



**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PSEUDOMONAS KERATİTİNDE TOPİKAL
MEROPENEM VE KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA
TEDAVİLERİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Sebahat Bengül TOPUZ

UZMANLIK TEZİ

SİVAS

2023

**T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL PSEUDOMONAS KERATİTİNDE TOPİKAL
MEROPENEM VE KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA
TEDAVİLERİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Sebahat Bengül TOPUZ

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN

SİVAS

2023

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu’nun 10/02/2010 tarih ve 2010/1-2 sayılı kararı ile kabul edilen “Tıpta Uzmanlık Tez Yazım Yönergesi’ne” göre hazırlanmıştır.

Bu tez T-2022-952 proje numarası ile Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.

ONAY SAYFASI

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN

Prof. Dr. Ayşe VURAL ÖZEÇ

Doç. Dr. Duygu YALINBAŞ YETER

Dr.Sebahat Bengül TOPUZ'un **15.02.2023** tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

..../..../2023

Prof. Dr. Ahmet ALİM

Tıp Fakültesi Dekanı

ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim süresince kıymetli tecrübelerinden faydalandığım, bilgisiyle her daim örnek aldığım ve tezimin her aşamasında bana sabırla destek olan danışmanım sayın Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN'a,

Uzmanlık eğitimime her zaman deneyimleri ile yol gösterici olan değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN, Prof. Dr. Ayşe VURAL ÖZEÇ, Doç.Dr. Duygu YALINBAŞ YETER, Dr. Öğr. Üyesi Erman BOZALI ve Dr.Öğr.Üyesi Mustafa Salih KARATEPE'ye,

Tezim ile ilgili istatistik çalışmalarda benden desteğini esirgemeyen sayın Dr. Öğr. Üyesi Ziyet ÇINAR'a,

Desteklerini esirgemeyen Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na,

Asistanlık eğitimim süresince çok değerli anlar ve tecrübeler paylaştığım sevgili hekim arkadaşlarıma,

Eğitimim süresince birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım tüm hemşire, teknisyenve personel ekibine,

Hayatımın her aşamasında,bugünlere ulaşmamda sonsuz emeği olan, her daim sevgi,destek ve deneyimleri ile yanımda olan canım annem ve babama, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili kardeşlerim Bennur ve Mithat'a bütün kalbimle şükran ve minnettarlığımı sunarım.

ÖZET

DENEYSEL PSEUDOMONAS KERATİTİNDE TOPİKAL MEROPENEM VE KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA TEDAVİLERİNİN ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr.Sebahat Bengül TOPUZ

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi
Şubat 2023

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN

Amaç: Tavşan kornealarında deneysel oluşturulmuş *Pseudomonas* keratitinde %0.1 riboflavin kullanılarak yapılan KKÇB ile topikal meropenem tedavisinin etkinliklerinin klinik, mikrobiyolojik ve patolojik incelemelerle karşılaştırılmasıdır.

Gereç ve yöntem: Çalışmaya, etik kurul onayı alındıktan sonra 16 adet Yeni Zelanda tavşanının her iki gözü dâhil edildi. 0.5 McFarland standardında $1-2.10^8$ CFU/mL *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC suşu 0.1 ml miktarda intrastromal enjekte edildi ve keratit oluşumu takip edildi. Çalışmanın 3.gününde tüm kornealarda keratit bulguları izlendi ve rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup 1(Kontrol)'de 4 tavşanın 8 gözü tedavi edilmeden takip edildi. Grup 2 (Meropenem)'de 4 tavşanın 8 gözüne 3.günden başlanarak 10.güne kadar 50 mg/mL dozda hazırlanan topikal Meropenem tedavisi günde 8x1 uygulandı. Grup 3 (Meropenem+KKÇB)'de 4 tavşanın 8 gözüne 3.günde Korneal Kollajen Çapraz Bağlama uygulandı ve 3.günden 10.güne kadar günde 8x1 topikal Meropenem tedavisi yapıldı. Grup 4 (KKÇB)'de 4 tavşanın 8 gözüne 3.günde sadece Korneal Kollajen Çapraz Bağlama tedavisi uygulandı. Deneyin 3.günü ve 10.günü klinik skorlar değerlendirilerek kaydedildi ve tüm kornealardan sürüntü kültürü alınarak koloni sayımı yapıldı. Deneyin 10.günü kornealar eksize edilerek patolojik inceleme yapıldı.

Bulgular: Tedavi öncesi deneyin 3.gününde gruplar arası klinik skorlar arasında anlamlı fark izlenmedi ($p>0.05$). Tedavi sonrası deneyin 10.gününde izlenen bulgulara göre keratit odağı yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı

fark görüldü ($p<0,05$). Grup 3’de keratit odağı <3 mm’den küçük olan en fazla olguya, Grup 4 ’de keratit odağı 3-6 mm arasında olan en fazla olguya, Grup 1 ’de ise keratit odağı >6 mm olan en fazla olguya rastlandı. Tedavi sonrası KOB değerleri karşılaştırıldığında Grup 1 ile Grup 2 , Grup 1 ile Grup 3 , Grup 1 ile Grup 4 ve Grup 3 ile Grup 4 arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Patolojik incelemede inflamasyon yönünden sonuçlar karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). İnflamasyon yönünden yoğun inflamasyona sahip en fazla olgu Grup 1 ’de tespit edilirken, hafif inflamasyona sahip en fazla olgu ise Grup 3 ’de tespit edildi. Patolojik incelemede stromal ödem sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Sonuç: KKÇB ile beraber meropenem tedavisinin sinerjistik etki gösterdiğini, tedavi sürecinin hızlanması ve keratite bağlı komplikasyonların azalması konusunda ümit verici olduğunu, erken dönemde tedavi planında yer almasının uygun olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: Korneal kollajen çapraz bağlama, keratit, Meropenem, kornea

ABSTRACT

COMPARISON OF THE EFFICIENCY OF TOPICAL MEROPENEM AND CORNEAL COLLAGEN CROSS-LINKING TREATMENTS IN EXPERIMENTAL PSEUDOMONAS KERATITIS

Objective: Comparison of the efficacy of CCL using 0.1% riboflavin and topical meropenem treatment in experimentally induced *Pseudomonas* keratitis in rabbit corneas with clinical, microbiological and pathological examinations.

Materials and methods: After obtaining ethics committee approval, both eyes of 16 New Zealand rabbits were included in the study. 0.5 McFarland standard 1–2.108 CFU/mL *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC strain 0.1 ml was injected intrastromal and keratitis formation was followed. On the 3rd day of the study, keratitis findings were observed in all corneas and they were randomly divided into 4 groups. In Group 1 (Control), 8 eyes of 4 rabbits were followed without treatment. In Group 2 (Meropenem), 8 eyes of 4 rabbits were treated with topical Meropenem, prepared at a dose of 50 mg/mL, starting from the 3rd day until the 10th day, 8x1 per day. In Group 3 (Meropenem+CCL), Corneal Collagen Cross-linking was applied to 8 eyes of 4 rabbits on the 3rd day and 8x1 topical Meropenem treatment was applied daily from the 3rd to the 10th day. Only Corneal Collagen Cross-linking treatment was applied to 8 eyes of 4 rabbits in Group 4 (CCL) on the 3rd day. On the 3rd and 10th days of the experiment, clinical scores were evaluated and recorded, and colony count was performed by taking swab cultures from all corneas. On the 10th day of the experiment, the corneas were excised and pathological examination was performed.

Results: There was no significant difference between the clinical scores between the groups on the 3rd day of the pre-treatment experiment ($p>0.05$). According to the findings observed on the 10th day of the experiment after the treatment, there was a statistically significant difference between the groups in terms of keratitis width ($p<0.05$). The highest number of cases with keratitis width <3 mm in Group 3, the highest number of cases with keratitis width between 3-6 mm in Group 4, and the highest number of cases with keratitis width >6 mm in Group 1 were found. When

the COP values were compared after the treatment, the differences between Group 1 and Group 2, Group 1 and Group 3, Group 1 and Group 4, and Group 3 and Group 4 were found to be statistically significant ($p < 0.05$). When the results were compared in terms of inflammation in the pathological examination, the difference between the groups was found to be statistically significant ($p < 0.05$). In terms of inflammation, the most cases with intense inflammation were detected in Group 1, while the highest number of cases with mild inflammation were detected in Group 3. When the stromal edema results were compared in the pathological examination, the difference between the groups was found to be statistically insignificant ($p > 0.05$).

