankomisin



Şekil 4.21. Grup 1 Üremedeki Değişim (3. Ve 7. Gün)



Şekil 4.22. Grup 1 Üremedeki Değişim (3. Ve 7. Gün)



**Tablo 4.21.** GRUP 1 Üremedeki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON P	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
1A	2,00 ± 0,00	1,60 ± 0,52	0,001	3-7 gün
1B	1,60 ± 0,52	1,70 ± 0,48		3-7 gün
1C	1,80 ± 0,63	0,30 ± 0,48		3-7 gün
1D	1,60 ± 0,52	0,20 ± 0,42		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ		1B-1C 1B-1D 1A-1C 1A-1D		

**Tablo 4.22.** GRUP 2 Üremedeki Değişim

GRUPLAR	ORT ± STD SAPMA	ORT ± STD SAPMA	İTERAKSİYON P	GÜN FARKLARI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ
	3. GÜN	7. GÜN		
2A	1,20 ± 0,42	0,80 ± 0,42	0,001	3-7 gün
2B	1,40 ± 0,69	1,80 ± 0,79		3-7 gün
2C	1,30 ± 0,49	0,00 ± 0,00		3-7 gün
2D	1,80 ± 0,42	0,40 ± 0,51		3-7 gün
GRUP KARŞILAŞTIRMASI DÜZELTİLMİŞ BONFERRONİ		2A-2B 2B-2C 2B-2D 2A-2C		

## 5. TARTIŞMA

Bakteriyel keratit dünya çapında önemli bir morbidite nedenidir ve hızlı ve yıkıcı görme kaybına neden olabilir (96). Amerika Birleşik Devletleri'nde bakteriyel keratit olgularının yaklaşık % 90'ı dört grup mikroorganizmanın birinden kaynaklanır: 1) *Pseudomonas Aeruginosa* (PA), 2) *Staphylococcus aureus* (SA) ve *Micrococcaceae*, 3) *Streptococcus pneumonia* (SP), 4) *Enterobacteriaceae* (37).

Bakteriyel keratite neden olan potansiyel bütün mikroorganizmalara karşı etkin tek bir antibiyotik yoktur. Olası Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri kapsayacak geniş spektrumlu antibiyotikleri seçmek gerekir (39). Gram negatif bakterilere karşı aminoglikozidler başlangıç tedavi için çok iyi bir seçimdir. Gentamisin, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Enterobacter* gibi Gram negatif bakterilere karşı etkindir. Gentamisin dirençli *Pseudomonas* için tobramisin bir alternatif ilaç olabilir (44). Deneysel PA keratit modelinde yapılan bir çalışmada, *Pseudomonas* keratit tedavisinde % 1.36 tobramisin ile ıslatılmış kollajen bandajların % 1.36 topikal tobramisine göre etkinliği karşılaştırılmış ve her iki uygulamanın da *Pseudomonas* keratit tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (97). Sefalosporinler Gram pozitif koklara karşı etkili bir antibiyotiktir, vankomisin sefalosporinlerin etkisiz olduğu *stafilokok* infeksiyonlarında kullanılabilir ancak direnç gelişimi nedeniyle ampirik tedavide önerilmez ve konjonktivada ayrılmaya yol açabileceğinden subkonjonktival enjeksiyonları önerilmez (98). Deneysel MRSA keratit modelinde yapılan bir çalışmada, % 0.3'lük ve % 1.0'lik vankomisin merhemlerin MRSA keratit tedavisinde etkili olduğu, %0.1'lik vankomisin merhemlerin bazı gözlerde etkisiz olduğu, % 0.03'lük vankomisin merhem ile tedavi edilen gözlerde infiltratların olduğu bulunmuştur ve çalışma vankomisin merheminin MRSA keratit bulgularını önleyici etkiye sahip olduğunu, % 0.3 konsantrasyonun etkili bir tedavi için gerekli olduğunu göstermiştir (99). Yaptığımız çalışmada, topikal tobramisin tedavisinin PA keratitinde, topikal fortifiye vankomisin tedavisinin de MRSA keratitinde etkili olduğu sonucuna ulaştık.

KÇB, kornea biyomekaniğini güçlendirerek kornea dokusu içerisinde güçlendirici etkiye neden olan riboflavin ve UV ışınlarını kullanan bir tekniktir (100-102). Riboflavinin UV-A ışınlarıyla interaktif etkisi korneal stromadaki kollajen fibriller arasındaki kimyasal bağların oluşmasını güçlendirir ve enzimatik sindirme karşı direnç artırmaya yardımcı olur (8). Riboflavin veya vitamin B2, doğal olarak oluşan bir maddedir. İnsan sağlığını korumada anahtar rol oynayan önemli bir mikrobesein olduğu gösterilmiştir. Riboflavinin görünür veya UV ışığına maruz kaldığında, RNA içeren bütün mozaik virüsünü inaktive

etmek için kullanılabilir olduğu Japon bilim adamları tarafından gösterilmiştir (2). Bu buluştan sonra, bu fenomen virüs, bakteri ve parazitleri inaktive etmek için çeşitli tıp dallarında kullanılmıştır (103-105). Riboflavinin fotoaktivasyonu, oksidasyon işlemi ile mikroorganizmaların DNA ve RNA hasarına ve kromozomal zincirlerde lezyonlara neden olur (106).