Conclusion: We think that meropenem treatment together with CCL has a synergistic effect, is promising in accelerating the treatment process and reducing keratitis-related complications, and it is appropriate to include it in the treatment plan in the early period.

Keywords: Corneal collagen cross-linking, keratitis, Meropenem, cornea

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iv
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.KORNEA	2
2.1.1. Kornea Anatomisi.....	2
2.1.2.Kornea Histolojisi.....	2
2.1.2.1. Kornea Epiteli.....	3
2.1.2.2.Bowman Tabakası	4
2.1.2.3. Stroma.....	4
2.1.2.4. Dua Tabakası	5
2.1.2.5. Descemet Membranı.....	5
2.1.2.6. Endotel Tabakası	5
2.2. BAKTERİYEL KERATİTLER.....	6
2.2.1. Savunma Mekanizmaları	6
2.2.2.Risk Faktörleri	6
2.2.3.Patogenez.....	7
2.2.4.Klinik Özellikler	7
2.2.5.Tanı.....	8
2.2.6. Tedavi	9
2.3. KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA VE BAKTERİYEL KERATİTDEKİ YERİ.....	11

3. MATERYAL VE METOD	13
3.1. Deney Hayvanları.....	13
3.2. Tavşan Kornealarında Keratit Modelinin Oluşturulması ve Deney Planı	13
3.3.Topikal Meropenem Hazırlanması.....	15
3.4.Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulaması	15
3.5.Klinik Değerlendirme.....	16
3.6.Mikrobiyolojik Değerlendirme	17
3.7.Patolojik Değerlendirme	18
3.8.İstatistik Analiz	19
4.BULGULAR.....	20
4.1. Klinik Bulgular.....	20
4.2.Mikrobiyolojik Bulgular	27
4.3.Patolojik Bulgular	29
5.TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇLAR.....	38
KAYNAKLAR	39

KISALTMALAR

KKÇB	:Korneal Kollajen Çapraz Bağlama
UVA	:Ultraviyole-A
MMP-9	:Matriks Metalloproteinaz-9
PK	:Penetran Keratoplasti
KOB	:Koloni Oluşturan Birim
PMNL	:Polimorfonükleer lökosit
CXL	:CornealCross-Linking
PACK-CXL	:Photoactivated chromophore for keratitis corneal crosslinking
AMT	:Amniyotik Membran Transplantasyonu
H&E	: Hemotoksilen eosin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kornea tabakalarının şematik gösterimi	3
Şekil 2: Kornea epiteli kesiti	4
Şekil 3: Pseudomonas aeruginosakeratiti tanısı alan bir olguya ait ön segment fotoğrafı	8
Şekil 4: Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulaması	12
Şekil 5: Pseudomonas süspansiyonunun korneaya intrastromal enjekte edilmesi	14
Şekil 6: 3.Günde oluştuğu izlenen keratit	15
Şekil 7: Tavşan gözüne Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulaması	16
Şekil 8: Kanlı agar besiyerinde üreyen Pseudomonas kolonisi.....	18
Şekil 9: H&E X100, Grup 1(Kontrol)'e ait bir patolojik kesit.....	30
Şekil 10: H&E X100,Grup 3 (Meropenem+KKÇB)'e ait bir patolojik kesit	31

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Gruplar arası 3.gün konjonktival hiperemi skorları	20
Tablo 2: Gruplar arası 3.gün hipopiyon skorları.....	20
Tablo 3: Gruplar arası 3.gün korneal ödem skorları	21
Tablo 4: Gruplar arası 3.gün keratit odağı skorları.....	21
Tablo 5: Gruplar arası 3.gün stromal infiltrasyon skorları	22
Tablo 6: Gruplar arası 10.gün konjonktival hiperemi skorları	22
Tablo 8: Gruplar arası 10.gün keratit odağı skorları.....	23
Tablo 9: Gruplar arası 10.gün stromal infiltrasyon skorları	24
Tablo 10: Grup 1(Kontrol) 3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon,Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları	25
Tablo 11: Grup 2(Meropenem)3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon, Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları	26
Tablo 12: Grup 3 (Meropenem+KKÇB)3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon, Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları.....	26
Tablo 13: Grup 4 (KKÇB) 3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon,Keratit odağı,Stromal infiltrasyon,korneal ödem,KOB sonuçları	27
Tablo 14: Gruplara göre tedavi öncesi KOB sayıları.....	28
Tablo 15: Gruplara göre tedavi sonrası KOB sayıları	28
Tablo 16: Gruplar arası patolojik incelemede inflamasyon sonuçları	29
Tablo 17: Gruplar arası patolojik incelemede stromal ödem sonuçları	30

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Keratitler görme sisteminde ciddi ve kalıcı hasarlara neden olabilen enfeksiyonlardır. Görme düzeyini korumak için gerekli medikal tedavi ya da uygun görülen cerrahi tedavi yapılmayan veya geç kalınan durumlarda körlüğün önemli bir nedenidir. Günümüzde farklı tipte kornea enfeksiyonlarının tedavisine olanak sunan çeşitli antibiyotik grupları mevcuttur. Ancak antibiyotiklere karşı artan bakteri direnci nedeniyle göz sağlığını korumak için yeni tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır (1).

Korneal enfeksiyonların tedavisinde korneal kollajen çapraz bağlama (KKÇB) kullanma fikri, ilk olarak riboflavin ve ultraviyole A (UV-A) ışınlarının diğer bilim dallarında kullanılan antimikrobiyal uygulamalarından yola çıkılarak oluşturulmuştur. 1960 yılında UV ışınlarına maruz kalan riboflavinin bazı RNA virüslerini etkisiz hale getirdiği keşfedilmiştir (2).

KKÇB UV-A ve riboflavin kullanarak, korneanın biyomekanik gücünü arttırmak için geliştirilmiş, böylece keratokonusun ilerlenmesini durdurmak için olanak sağlayan bir tedavidir (3,4). Yöntem, ışığa duyarlaştırıcı olarak riboflavini kullanarak, 365 veya 370 nm UV-A tarafından aktive edildiğinde reaktif oksijen türleri açığa çıkmasını esas alır. Tüm bu fotokimyasal reaksiyonlar, korneal stromada yeni kovalent ve çapraz bağların oluşmasını sağlar (4). Ayrıca UV-A ve riboflavin ile kombine olarak indüklenen KKÇB tekniğinin, mikroorganizmaların enzimatik yıkımına karşı kornea direncini arttırdığı gösterilmiştir (5).

Yaptığımız deneysel çalışmada amacımız topikal meropenem tedavisi ile KKÇB tedavisinin etkinliğini araştırmak, literatüre ve klinik uygulamalara katkı sağlamaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.KORNEA

2.1.1. Kornea Anatomisi

Kornea göz küresinin önünde yer alan saydam ve damarsız bir yapıdır. Sadyam korneanın devamında opak sklera ve yarı saydam konjonktivadan oluşan damarlı yapıda limbus gelir. Erişkinlerde korneanın ortalama horizontal çapı 11-12 mm, vertikal çap ise yaklaşık 9-11 mm boyutlarındadır (6). Santralde yaklaşık 540 mikron olan kornea kalınlığı periferde doğru artar (7).

Kornea gözün kırıcı gücünün büyük kısmını sağlamakta olup yaklaşık 40-45 diyoptri kırma gücüyle optik özelliğe sahiptir.

Kornea, embriyolojik olarak yüzey ektodermi ve nöral krestten gelişir. Öncelikle intrauterin hayatın 8.haftasında yüzey ektoderminden kornea epiteli, ardından nöral krestten kornea stroması ve endotel meydana gelmektedir (8).