Şu anda kullanımda olan antimikrobikler, oküler yüzeyde punktat keratit, gecikmiş epitelizasyon, hiperemi ve kemozis gibi toksik etkilere ve daha da önemlisi gelişen ve artan bakteri direncine yol açabilmektedir (107,108). Korneal ektazilerin tedavisinde, temelinde UV-A ışınları ve ışığa duyarlaştırıcı olarak riboflavinin kullanıldığı KÇB tedavisi Wollensak ve arkadaşları tarafından sunulmuştur (4). Wollensak ve arkadaşları tarafından riboflavin / UV-A tedavisinin insan korneasında doza bağlı keratosit hasarına yol açtığı gösterilmiştir (109). Bu yaklaşımın, riboflavin yan ürünlerinin UV-A'ya maruz kaldıktan sonra patojen inaktivasyonu yaptığı tesadüfen bulunmuştur (110). Bu mekanizma parazitler ve virüsleri de kapsayan geniş bir patojen listesini etkilemektedir (2,110,111). Riboflavin ve UV-A (280-370 nm) direkt elektron transferi, tekli oksijen üretimi ve hidroksil radikallerini oluşturan hidrojen peroksit üretimi ile nükleik asitlere zarar verebilir. Patojenlerin DNA / RNA'ları oksijen yokluğunda etkilenebilir. Bu işlemin, bakterileri, hücre içi insan immün yetmezlik virüsü-1'i, batı nil virüsünü, prelinik çalışmalarda tomboisitler ve plazma içindeki domuz parvovirüsünü kapsayan patojenlere karşı etkili olduğu yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Bu nedenle, riboflavin-UV-A düşük protein hasarı ve az toksisite ile yüksek etkinlik sunabilir (84).

Martins ve arkadaşları riboflavin/UVA (365 nm)'nın sık görülen patojenlere karşı antimikrobiyal özelliklerini göstermek için in vitro bir çalışma yapmıştır. Yaptıkları çalışmada bu tedavinin, *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Epidermidis*, MRSA, PA ve ilaca Rezistan *Streptococcus Pneumoniae*'ya karşı etkili olduğunu, ancak *Candida Albicans*'a karşı etkisiz olduğunu bulmuşlardır (84).

Kashiwabuchi ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada araştırmacılar, UVA-riboflavin tedavisini in vitro veya in vivo olarak *Acanthamoeba* trofozoitlerine karşı etkili bulmamışlardır (112). İn vitro testte etkisiz olmasına rağmen, GarduñoVieyra ve arkadaşlarının yaptığı bir olgu çalışmasında ve Khan ve arkadaşlarının yaptığı vaka serisinde UVA-riboflavinin *Acanthamoeba* keratit tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir. Yapılan iki çalışmada hastaların oküler belirtilerinde ve ülser boyutunda hızlı bir azalma olduğu gösterilmiştir (90,113).

UV ışığının, çeşitli yollardan göze zarar verebildiği bilinmektedir. Fotokeratitlerin, 270-315 nm (Ultraviyole B) dalga boyları ve 0,12-0,56 j/cm<sup>2</sup> enerji yoğunlukları arasında olduğu gösterilmiştir (114). Katarakt gelişmesi için literatürde, 290 ile 365 nm dalga boyu aralığında çeşitli güç değerleri rapor edilmiştir (115,116). Retina, 400-1400 nm dalga boyu aralığında termal veya görünür ışık kaynaklı fotokimyasal hasarlar nedeniyle zarar görebilir (84). Spoerl ve arkadaşları tarafından riboflavin / UVA (370 nm) kullanılarak korneal KÇB sırasında oküler dokulardaki hasarı değerlendirmek için bir çalışma yapılmıştır. UVA / riboflavin tedavisinde belirlenen kriterler yerine getirildiği takdirde kornea endoteline, lense veya retinaya zarar gelmesinin beklenmediği sonucuna varılmıştır (117). 2003 yılında Wollensak ve arkadaşlarının keratokonuslu hastalarda yaptığı bir pilot çalışmada, KÇB tedavisi sonrası kornea saydamlığının, lens epitel hücre yoğunluğunun ve göz içi basıncının değişmeden kaldığı gösterilmiştir (4). Bizim çalışmamızda da, KÇB tedavisi uygulanan sıçanlarda ciddi yan etkiler görülmedi.

Yapılan vaka serilerinde gösterildiği gibi, bakterisid ve stromal güçlendirici özellikleri KÇB'yi bakteriyel keratit tedavisinde uygun bir seçenek haline getirmektedir (118). Al-Sabai ve arkadaşları PA'nın neden olduğu, KÇB'nin korneal iyileşmeye yardım ettiği keratit olgusu yayınlamıştır (119). Iseli ve arkadaşları antibiyotik tedavisine dirençli enfeksiyöz keratitli 5 hastayı kapsayan vaka serisinde, korneal erimenin durdurulmasında UVA / riboflavin tedavisinin etkinliğini göstermiştir (86). Makdoui ve arkadaşları tarafından yapılan 7 gözü kapsayan çalışmada, riboflavin ile yapılan KÇB tedavisi sonrası tüm olgularda korneal erime durmuştur ve tam epitelizasyon sağlanmıştır (3). Aynı çalışmada, hipopiyon ile başvuran iki hastada hipopiyon KÇB'dan iki gün sonra gerilemiştir (3). Hastalardan biri hiçbir antibiyotik tedavisi almadan KÇB tedavisi ile hızlı bir şekilde iyileşmiştir (3). Gelişmiş keratitli iki olgu sadece kısa bir süre antibiyotik tedavisi almış ve KÇB tedavisi sonrası komplikasyon olmadan hızlı bir şekilde iyileşmiştir (3). Makdoui ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada, enfeksiyöz keratitli olgularda primer tedavi olarak KÇB'yi başarılı bir şekilde kullanmıştır (93). Aynı çalışmada 16 hastanın sadece 2 tanesinde antibiyotik gerekli olmuştur ve birine amniyotik membran transplantasyonu gerekmiştir (93). Ferrari ve arkadaşları, topikal ve sistemik antibiyotikler ile hiçbir iyileşme göstermeyen fakat KÇB kullanıldıktan sonra iyileşmeye başlayan *Escherichia Coli* keratitli bir olgu yayınlamıştır (120).

Zhang ve arkadaşları fungal keratitlerin tedavisinde KÇB ile kombine amfoterisin B'yi kullanmışlardır. İlacın, fungal membran sterollerinden oluşan transmembran

kanallarınıyla etkileşime girdiği, riboflavinin hücre içine girmesine izin verdiği ve hücrel aktiviteyi yok ettiği gösterilmiştir (121).

Galperin ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları deneysel *fusarium* keratit modelinde, riboflavin ile uygulanan KÇB tedavisinin klinik ve mikrobiyolojik etkinliğini değerlendirmiştir. KÇB tedavisinin fungal keratitlerde, enfeksiyonun yoğunluğunu ve şiddetini azaltmakta etkili olduğu fakat bu tedavinin fungal keratitlerde yeterli iyileşmeyi sağlamadığı, tedaviye dirençli fungal keratitlerde medikal tedaviye yardımcı bir yöntem olarak yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır (1).

Berra ve arkadaşları tavşanlarda yaptıkları deneysel *Acanthamoeba* keratit modelinde, riboflavin ile uygulanan KÇB tedavisinin klinik ve mikrobiyolojik etkinliğini değerlendirmiştir. KÇB tedavisinin *Acanthamoeba* keratitinde enfeksiyonun yoğunluğunu ve şiddetini azaltmakta etkili olmadığı, tedavi edilen kornealarda klinik ve mikrobiyolojik olarak kötüleşme olduğu görülmüştür ve KÇB tedavisinin *Acanthamoeba* keratitinde uygun bir tedavi olmadığı sonucuna varılmıştır (122).

Alio JL ve arkadaşları KÇB'nin enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde yeni bir yol olabileceğini yayınladıkları derlemede bildirmiştir. KÇB tedavisinin, korneal erimeyi durdurarak enfeksiyöz keratitleri kontrol etmede etkili olduğu ancak bugüne kadar yayınlanmış çalışmalarda kontrol gruplarının yokluğu nedeniyle, bu tedavinin şu an için uygulanabilirliğinin kısıtlandığı belirtilmiştir. Ciddi keratitlerde, KÇB'yı standart topikal antibiyotik tedavisi ile karşılaştıran bir çalışma yaparak uygulamaya açıklık getirmek gerektiğini vurgulamışlardır (123).

Klinik ve mikrobiyolojik olarak KÇB tedavisinin etkinliğini değerlendirdiğimiz çalışmamızda, KÇB tedavisinin, KÇB tedavisi ile kombine topikal antibiyotik tedavisinin ve topikal antibiyotik tedavisinin PA ve MRSA keratitlerinde enfeksiyonun yoğunluğunu ve şiddetini azaltmakta etkili olduğu sonucuna ulaştık. Tedavi ettiğimiz tüm gruplarda tedavi öncesine göre keratit odağındaki küçülme, korneal ödemdeki gerileme, korneal sürüntü örneklerinden elde edilen üremedeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p<0,01$ ).

7. günde keratit odağında KÇB ile kombine topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1C'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 1B'ye göre ( $p=0,039$ ), sadece topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 1B'ye göre ( $p=0,002$ ) istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü. 7. günde keratit odağında sadece KÇB tedavisi uygulanan grup 2A'da tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ), KÇB ile kombine topikal fortifiye vankomisin tedavisi

uygulanan grup 2C'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ) ve sadece topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) 2B'ye göre ( $p=0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı küçülme olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ).

7. günde korneal ödemde sadece topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 1B'ye göre ( $p=0,004$ ) istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu izlendi. 7. günde korneal ödemde sadece KÇB tedavisi uygulanan grup 2A'da tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ), KÇB ile kombine topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2C'de, tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ) ve sadece topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı gerileme olduğu izlendi. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ).