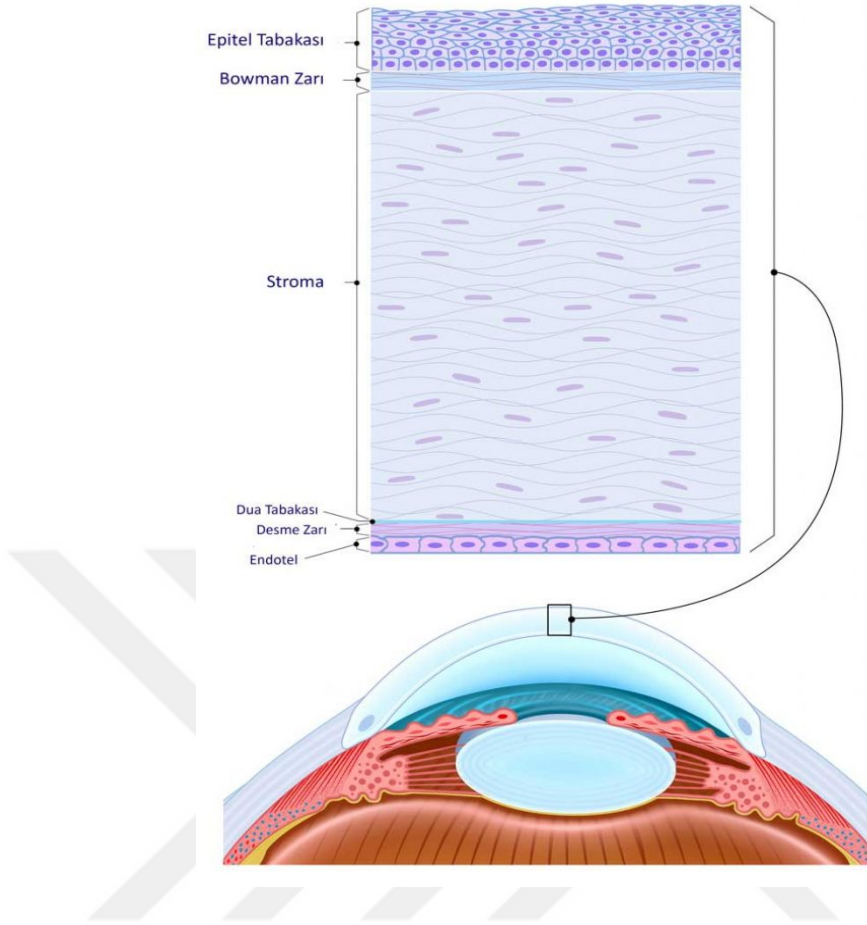
Korneanın ön yüzeyi gözyaşı film tabakası, arka yüzeyi ise aköz ile temas halindedir. Korneanın beslenmesi gözyaşı film tabakasından oksijen difüzyonu ile aközden glikoz difüzyonu gerçekleşmektedir.

Kornea en yaygın sinir sonlanmasına sahip dokulardan biridir ve innervasyonu trigeminal sinirin oftalmik dalı ile uzun siliyer sinirler tarafından sağlanmaktadır. Uzun siliyer sinirler perilimbal bölgeden derin stromal tabakasına radyal olarak ilerler ve öne doğru seyreterek subepitelyal sinir pleksusunu oluşturur.

2.1.2.Kornea Histolojisi

Kornea 6 tabakadan oluşmaktadır (Şekil 1). Bunlar;

1. Epitel
2. Bowman membranı
3. Stroma
4. Dua Tabakası
5. Descemet membranı
6. Endotel olarak sıralanmaktadır.



Şekil 1: Kornea tabakalarının şematik gösterimi

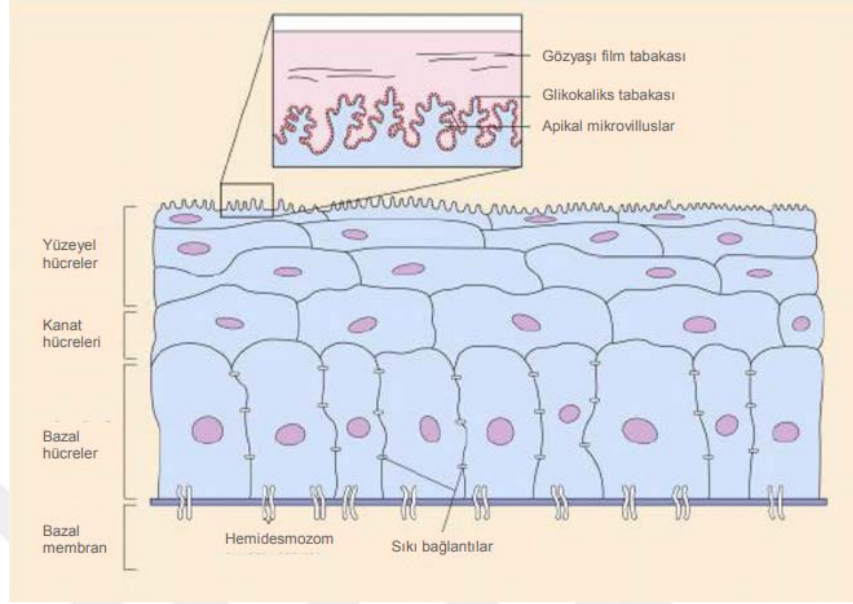
2.1.2.1. Kornea Epiteli

Kornea epiteli dış ortamla bariyer işlevi görür. Nonkeratinize, çok katlı yassı epitel hücrelerinden oluşur. Yaklaşık olarak 40-50 μm kalınlığa sahiptir (9).

Epitelde en altta tek sıra bazal hücreler, üzerinde 2-3 sıra kanat hücreler ve yüzeyde 2-3 sıra yüzey hücreleri yerleşim gösterir (Şekil 2).

Kornea epitelinin en derin tabakasını bazal hücreler oluşturmakta olup bu hücreler tek katlı silindirik yapıdadır ve mitotik aktiviteye sahiptir. Bazal hücrelerin kaynağı limbal kök hücrelerdir. Kanatsız hücreler poligonal yapıdadır ve birbirleriyle sıkı bağlantı yaparlar. Yüzeyel hücreler çokça mikrovillus ve plika içerir, yüzeyi mikrokaliks ile örtülüdür. Bu yapıları ile epitelin gözyaşı filmine yapışmasını sağlarlar.

Limbustaki bazal epitele yerleşmiş olan kök hücreler bazal hücrelerin sürekli çoğalmasını, yüzeye doğru hücrelerin ilerlemesini ve yüzeyel tabaka oluşumunu sağlarlar. Yüzeyel hücreler olgunlaştıkça apoptozise uğrayıp dökülürler.



Şekil 2: Kornea epiteli kesiti

2.1.2.2. Bowman Tabakası

Epitel ve stroma arasında yerleşimlidir; bazal membran işlevi görmektedir. Yaklaşık 8-12 μm kalınlığındadır ve gelişigüzel yerleşen tip I ve tip III kollajen fibrillerden oluşmuştur. Hücre içermemektedir. Rejenerasyon yeteneği yoktur, hasar durumunda skarla iyileşir.

2.1.2.3. Stroma

Kornea kalınlığının %90'ını oluşturan stroma yaklaşık 500 μm olup en kalın tabakadır. Stromanın ana hücreleri keratositler olmakla beraber içeriğinde ekstrasellüler matriks deyer alır. Ekstrasellüler matriks ile keratositler arasında sinyal iletişimi vardır ve olası bir travmada keratosit aktivasyonu değişerek fibrositlere dönüşüm gösterir.

Keratositler ekstrasellüler maktrijs komponentlerinden olan glikozaminoglikan ve prokollajen yapımına aktif olarak katılırlar. Glikozaminoglikanlar; kollajen fibriller arası mesafeleri doldurup anyonik bir ortam oluşturarak katyon ve su bağlamaktadır.