7. günde korneal sürüntü örneklerinden elde edilen kültürdeki üreme sonuçlarında KÇB ile kombine topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1C'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 1B'ye göre ( $p=0,001$ ), sadece topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 1B'ye göre ( $p=0,001$ ), KÇB ile kombine topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1C'de sadece KÇB tedavisi uygulanan grup 1A'ya göre ( $p=0,001$ ), sadece topikal tobramisin tedavisi uygulanan grup 1D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) Grup 1B'ye göre ( $p=0,001$ ) istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü. 7. günde korneal sürüntü örneklerinden elde edilen kültürdeki üreme sonuçlarında sadece KÇB tedavisi uygulanan grup 2A'da tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ), KÇB ile kombine topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2C'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ), sadece topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2D'de tedavisiz bırakılan (kontrol grubu) grup 2B'ye göre ( $p=0,001$ ) ve KÇB ile kombine topikal fortifiye vankomisin tedavisi uygulanan grup 2C'de sadece KÇB tedavisi uygulanan grup 2A'ya göre ( $p=0,008$ ) istatistiksel olarak anlamlı azalma olduğu görüldü. Diğer gruplar arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ).

## 6. SONUÇLAR

Enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde, antimikrobiyal ilaçların etkinliği kanıtlanmış olmasına rağmen, bu ilaçlara karşı artan mikroorganizma direnci nedeniyle yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Ultraviyole-A ve riboflavin kullanarak, korneanın biyomekanik gücünü arttırmak için geliştirilmiş olan korneal kollajen çapraz bağlama yönteminin, enfeksiyöz keratitlerin tedavisinde kullanımıyla ilgili çalışmalar mevcuttur. Yaptığımız çalışmada, *Pseudomonas Aeruginosa* ve *Metisilin Rezistan Staphylococcus Aureus* keratitlerinde kollajen çapraz bağlama tedavisinin, kollajen çapraz bağlama tedavisi ile kombine topikal antibiyotik tedavisinin ve topikal antibiyotik tedavisinin her üçünün de enfeksiyonun yoğunluğunu ve şiddetini azaltmakta etkili olduğunu gördük. Her üç uygulamada da tedavi öncesine göre keratit odağında küçülme, korneal ödemde gerileme, korneal sürüntü örneklerinden elde edilen üremede azalma olduğu izlendi. Bu çalışma, dirençli bakteriyel keratitlerin tedavisinde topikal antibiyotiklerle birlikte uygulanan kollajen çapraz bağlama tedavisinin enfeksiyonların kontrolünde daha etkili olabileceğini göstermiştir. Bu bulguların daha geniş seriler ve insanda uygulamalarla desteklenmesi gerektiği kanısındayız.

## 7. KAYNAKLAR

1. Galperin G, Berra M, Tau J, Boscaro G, Zarate J, Berra A. Treatment of fungal keratitis from *Fusarium* infection by corneal cross-linking. *Cornea* 31: 176-180, 2012.
2. Tsugita A, Okada Y, Uehara K. Photosensitized inactivation of ribonucleic acids in the presence of riboflavin. *Biochim Biophys Acta* 103: 360–363, 1965.
3. Makdoui K, Mortensen J, Crafoord S. Infectious keratitis treated with corneal crosslinking. *Cornea* 29: 1353-1358, 2010.
4. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 135: 620–627, 2003.
5. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 17: 356–360, 2006.
6. Rau H. A transportable apparatus for UV irradiation in final disinfection of patient rooms. *Dtsch Gesundheitsw* 15: 148–151, 1960.
7. Asano H, Lee CY, Fox-Talbot K, Koh CM, Erdinc MM, Marschner S, Keil S, Goodrich RP, Baldwin WM. Treatment with riboflavin and ultraviolet light prevents alloimmunization to platelet transfusions and cardiac transplants. *Transplantation* 84: 1174–1182, 2007.
8. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res* 29: 35–40, 2004.
9. Bengisu Ü. Kornea Anatomisi ve Fiziyojisi. 4. Baskı, Ankara Palme yayıncılık, 69-72, 1998.
10. Tipathi RC, Chalam KV, Cibis GW, Kardon PH, Tipathi BJ, Weleber RG, Wand M. Embryology. *Fundamentals and principles of ophtalmology* (Cibis GW ed). Revised edition. USA, American Academy of ophtalmology. Vol. 2, 150-154, 1999.
11. Mishima S. Some physiologic aspects of the precorneal tear film. *Arch Ophthalmol* 73: 233-241, 1965.
12. Özdemir Ö. Kornea transplantasyonu. *Medikal Network Oftalmoloji Dergisi* 2(1): 6-9, 1995.
13. Nishida T. Cornea. *Cornea* (Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ (eds.). Second edition. Philadelphia, Elsevier Inc. Vol. 1, 3-22, 2005.
14. Hwang DG. The intrastromal corneal ring segment: Current status and review of US Phase II clinical results. *Ophthalmol Clinic* 10: 591–597, 1997.
15. Rapuano CJ, Fishbaugh JA, Strike DJ. Nine point corneal thickness measurements and keratometry readings in normal corneas using ultrasound pachymetry. *Insight* 18: 16-22, 1993.