Stromada yer alan ana kollajen Tip I'dir (10). Kollajen fibrillerinin ortalama çapı birbirine yakın olup 22,5-35 nm arasında değişmektedir ve bu fibriller birbirine paralel uzanmaktadır. Fibriller arasındaki mesafe de benzerdir. Fibrillerin dizilişindeki anormallik korneanın saydamlığını etkileyebilmektedir. Enfeksiyon, travma ya da korneal distrofiler stromada skar veya ödeme neden olabilir.

2.1.2.4. Dua Tabakası

Dua tarafından 2013 yılında tanımlanmıştır, predesmetik stroma içerisindedir. Aselülerdir, esas olarak tip 1 kollajenden oluşmaktadır.

2.1.2.5. Descemet Membranı

Kornea endotelinin bazal membranı olarak kabul edilmektedir. Yapısında tip IV kollajen, laminin ve fibronektin vardır. Kalınlığı yaşla birlikte artar. Rejenerasyon yeteneği yoktur. Descemet membranı limbusa uzanarak iridokorneal açıda Schwalbe çizgisini meydana getirir.

2.1.2.6. Endotel Tabakası

Descemet membranın arka yüzeyinde yer alan endotel hücreleri çoğunlukla altıgen şeklinde, yaklaşık 5 µm kalınlıkta 18-20 µm genişliktedir. Bazal yüzeyinde descemet membranına yapışmayı sağlayan çok sayıda hemidesmozom içermektedir.

Genç yetişkinlerde hücre yoğunluğu 3000–4000 hücre/mm² iken yaş ilerledikçe ortalama 2600 hücre/mm² düzeyine kadar düşer; bu süreçte altıgen hücrelerin yüzdesi de %75'ten %60'a kadar düşmektedir. Endotel hücrelerinin sayısının hemen hemen 600 hücre/mm² 'nin altına inmesi korneanın şeffaflığını kaybetmesi ile sonuçlanır.

Endotel hücrelerinin görevi stromadan aköz humöre doğru sürekli aktif su pompalamaktır. Travma, geçirilmiş göz içi cerrahi, enflamasyon gibi nedenler endotel sayısında azalmaya neden olabilir. Endotel hücre sayısının 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.

2.2. BAKTERİYEL KERATİTLER

Bakteriyel keratitler görmeyi tehdit eden oküler enfeksiyonlardır ve gelişmekte olan ülkelerde tek taraflı körlüğün önde gelen sebeplerinden biri olarak kabul edilir. Enfeksiyon sıklıkla akut bir seyir gösterir. Görme kaybının ve korneada skar oluşumunu engellenebilmesi için erken evrede etkin tedavinin başlanması gerekir. Tedavisiz kalan hastalarda ilerleyici doku hasarı ile perforasyon ve enfeksiyonun çevre dokulara yayılımı görülebilir (11,12).

2.2.1. Savunma Mekanizmaları

Kornea yüzeyinin korunması için bazı doğal mekanizmalar vardır. Kapaklar yabancı maddelere karşı fiziksel bir bariyer oluşturur ve her göz kırpmayla gözyaşının müsin tabakasına hapsedilen debris gözden uzaklaştırılır. Kornea ve konjonktiva epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar mikrobiyal invazyona karşı bariyer işlevindedir. Aynı zamanda epitel hücreleri mikroorganizmaları fagosit eder.

Gözyaşının içeriğindeki immunglobulin A, laktoferrin, lizozim gibi immunaktif maddeler; konjonktivada bulunan makrofajlar, mast hücreleri, konjonktivaya özgü lenfoid doku, plazma hücreleri de kornea yüzeyini korumada etkindirler (13).

2.2.2.Risk Faktörleri

Keratitler genelde mevcut immun mekanizmaların bozulmasına yol açan bir risk faktörü varlığında meydana gelir. Göz kapağı patolojilerinden entropion, ektropion, lagofthalmus veya trikiyazis kornea epitelinde bozulmaya yol açar. Büllöz keratopati, geçirilmiş herpes enfeksiyonu,kuru göz, kontakt lens kullanımı mikrobiyal invazyon riskini artırır.

Travma, kornea epitelinde hasar meydana getirerek derin tabakaları keratit oluşumuna açık hale getirir. Katarakt ve refraktif cerrahilerin sıklığındaki artış da postoperatif dönemde korneal enfeksiyon riskini arttırmıştır (14-16).

Alkolizm, diyabet, malnütrisyon gibi immunsupresyon oluşturan durumlar da Moraxella enfeksiyonları için risk faktörüdür (13).

Kontakt lense bağlı olarak gelişen keratitlerde en yaygın izole edilen bakteri Pseudomonas'tır (17). Kontakt lens kullanımı hipoksiye sekonderepitelyal hemostazı bozarak keratit oluşumuna zemin hazırlamaktadır.

2.2.3.Patogenez

Hasarlı kornea epiteli ile bakteriyel adezinler arasında bakteriyel adezyon meydana gelir; bakteriyel hücre yüzey proteinleri ve salınan proteazlar da invazyona aracılık eder (18). İnvazyon hasarlı korneanın kontaminasyonundan ya da kontamine kontakt lensin kullanılmasının ardından saatler içerisinde gerçekleşir. Bakterilerin invazyonu sonucunda kompleman faktörleri, nöropeptitler, immünoglobulinler, eikozanoidler, vazoaktif aminler sitokinler gibi mediatörler salınır (19).

Keratitlerin kornea epitelinin bütünlüğü bozulduğunda olduğu düşünülse de *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Listeria monocytogenes* gibi bakteriler sağlam kornea epiteline penetre olarak da enfeksiyon oluşturabilir.

Hastalığın seyri konakçının immunitesi ve mikrobiyal etkenin virülansına bağlı olarak farklılıklar gösterebilir. *Pseudomonas* veya *S. pneumoniae*, *S. Aureus* gibi virülansı yüksek olan organizmalar daha hızlı doku hasarı yaparken, *Streptococcus viridans*, *Nocardia*, *Moraxella* gibi organizmalara bağlı enfeksiyon genellikle daha yavaş seyreder (20).

2.2.4.Klinik Özellikler

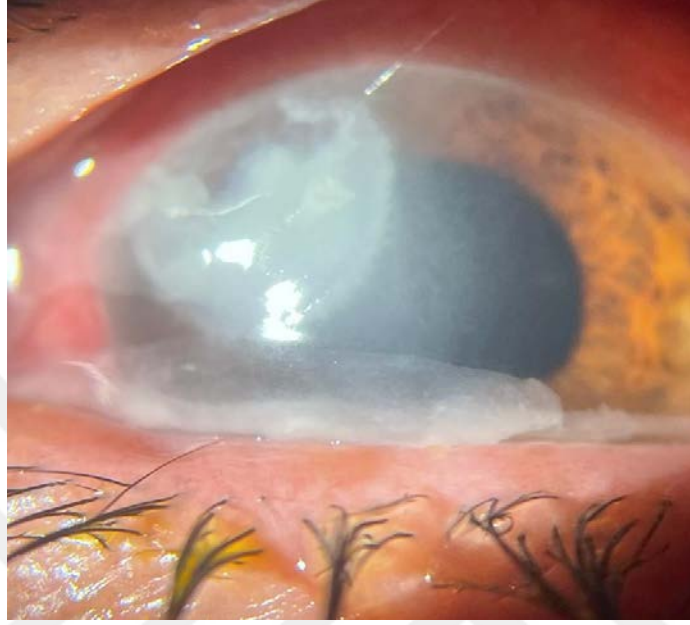
Bakteriyel keratitin semptomları ve klinik bulguları sıklıkla mikroorganizmanın virülansına ve enfeksiyonun süresine bağlı olarak değişir. Olgular görmeye azalma, ağrı, akıntı, batma ve ışık hassasiyeti gibi şikayetler ile başvururlar.

Korneal muayene bulgularından en sık görülen epitelin veya stromanın yaygın veya lokalize infiltrasyonudur. Stromal infiltrasyonun üzerinde genelde epitel defekti vardır. Primer enfeksiyon bölgesinin dışında da kornea ödemi ya da infiltrasyonlar izlenebilir. Göz kapağı ödemi, konjonktival hiperemi, kemozis, ön kamara inflamasyonu ve hipopiyon da muayenede görülebilen bulgulardandır.

Enfeksiyon agresif seyrederse skleral tutulum ve korneal perforasyon olabilir (13). Kornea ülseri, kornea kalınlığının üçte birinden fazlasını içeriyorsa, infiltrasyon boyutu 6 mm'den büyükse, hızlı bir şekilde ilerliyorsa, skleral tutulum varsa veya perforasyon tehdidi varsa şiddetli olarak kabul edilir (21).

Pseudomonas aeruginosa, şiddetli keratitlerde en sık izole edilen gram negatif etkindir. Genellikle yumuşak kontakt lens kullanımıyla ilişkili keratitlerde

saptanmaktadır. Progresif seyir göstermekte olup yoğun stromal infiltrat, belirgin süpürasyon, desmatosel formasyonu ve olası bir korneal perforasyon bu patojenin belirgin özellikleridir. Sıklıkla etkilenmeyen kornea bölgeleri de bulanıktır. Epitel yaygın olarak grimsi görünümde izlenebilir (Şekil 3).



Şekil 3: Pseudomonas aeruginosakeratiti tanısı alan bir olguya ait ön segment fotoğrafı

2.2.5.Tanı

Bakteriyel keratit tanısı öncelikle anamnez ve muayene bulgularına dayanıyor olsa da her zaman semptomların varlığı ve süresi, kontakt lens kullanımı, geçirilmiş travma öyküsü, geçirilmiş oküler cerrahiler, mevcut sistemik hastalıklar sorgulanmalıdır.

Mikrobiyal etkenin kesin tanısı korneal sürüntülerin boyanması ve kültürü ile konulur. Bakteriyel keratit olgularının çoğu ampirik tedavi ile iyileşmektedir (22). Fakat santral korneayı tutan, geniş çaplı ve stromanın derin katlarına kadar yayılmış keratitlerde, geniş spektrumlu antibiyotik tedavisine yanıt kötü ise veya enfeksiyon kronikse, geçirilmiş korneal cerrahi varsa, fungal keratitleri düşündüren klinik özelliklerin varlığında korneal kültür mutlaka endikedir (23).

Kültür için korneal sürüntü spatula veya bistüri yardımıyla alınmalıdır. Proparakain hidroklorür topikal anestezi ajan olarak tercih edilir. Materyal elde etmek için kalsiyum aljinat kültür çubuğu veya steril pamuklu çubuk kullanılabilir. Materyal

lezyonun en aktif kısmından alınmalıdır (24). Eğer korneada incelme varsa perforasyon açısından mutlaka dikkatli edilmelidir.

Alınan kültür sonuçları negatifse ve klinik yanıt iyi değilse, yeniden kültür alınabilir veya korneal biyopsi düşünülebilir. Biyopsinin de sürüntü gibi infiltratın tabanından ve aktif kenarından alınması uygundur.

2.2.6. Tedavi

Bakteriyel keratitlerde korneanın hızlı zarar görme riskinden dolayı, bakteriyel bir etkenden şüphe duyulduğunda patojenin gösterilmesi beklenmeden etkili tedavi başlanmalıdır. Tedavideki amaç şüpheli mikroorganizma ve hastaya ait risk faktörleri ile beraber enfeksiyonu baskılamak, epitel yüzeyin iyileşmesini hızlandırmak, inflamatuvar yanıtı azaltmak, korneada yapısal hasarın önüne geçmek ve ağrıyı azaltmaktır (25).

Bakteriyel keratit tedavisi geniş spektrumlu, etkin ve bakterisid etkili antibiyotik ilaçların sık uygulanması ile yapılır. Ciddi keratitlerde antibiyotik tedavisi sık aralıklarla uygulanmalıdır. Tedavide topikal antibiyotikler ilacın enfeksiyon bölgesine ulaşabilirliği yönüyle en etkin yöntemdir (26,27).

Topikal tedaviyle korneada ve ön kamarada hızlıca yüksek konsantrasyon sağlanır. Kornea epitelinin antibiyotik penetrasyonu için potansiyel bariyer olduğu düşünülebilir; ülseratif keratitlerde epitelin hasarlı olması uygulanan ilacın stromaya ulaşmasını kolaylaştırır. Tedavide hızlı pik kornea konsantrasyonuna ulaşmak için yükleme dozu uygulaması yapmak gerekir. Keratitin şiddetine göre ilk 1 saat boyunca her 5-15 dakikada bir yükleme yapıldıktan sonra her 15-60 dakikada bir topikal antibiyotik uygulanır (28).

Bakteriyel keratite yol açan olası tüm mikroorganizmalara karşı etkin tek bir antibiyotik yoktur. Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri kapsayacak geniş spektrumlu antibiyotikler seçilmeli ve kültür sonuçları beklenmeden ampirik tedaviye başlanmalıdır (26).

Sefalosporinler Gram pozitif koklara karşı etkili bir antibiyotiktir, bir miktar Gram negatif basillere karşı da etkinliği vardır. Sefazolinin 50mg/ml güçlendirilmiş konsantrasyonu topikal ve subkonjonktival uygulanması ile kornea tarafından çok iyi tolere edilebilir.

Glikopeptid yapıdaki vankomisin, bakteriyel hücre duvarı oluşumunda peptidoglikan polimerlerinin biyosentezini inhibe eder ve bakterisidal etkilidir. Gram pozitif bakterilere karşı etkili olup MRSA ve koagülaz negatif stafilokoklara karşı en güçlü antibiyotiklerden biridir (29).

Aminoglikozitler, bakterilerin protein sentezini inhibe ederek Gram negatif basillere karşı bakterisidal etki gösterir. Keratit tedavisinde sık kullanılan aminoglikozitler; tobramisin, amikasin, gentamisinidir. Direnç gelişimi daha az olan tobramisinidir ancak uzun süreli kullanımında kornea toksisitesi görülebilir. Aminoglikozitler şiddetli Pseudomonas keratitinde antipseudomonal sefalosporin ile kombine edilebilirler (30).

Florokinolonlar, bakteriyel DNA sentezi için gerekli olan bakteriyel DNA giraz ve topoizomerez IV enzimlerini inhibe ederek bakterisidal etki gösterirler. Yüksek potansiyelleri ve hazır preparatları olması sebebiyle bakteriyel keratit tedavisinde sık kullanılmaktadırlar. Florokinolonlar hem çoğu Gram pozitif bakterilere hem de Gram negatif aerobik bakterilere karşı bakterisidal etkilerinden dolayı başlangıç tedavisi olarak düşünülebilir (31).

Meropenem karbapenem betalaktam, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Cilt, gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve bakteriyel menenjit tedavisi için onay almıştır (32). Dirençli endoftalmi vakalarında intravitreal kullanımı da bildirilmiştir (33). Pseudomonas keratitinde başarılı tedavi sonuçları bildirilmiştir, 50 mg/ml dozda hazırlanan preparatlar tedavide kullanılabilir (34).

Pürülan sekresyonda azalma, ağrıda azalma, ön kamara reaksiyonunda gerileme kapak ödemi ve konjonktival hiperemide azalma, stromal infiltratın yoğunluğunda azalma, stromal ödemde azalma, re-epitelizasyonun başlaması tedaviye iyi yanıt alındığını gösteren klinik bulgulardır.

Bakteriyel keratit tedavisinde topikal kortikosteroidlerin yeri tartışmalıdır. Kortikosteroidler, korneal skar oluşumunu ve inflamasyonu baskılamada fayda sağlar ancak enfeksiyonun tekrarlaması, lokal immünosupresyon ile bakteriyel artış, kollajen sentezinin inhibisyonu ile yara iyileşmesinde gecikme, artmış göz içi basıncı ise dezavantajları olarak düşünülebilir (35).