16. Eysteinnsson T, Jonasson F, Sasaki H, Arnarsson A, Sverrisson T, Sasaki K, Stefánsson E. Central corneal thickness, radius of the corneal curvature and intraocular pressure in normal subjects using non-contact techniques: Reykjavik Eye Study. *Acta Ophthalmol Scand* 80: 11-15, 2002.
17. Farjo A, McDermott M, Soong H. Corneal anatomy, physiology, and wound healing. *Yanoff Duker Ophthalmology* (Wigss J, Duker JS eds). Third edition. St. Louis, Elsevier Inc. 203, 2009.
18. Kathryn AH. Anatomy. Fundamentals and principles of ophthalmology (Cibis GW ed). Revised edition. USA, American Academy of ophtalmology. Vol. 2, 45-46, 2007.
19. Waltman RS, Hart WM. Phisiology of the eye. The Cornea (Moses RA) ed. Mosby Edition. St. Louis, Vol. 5, 5: 36-59, 1987.
20. Edelhauser HF. The resiliency of the corneal endothelium to refractive and intraocular surgery. *Cornea* 19: 263-73, 2000.
21. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF. Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 4: 759-766, 1985.
22. Waring GO, Laibson PR, Rodrigues M. Clinical and pathologic alterations of Descemet's membrane. *Surv Ophthalmol* 18: 325, 1974.
23. Nishida T. Cornea and external disease: clinical diagnosis and management. *Cornea* (Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds). Mosby edition. St. Louis, Elsevier Inc. Vol. 1, 3-27, 1997.
24. Farjo A, McDermott M, Soong H. Corneal anatomy, physiology, and wound healing. *Yanoff Duker Ophthalmology* (Wigss J, Duker JS eds). Third edition. St. Louis, Elsevier Inc. 204-206, 2009.
25. Klyce SD. Distribution of sympathetic nerves in rabbit cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27: 354, 1986.
26. Thorft RA, Friend J. Corneal glucose flux. *Arch Ophthalmol* 86: 685, 1971.
27. O'Brien TP. Management of bacterial keratitis: Beyond exorcism towards consideration of organism and host factors. *Eye* 17(8): 957-974, 2003.
28. Witcher JP. Corneal ulceration. *Int Ophthalmol Clin* 30(1): 30-32, 1990.
29. McLeod S. Bacterial keratitis. *Yanoff M Duker JS Ophthalmology* (Wigss J, Duker JS ed). Third edition. St. Louis, Elsevier Inc. 262-269, 2009.
30. Thomas PA, Geraldine P. Infectious keratitis. *Curr Opin Infect Dis* 20(2): 129-141, 2007.
31. Parmar P, Salman A, Kalavathy CM, et al. Microbial keratitis at extremes of age. *Cornea* 25(2): 153-158, 2006.

32. McLeod SD, Flowers CW, Lopez PF, Marx J, McDonnell PJ. Endophthalmitis and orbital cellulitis after radial keratotomy. *Ophthalmology* 102(12):1902-1907, 1995.
33. Pepose JS, Wilhelmus KR. Divergent approaches to the management of corneal ulcers. *Am J Ophthalmol* 114(5): 630-632, 1992.
34. MacRae S, Herman C, Stulting RD, Lippman R, Whipple D, Cohen E, Egan D, Wilkinson CP, Scott C, Smith R. Corneal ulcer and adverse reaction rates in premarket contact lens studies. *Am J Ophthalmol* 111(4): 457-465, 1991.
35. Poggio EC, Glynn RJ, Schein OD, Seddon JM, Shannon MJ, Scardino VA, Kenyon KR. The incidence of ulcerative keratitis among users of daily-wear and extended-wear soft contact lenses. *N Engl J Med* 321(12): 779-783, 1989.
36. Jones DB. A Plan for antimicrobial therapy in bacterial keratitis. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 79: 95, 1975.
37. Jones DB. Initial therapy of suspected microbial corneal ulcers II. Specific antibiotic therapy based on corneal smears. *Surv Ophthalmol* 24: 97, 1979.
38. Alexandrakis G, Haimovici R, Miller D, Alfonso EC. Corneal biopsy in the management of progressive microbial keratitis. *Am J Ophthalmol* 129(5): 571-576, 2000.
39. Lesar TS, Fiscella RG. Antimicrobial drug delivery to the eye. *Drug Intell Clin Pharm* 19(9): 642-654, 1985.
40. Barza M. Antibacterial agents in the treatment of ocular infections. *Infect Dis Clin North Am* 3(3): 533-551, 1989.
41. Glasser DB, Gardner S, Ellis JG, Pettit TH. Loading doses and extended dosing intervals in topical gentamicin therapy. *Am J Ophthalmol* 99(3): 329-332, 1985.
42. Cunha-Vaz J. The blood-ocular barriers. *Surv Ophthalmol* 23(5): 279-296, 1979.
43. Burns RP, Rhodes DH. Pseudomonas eye infection as a cause of death in premature infants. *Arch Ophthalmol* 65: 517-525, 1961.
44. Gelender H, Rettich C. Gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* corneal ulcers. *Cornea* 3(1): 21-26, 1984.
45. O'Brien TP, Maguire MG, Fink NE, Alfonso E, McDonnell P. Efficacy of ofloxacin vs cefazolin and tobramycin in the therapy for bacterial keratitis. Report from the Bacterial Keratitis Study Research Group. *Arch Ophthalmol* 113(10): 1257-1265, 1995.
46. Hyndiuk RA, Eiferman RA, Caldwell DR, Rosenwasser GO, Santos CI, Katz HR, Badrinath SS, Reddy MK, Adenis JP, Klauss V. Comparison of ciprofloxacin ophthalmic solution 0.3% to fortified tobramycin-cefazolin in treating bacterial corneal ulcers. Ciprofloxacin Bacterial Keratitis Study Group. *Ophthalmology* 103(11): 1854-1862, 1996.