Siliyer spazmı azaltmak amacıyla sikloplejik ajanlar verilebilir. Hem ağrıyı azaltırlar hem de posterior sineşi oluşumunu engellerler.

2.3. KORNEAL KOLLAJEN ÇAPRAZ BAĞLAMA VE BAKTERİYEL KERATİTDEKİ YERİ

Korneal Kollajen Çapraz Bağlama (KKÇB), kollajen fibriller arasındaki kimyasal bağların güçlendirilmesi ve korneanın stabilize edilmesi prensibi ile uygulanır. Vitamin B2 olarak bilinen riboflavin UV-A ışınları ile birlikte kullanılarak, kornea stromasındaki kollajen fibriller arasındaki çapraz bağların oluşumunu kolaylaştırırken, keratokonus veya LASİK sonrası ektazilerin ilerlemesini durdurmak için korneal sertleşme etkisi sağlar (36,37).

UV-A ışınlarına maruz kalan riboflavinin fotomediatör özelliği ile tekli oksijen ve süperoksit anyonları gibi reaktif oksijen türevleri ortaya çıkar. Bunlar komşu kollajen liflerinin aminoasitleri arasında yeni bir kovalent bağ oluşumunu indüklerler. Oluşan polimerizasyon kornea kollajeninin rijiditesini ve keratektaziye karşı direncini artırır. Kollajenler arası çapraz bağlama etkisi tüm kornea derinliği üzerinde homojen değildir. Sertleşme etkisi UV-A emiliminin yüksek olduğu korneanın 200-300 µm ön tabakasında daha yoğundur. Sonuçta kollajen bağlarını güçlendirerek ektatik hastalıklarda korneal dikliğinin azalması ve santral kalınlığın artması sağlanır. 370 nm dalga boyu UV-A riboflavinin maksimum etkileşiminin sağlanması için kullanılır (38-41) (Şekil 4).

Mikrobiyal keratitlerin KÇB ile tedavisi güncel bir konudur. Riboflavin, lipid hücre zarından geçebilir ve nükleik asit zincirlerinin arasına girebilir. UV-A ışınları ile aktive olan riboflavin, okside olan nükleik asitlerdeki reaktif oksijen türlerini ortaya çıkarır. Böylece, patojenlerin DNA ve RNA'sı hasarlanır. Ayrıca UV-A ışınlaması nükleik asitleri yıkıma uğratarak bakterisid ve virüs id etkiler ortaya çıkmasını sağlar (42,43).

Bakteri ve mantarlar gibi patojenler, kollajeni yıkan; korneal erime ve perforasyona yol açabilen enzimler açığa çıkarırlar. KKÇB etken mikroorganizmaları doğrudan elimine etmeye ek olarak işlem ile sağlanan kornea sağlamlığı kornea stromasının proteoliz ve progresif kornea erimesine duyarlılığını azaltır (44).

Yayınlanan alışmalarda, KKB tedavisini takiben klinik düzelme ve kornea reepitelizasyonda hızlanma olduğu gösterilmiştir. İseli ve arkadaşlarının yaptığı beş hastalık olgu serisinde, topikal ve sistemik antibiyotik tedavisi sonrası uygulanan KKB tedavisi sonrasında enfeksiyöz keratit odağında gerileme olduğu bildirilmiştir. Olgularda kornea erimesi durmuş ve keratoplasti gerekmemiştir (45).



şekil 4: Korneal Kollajen apraz Bağlama Uygulaması

3. MATERYAL VE METOD

Çalışmamız Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 18.01.2022 tarihli ve 501 sayılı onayı alındıktan sonra Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ve Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapıldı.

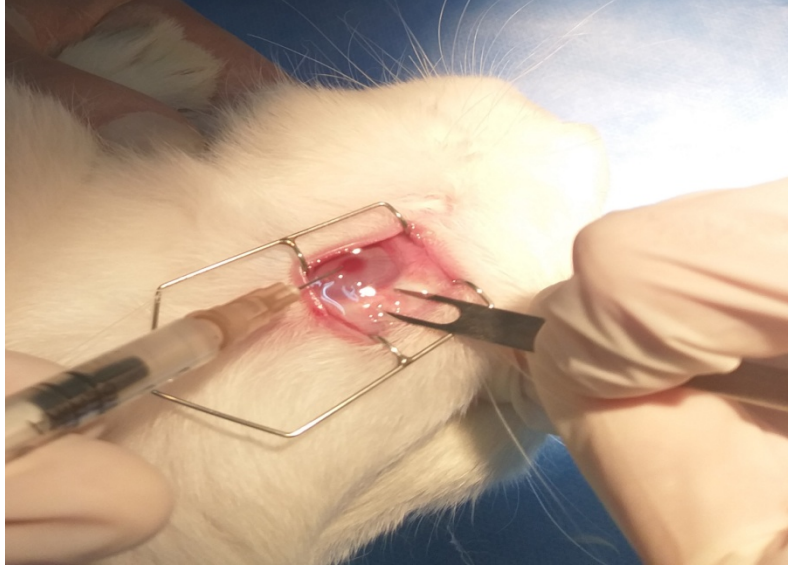
Çalışma T-2022-952 proje numarası ile Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklendi.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada strese maruz kalmamış ve standarda uygun kafeslerde bakılan 16 adet 6-8 aylık yaklaşık 2500-3000 gr ağırlığında Yeni Zelanda Beyaz Tavşan kullanıldı. Tavşanlar $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında 12 saatlik aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı, sesten yalıtılmış odada ve $\%53\pm 5$ bağıl nem oranına sahip ortamda tutuldu. Ayrıca yeterli ve uygun oranlarda beslenmeleri sağlandı.

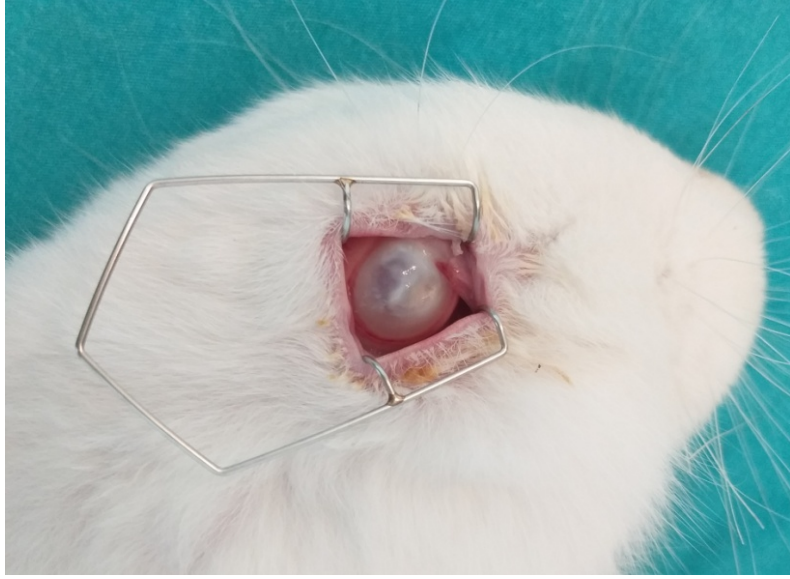
3.2. Tavşan Kornealarında Keratit Modelinin Oluşturulması ve Deney Planı

Çalışmaya 16 tavşanın her iki gözü dahil edildi. İşlemler intramusküler 50 mg/kg Ketamine ve 10-20 mg/kg Xylazine yardımı ile genel anestezi altında yapıldı. Keratit oluşturmak üzere Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı tarafından hazırlanan 0.5 McFarland standardında $1-2.10^8$ CFU/mL *Pseudomonas Aeruginosa* ATCC suşu 0.1 ml miktarda intrastromal enjekte edildi (Şekil 5) ve keratit oluşumu takip edildi (Şekil 6). Çalışmanın 3.gününde tüm kornealarda keratit bulguları izlendi ve rastgele 4 gruba ayrıldı.



Şekil 5: Pseudomonas süspansiyonunun korneaya intrastromal enjekte edilmesi

- 1. Kontrol grubu:** 4 tavşanın 8 gözü tedavi edilmeden takip edildi.
- 2. Meropenem grubu:** 4 tavşanın 8 gözüne 3.günden başlanarak 10.güne kadar 50 mg/mL dozda hazırlanan topikal Meropenem tedavisi günde 8x1 uygulandı.
- 3. Meropenem+KKÇB grubu:** 4 tavşanın 8 gözüne 3.günde Korneal Kollajen Çapraz Bağlama uygulandı ve 3.günden 10.güne kadar günde 8x1 topikal Meropenem tedavisi yapıldı.
- 4. KKÇB grubu:** 4 tavşanın 8 gözüne 3.günden sadece Korneal Kollajen Çapraz Bağlama tedavisi uygulandı.



Şekil 6: 3.Günde oluştuğu izlenen keratit

Deneyin 3.ve 10.gününde tüm gözlerden korneal sürüntü kültürü alınarak Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda değerlendirildi.

Deney prosedürü gereği 10.gün sonunda tüm tavşanlar 200 mg/kg Pentotal Sodyum intraperitoneal yolla ötenazi edildi. Gözler enükle edilerek kornea eksize edildi ve %10 formaldehit içinde tespit edilerek Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi.

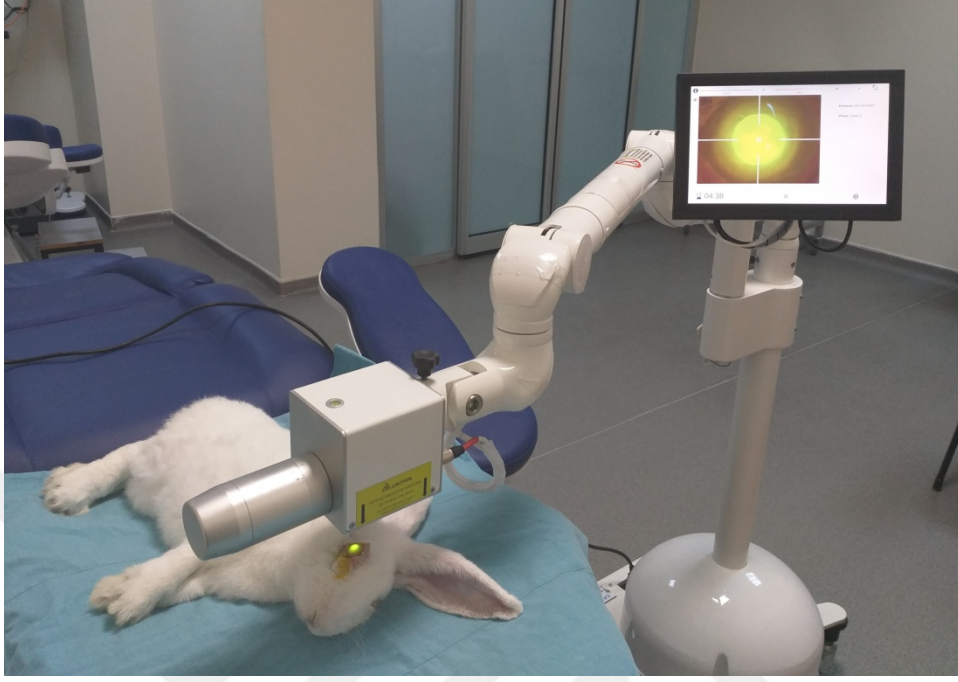
3.3.Topikal Meropenem Hazırlanması

Meropenem (1000 mg, Maxipen, İbrahim Etem, İstanbul, Türkiye) %0.9 NaCl solüsyonu ile dilüe edilerek topikal tedavi için uygun kullanım olan 50 mg/mL konsantrasyon elde edildi. Damlalar tedavi süresince 48 saatte bir yenilendi.

3.4.Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulaması

Bu prosedür 15 dakika boyunca %0.1 konsantrasyonda riboflavin (Merriboisomolar, Meran Medical, İstanbul, Türkiye) 1'er dakika arayla korneaya 1 damla damlatılarak riboflavinin korneaya penetrasyonunun sağlanması ve korneaya 370 nm dalga boyunda ışık diyotları 10 dk boyunca 9mW/cm² UV-A (CF-X LINKER,

İromed Group S.r.l., Roma, İtalya cihazı kullanılarak) uygulanması şeklinde yapıldı (Şekil 7). Işınlama toplam dozu $5,4 \text{ J/cm}^2$ olarak uygulandı.



Şekil 7: Tavşan gözüne Korneal Kollajen Çapraz Bağlama Uygulaması

3.5.Klinik Değerlendirme

Tüm tavşanların tedavi başlanmadan önce deneyin 3.günü ve tedavi sonrası deneyin 10.günü aşağıda konjonktival hiperemi, hipopiyon, keratit odağının büyüklüğü, stromal infiltrasyon ve korneal ödem açısından aynı oftalmolog tarafından değerlendirilerek bulguları kaydedildi.

Konjonktival Hiperemi Derecelendirilmesi

Hafif hiperemi:1

Orta derecede hiperemi:2

Şiddetli hiperemi: 3

Hipopiyon Derecelendirilmesi

<2 mm'den az hipopiyon:1

2-4 mm arasında hipopiyon:2

>4 mm hipopiyon:3

Keratit Odağı büyüklüğünün Derecelendirilmesi

Genişliği 3 mm'den küçük ise:1

Genişliği 3-6 mm ise:2

Genişliği >6 mm ise:3

Stromal İnfiltrasyonun Derecelendirilmesi

Hafif stromal infiltrasyon:1

Yoğun stromal infiltrasyon:2

Korneal perforasyon olması:3

Korneal Ödemin Derecelendirilmesi

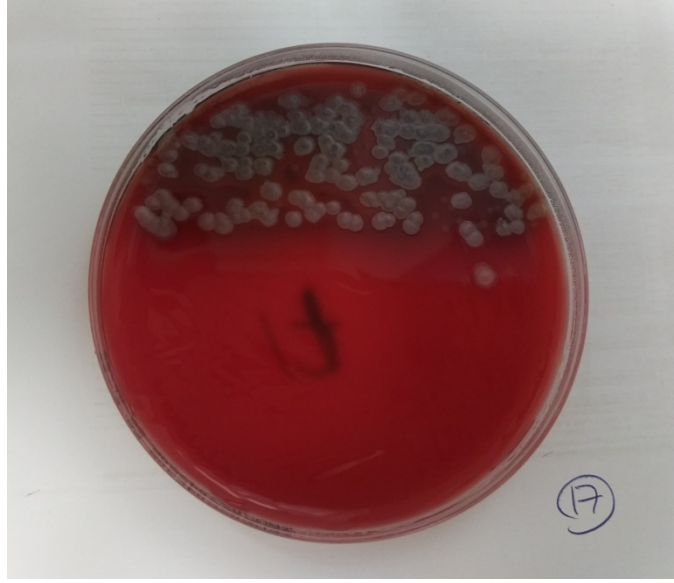
Hafif korneal ödem:1

En az 2 kadranda korneal bulanıklık:2

Yaygın korneal ödem:3

3.6.Mikrobiyolojik Değerlendirme

İnokülasyonun ardından keratit oluşumu klinik olarak gözlenen tavşan kornealarından 3.günde ve 10.günde sürüntü örnekleri alındı. Alınan sürüntü örnekleri kanlı agar besi yerine ekimleri yapıp 48 saatlik inkübasyonun ardından plaklardaki *Pseudomonas aeruginosa* üremesi değerlendirildi, koloni sayımı yapıldı ve KOB (Koloni Oluşturan Birim) sayısı olarak kaydedildi (Şekil 8).