47. Hafezi F, Kanellopoulos J, Wiltfang R, Seiler T. Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 33: 2035–2040, 2007.
48. Spadea L. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation in pellucid marginal degeneration. *J Refract Surg* 26: 375–377, 2010.
49. Sherwin T, Brookes NH. Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis. *Clin Experiment Ophthalmol* 32: 211–217, 2004.
50. Siganos CS, Kymionis GD, Kartakis N, Theodorakis MA, Astyrakakis N, Pallikaris IG. Management of keratoconus with Intacs. *Am J Ophthalmol* 135: 64–70, 2003.
51. Frost NA, Wu J, Lai TF, Coster DJ. A review of randomized controlled trials of penetrating keratoplasty techniques. *Ophthalmology* 113: 942–949, 2006.
52. Ku JY, Niederer RL, Patel DV, Sherwin T, McGhee CN. Laser scanning in vivo confocal analysis of keratocyte density in keratoconus. *Ophthalmology* 115(5): 845-850, 2008.
53. Rabinowitz YS. Keratoconus. *Surv Ophthalmol* 42(4): 297-319, 1998.
54. Dahl BJ, Spotts E, Truong JQ. Corneal collagen cross-linking: An introduction and literature review. *Optometry* 83(1): 33-42, 2012.
55. Kling S, Ginis H, Marcos S. Corneal Biomechanical Properties from Two-Dimensional Corneal Flap Extensimetry: Application to UV-Riboflavin Cross-Linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53(8): 5010-5015, 2012.
56. Coskunseven E, Jankov MR, Hafezi F. Contralateral eye study of corneal collagen cross-linking with riboflavin and UVA irradiation in patients with keratoconus. *J Refract Surg* 25(4): 371-376, 2009.
57. Bottós KM, Schor P, Dreyfuss JL, Nader HB, Chamon W. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption. *Arq Bras Oftalmol* 74(5): 348-351, 2011.
58. Ghanem VC, Ghanem RC, de Oliveira R. Postoperative Pain After Corneal Collagen Cross-Linking. *Cornea* 32(1): 20-24, 2013.
59. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: Bilateral study. *J Cataract Refract Surg* 38(2): 283-291, 2012.
60. Zhang ZY, Zhang XR. Efficacy and safety of transepithelial corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 38(17): 1304-1305, 2012.
61. Lanchares E, del Buey MA, Cristóbal JA, Lavilla L, Calvo B. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 249(8): 1223-1227, 2011.
62. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi C, Caporossi T. Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced crosslinking of corneal

- collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 32: 837–845, 2006.
63. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T. Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol* 149: 585–593, 2010.
  64. Agrawal VB. Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet–a light for keratoconus: results in Indian eyes. *Indian J Ophthalmol*. 57: 111–114, 2009.
  65. Asri D, Touboul D, Fournie P, Malet F, Garra C, Gallois A, Malecaze F, Colin J. Corneal collagen crosslinking in progressive keratoconus: multicenter results from the French National Reference Center for Keratoconus. *J CataractRefract Surg* 37: 2137–2143, 2011.
  66. Arbelaez MC, Sekito MB, Vidal C, Choudhury SR. Collagen cross-linking with riboflavin andultraviolet-A light in keratoconus: one-year results. *Oman J Ophthalmol* 1: 33–38, 2009.
  67. Saffarian L, Khakshoor H, Zarei-Ghanavati M, Esmaily H. Corneal cross-linking for keratoconus in Iranian patients: outcomes at 1 year following treatment. *Middle East Afr J Ophthalmol* 17: 365–368, 2010.
  68. Vinciguerra P, Albe` E, Trazza S, Rosetta P, Vinciguerra R, Seiler T, Epstein D. Refractive, topographic, tomographic, and aberrometric analysis of keratoconic eyes undergoing corneal cross-linking. *Ophthalmology* 116: 369–378, 2009.
  69. Kymionis GD, Grentzelos MA, Kounis GA, Portaliou DM, Detorakis ET, Magarakis M, Karampatakis VE, Pallikaris IG. Intraocular pressure measurements after corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet A in eyes with keratoconus. *J Cataract Refract Surg* 36: 1724–1727, 2010.
  70. Gkika MG, Labiris G, Kozobolis VP. Tonometry in keratoconic eyes before and after riboflavin/UVA corneal collagen crosslinking using three different tonometers. *Eur J Ophthalmol* 22: 142–152, 2012.
  71. Goldich Y, Marcovich AL, Barkana Y, Mandel Y, Hirsh A, Morad Y, Avni I, Zadok D.. Clinical and corneal biomechanical changes after collagen cross-linking with riboflavin and UV irradiation in patients with progressive keratoconus: results after 2 years of follow-up. *Cornea* 31: 609–614, 2012.
  72. Grewal DS, Brar GS, Jain R, Sood V, Singla M, Grewal SP. Corneal collagen cross-linking using riboflavin and ultraviolet-A light for keratoconus: one year analysis using Scheimpflug imaging. *J Cataract Refract Surg* 35: 425–432, 2009.
  73. Romano MR, Quaranta G, Bregu M, Albe E, Vinciguerra PS. No retinal morphology changes after use of riboflavin and long-wavelength ultraviolet light for treatment of keratoconus. *Act Ophthalmol Scand* 90: e79–80, 2012.
  74. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA induced cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg* 25(9): 824-828, 2009.

75. Vinciguerra P, Albè E, Romano MR, Sabato L, Trazza S. Stromal opacity after cross-linking. *J Refract Surg* 28(3): 165, 2012.
76. Camesasca FI, Vinciguerra P, Seiler T. Bilateral ring-shaped intrastromal opacities after corneal cross-linking for keratoconus. *J Refract Surg* 27(12): 913-915, 2011.
77. Yuksel N, Bilgihan K, Hondur AM. Herpetic keratitis after corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A for progressive keratoconus. *Int Ophthalmol* 31(6): 513-515, 2011.
78. Labiris G, Kaloghianni E, Koukoula S, Zissimopoulos A, Kozobolis VP. Corneal melting after collagen cross-linking for keratoconus: a case report. *J Med Case Reports* 16;5: 152, 2011.
79. Vimalin J, Gupta N, Jambulingam M, Padmanabhan P, Madhavan HN. The Effect of Riboflavin-UV-A Treatment on Corneal Limbal Epithelial Cells-A Study on Human Cadaver Eyes. *Cornea* 31(9): 1052-1059, 2012.
80. Russell AD. Radiation sterilization. Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization (Russell AG, Hugo WB, Ayliffe GAJ, eds). Third edition. Oxford, UK: Blackwell Science. 675–702, 1999.
81. Shechmeister IL. Sterilization by ultraviolet irradiation. Disinfection, Sterilization and Preservation (Block SS, ed). Forth edition. Philadelphia, Pennsylvania: Lea Febiger. 553–565, 1991.
82. Tayapad JB, Viguilla AQ, Reyes JM. Collagen cross-linking and corneal infections. *Curr Opin Ophthalmol* 24(4): 288-290, 2013.
83. Moren H, Malmso M, Mortensen J, Ohrstrom A. Riboflavin and ultraviolet a collagen crosslinking of the cornea for the treatment of keratitis. *Cornea* 29: 102–104, 2010.
84. Martins SA, Combs JC, Noguera G, Camacho W, Wittmann P, Walther R, Cano M, Dick J, Behrens A. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 49: 3402–3408, 2008.
85. Micelli Ferrari T, Leozappa M, Lorusso M, Epifani E, Micelli Ferrari L. Escherichia coli keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking: a case report. *Eur J Ophthalmol* 19: 295–297, 2009.
86. Iseli HP, Thiel AM, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea* 27:590–594, 2008.
87. Kymionis GD, Portaliou DM. Corneal collagen crosslinking and herpetic keratitis. *J Cataract Refract Surg* 39:1281, 2013.
88. Ferrari G, Iuliano L, Vigano` M, Rama P. Impending corneal perforation after collagen cross-linking for herpetic keratitis. *J Cataract Refract Surg* 39: 638–641, 2013.

89. Gardun˜o-Vieyra L, Gonzalez-Sanchez CR, Hernandez-Da Mota SE. Ultraviolet- A light and riboflavin therapy for acanthamoeba keratitis: a case report. *Case Rep Ophthalmol* 2: 291–295, 2011.
90. Khan YA, Kashiwabuchi RT, Martins SA, Castro-Combs JM, Kalyani S, Stanley P, Flikier D, Behrens A. Riboflavin and ultraviolet light A therapy as an adjuvant treatment for medically refractive acanthamoeba keratitis: report of 3 cases. *Ophthalmology* 118: 324–331, 2010.
91. Makdoui K, Mortensen J, Sorkhabi O, Malmvall BE, Crafoord S. UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study. *Graefes Arc Clin Exp Ophthalmol* 250: 95–102, 2012.
92. Kozobolis V, Labiris G, Gkika M, Sideroudi H. Additional applications of corneal cross linking. *Open Ophthalmol J* 5: 17–18, 2011.
93. Kozobolis V, Labiris G, Gkika M, Sideroudi H, Kaloghianni E, Papadopoulou D, Toufexis G. UVA collagen cross linking treatment of bullous keratopathy combined with corneal ulcer. *Cornea* 29: 235–238, 2010.
94. Ehlers N, Hjortdal J, Nielsen K, Sondergaard A. Riboflavin-UVA treatment in the management of edema and nonhealing ulcers of the cornea. *J Refract Surg* 25: 803–806, 2009.
95. Price MO, Tenkman LR, Schrier A, Fairchild KM, Trokel SL, Price FW Jr. Photoactivated riboflavin treatment of infectious keratitis using collagen cross-linking technology. *J Refract Surg* 28: 706–713, 2012.
96. O'Brien TP. Bacterial keratitis. *Cornea* (Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds.). Mosby edition. Philadelphia, 1139-1189, 1997.
97. Clinch TE, Hobden JA, Hill JM, O'Callaghan RJ, Engel LS, Kaufmann HE. Collagen shields containing tobramycin for sustained therapy (24 hours) of experimental *Pseudomonas* keratitis. *CLAO J* 18(4): 245-7, 1992.
98. Fiscella RG. Vancomycin use in ophthalmology. *Arch Ophthalmol* 113(11): 1353-1354, 1995.
99. Eguchi H, Shiota H, Oguro S, Kasama T. The inhibitory effect of vancomycin ointment on the manifestation of MRSA keratitis in rabbits. *J Infect Chemother* 15(5): 279-283, 2009.
100. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 66(1): 97-103, 1998.
101. Spoerl E, Seiler T. Techniques for stiffening the cornea. *J Refract Surg* 15(6): 711-713, 1999.
102. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg* 29(9): 1780-1785, 2003.

103. Ruane PH, Edrich R, Gampp D, Keil SD, Leonard RL, Goodrich RP. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. *Transfusion* 44(6): 877-885, 2004.
104. Goodrich RP, Edrich RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma: an overview of current status and future trends. *Transfus Apher Sci* 35(1): 5-17, 2006.
105. Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. *Transfus Med Hemother* 38(1): 8-18, 2011.
106. Goldstein MH, Kowalski RP, Gordon YJ. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5-year review. *Ophthalmology* 106(7): 1313-1318, 1999.
107. Gelender H, Rettich C. Gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* corneal ulcers. *Cornea* 3: 21-26, 1984.
108. Cameron JA, Antonios SR, Cotter JB, et al. Endophthalmitis from contaminated donor corneas following penetrating keratoplasty. *Arch Ophthalmol* 105: 54-59, 1991.
109. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea* 23: 43-49, 2004.
110. Goodrich RP. The use of riboflavin for inactivation of pathogens in blood products. *Vox Sang* 78: 211-215, 2000.
111. Samar BM, Goodrich RP. Viral inactivation in plasma using riboflavin- based technology. *Transfusion* 41: 88, 2001.
112. Kashiwabuchi RT, Carvalho FR, Khan YA, de Freitas D, Foronda AS, Hirai FE, Campos MS, McDonnell PJ. Assessing efficacy of combined riboflavin and UV-A light (365 nm) treatment of *Acanthamoeba* trophozoites. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52(13): 9333-9338, 2011.
113. Garduño-Vieyra L, Gonzalez-Sanchez CR, Hernandez-Da Mota SE. Ultraviolet-a light and riboflavin therapy for *acanthamoeba* keratitis: a case report. *Case Rep Ophthalmol* (2): 291-295, 2011.
114. Olsen EG, Ringvold A. Human cornea endothelium and ultraviolet radiation. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 60: 54-56, 1982.
115. Pitts DG, Cullen AP, Hacker PD. Ocular effects of ultraviolet radiation from 295-365 nm. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16: 932-939, 1977.
116. Soderberg PG, Michael R, Merriam JC. Maximum acceptable dose of ultraviolet radiation: a safety limit for cataract. *Acta Ophthalmol Scand* 81: 165-169, 2003.
117. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T. Safety of UVA riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea* 26 (4): 385- 389, 2007.

118. Anwar HM, El-Danasoury AM, Hashem AN. Corneal collagen crosslinking in the treatment of infectious keratitis. *Clin Ophthalmol* 5: 1277-1280, 2011.
119. Al-Sabai N, Koppen C, Tassignon MJ. UVA/riboflavin crosslinking as treatment for corneal melting. *Bull Soc Belge Ophtalmol* (315): 13–17, 2010.
120. Micelli Ferrari T, Leozappa M, Lorusso M, Epifani E, Micelli Ferrari L. Escherichia coli keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking: a case report. *Eur J Ophthalmol* 19(2): 295-297, 2009.
121. Zhang ZY. Corneal cross-linking for the treatment of fungal keratitis. *Cornea* 32: 217–218, 2013.
122. Berra M, Galperín G, Boscaro G, Zarate J, Tau J, Chiaradia P, Berra A. Treatment of Acanthamoeba keratitis by corneal cross-linking. *Cornea* 32(2): 174-8, 2013
123. Alio JL, Abbouda A, Valle DD, Del Castillo JM, Fernandez JA. Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 3(1): 47, 2013.