Şekil 8: Kanlı agar besiyerinde üreyen Pseudomonas kolonisi

3.7.Patolojik Değerlendirme

Fiksasyon amacıyla %10'luk formaldehitte 24 saat bekletilen dokular makroskopik olarak örneklendikten sonra doku takip işlemine alındı. Doku Takip Cihazı (Sacura) ile 15 saat süren doku takip işleminde alkol, ksilen ve parafin aşamalarından geçirilerek dehidratasyon, şeffaflandırma ve doku sertleştirme işlemi tamamlandı. Daha sonra doku gömme cihazında (Shandon Histocentre) parafine gömme işlemi yapılarak dokular blok haline getirildi. Bloklar buzdolabında soğutulduktan sonra mikrotom cihazında (Leica) 2.5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Hematoksilen-eozin boyama için hazırlanan preparatlar boyama cihazına (Sacura) alındı. Otomatik boyama cihazı içerisinde Hematoksilen boyasında (Facepath marka) 2,5 dakika, Eozin boyasında (Facepath) 1,5 dakika bekletildi. Boyama işleminin ardından otomatik kapama cihazında (Sacura) film ile kapatılarak mikroskopik inceleme yapıldı.

Örnekler stromal ödem ve inflamasyon yönünden değerlendirildi.

Stromal Ödemin Derecelendirilmesi

Hafif stromal ödem:1

Orta düzeyde stromal ödem:2

Yoğun stromal ödem:3

İnflamasyonun Derecelendirilmesi

Hafif inflamasyon:1

Orta düzeyde inflamasyon:2

Yoğun inflamasyon:3

3.8.İstatistikiAnaliz

Çalışmamızdan elde edilen veriler SPSS (Ver:22.0) programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları yerine getirilemediğinden (Shapiro-Wilk) bağımsız ikiden fazla gruptan elde edilen ölçümler karşılaştırılırken Kruskal-Wallis testi, analiz sonucunda farklılık yapan grup ya da grupları bulmak için Man Whitney U testi, sayımla elde edilmiş verilerin değerlendirilmesinde Khi-kare Exact testlerden Monto-Carlo yöntemi uygulandı. Verilerimiz tablolarda aritmetik ortalama, ortanca, minimum değer, maximum değer şeklinde belirtilerek yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı.

4.BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Tedavi öncesi 3.günde yapılan muayenede grupların konjonktival hiperemi derecesi açısından bulguları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Gruplar arası 3.gün konjonktival hiperemi skorları

		Hafif	Orta	Yoğun	Total	
Grup	1	S	2	4	2	8
		%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%
	2	S	2	4	2	8
		%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%
	3	S	2	4	2	8
		%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%
	4	S	2	4	2	8
		%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%
Total	S	8	16	8	32	
	%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%	

S: Göz sayısı

Tedavi öncesi 3.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre konjonktival hiperemi yönünden gruplar aynı değerlere sahiptir.

Tedavi öncesi 3.günde yapılan muayenede grupların hipopiyon derecesi açısından bulguları Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2: Gruplar arası 3.gün hipopiyon skorları

			<1 mm	1-3 mm	>3 mm	Total
Grup	1	S	1	5	2	8
		%	12,5%	62,5%	25,0%	100,0%
	2	S	1	5	2	8
		%	12,5%	62,5%	25,0%	100,0%
	3	S	1	4	3	8
		%	12,5%	50,0%	37,5%	100,0%
	4	S	2	4	2	8
		%	25,0%	50,0%	25,0%	100,0%
Total	S	5	18	9	32	
	%	15,6%	56,3%	28,1%	100,0%	

X²=1,15

p=0,979

p>0,05 önemsiz S: Göz sayısı

Tedavi öncesi 3.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre hipopiyon yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Tedavi öncesi 3.günde yapılan muayenede grupların korneal ödem açısından bulguları Tablo 3’de verilmiştir.

Tablo 3: Gruplar arası 3.gün korneal ödem skorları

		Hafif	2 kadranda	Total	
Grup	1	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	2	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	3	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	4	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
Total	S	16	16	32	
	%	50,0%	50,0%	100,0%	

S: Göz sayısı

Tedavi öncesi 3.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre korneal ödem yönünden gruplar aynı değerlere sahiptir.

Tedavi öncesi 3.günde yapılan muayenede grupların keratit odağı büyüklüğü açısından bulguları Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4: Gruplar arası 3.gün keratit odağı skorları

		3-6 mm	>6 mm	Total	
Grup	1	S	6	2	8
		%	75,0%	25,0%	100,0%
	2	S	6	2	8
		%	75,0%	25,0%	100,0%
	3	S	6	2	8
		%	75,0%	25,0%	100,0%
	4	S	6	2	8
		%	75,0%	25,0%	100,0%
Total	S	24	8	32	
	%	75,0%	25,0%	100,0%	

S: Göz sayısı

Tedavi öncesi 3.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre keratit odağı büyüklüğü yönünden gruplar aynı değerlere sahiptir.

Tedavi öncesi 3.günde yapılan muayenede grupların stromal infiltrasyon açısından bulguları Tablo 5’de verilmiştir.

Tablo 5: Gruplar arası 3.gün stromal infiltrasyon skorları

			1	2	Total
Grup	1	S	5	3	8
		%	62,5%	37,5%	100,0%
	2	S	5	3	8
		%	62,5%	37,5%	100,0%
	3	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
	4	S	4	4	8
		%	50,0%	50,0%	100,0%
Total	S		18	14	32
	%		56,2%	43,8%	100,0%

$X^2=0,68$ $p=0,972$ $p>0,05$ önemsiz S: Göz sayısı

Tedavi öncesi 3.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre stromal infiltrasyon yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Tedavi sonrası 10.günde yapılan muayenede grupların konjonktival hiperemi açısından bulguları Tablo 6’da verilmiştir.

Tablo 6: Gruplar arası 10.gün konjonktival hiperemi skorları

			Hafif	Orta	Yoğun	Total
Grup	1	S	0	3	5	8
		%	0,0%	37,5%	62,5%	100,0%
	2	S	3	4	1	8
		%	37,5%	50,0%	12,5%	100,0%
	3	S	4	4	0	8
		%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	4	S	3	4	1	8
		%	37,5%	50,0%	12,5%	100,0%
Total	S		10	15	7	32
	%		31,3%	46,9%	21,9%	100,0%

$X^2=10,56$ $p=0,075$ $p>0,05$ önemsiz S: Göz sayısı

Tedavi sonrası 10.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre konjonktival hiperemi yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Tedavi sonrası 10.günde yapılan muayenede grupların hipopiyon açısından bulguları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7: Gruplar arası 10.gün hipopiyon skorları

			<1 mm	1-3 mm	>3mm	Total
Grup	1	S	0	4	4	8
		%	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	2	S	2	6	0	8
		%	25,0%	75,0%	0,0%	100,0%
	3	S	4	4	0	8
		%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	4	S	2	5	1	8
		%	25,0%	62,5%	12,5%	100,0%
Total		S	8	19	5	32
		%	25,0%	59,4%	15,6%	100,0%
X ² =10,30 p=0,056 p>0,05 önemsiz S: göz sayısı						

Tedavi sonrası 10.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre hipopiyon yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Tedavi sonrası 10.günde yapılan muayenede grupların keratit odağı büyüklüğü açısından bulguları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Gruplar arası 10.gün keratit odağı skorları

			<3 mm	3-6 mm	>6 mm	Total
Grup	1	S	0	2	6	8
		%	0,0%	25,0%	75,0%	100,0%
	2	S	1	6	1	8
		%	12,5%	75,0%	12,5%	100,0%
	3	S	3	4	1	8
		%	37,5%	50,0%	12,5%	100,0%
	4	S	0	7	1	8
		%	0,0%	87,5%	12,5%	100,0%
Total		S	4	19	9	32
		%	12,5%	59,4%	28,1%	100,0%
X ² =13,20 p=0,011 p<0,05 önemli S: Göz sayısı						

Tedavi sonrası 10.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre keratit odağı yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür ($p<0,05$). Grup 3 (Meropenem+KKÇB)'de keratit odağı <3 mm'den küçük olan en fazla olguya, Grup 4(KKÇB)'de keratit odağı 3-6 mm arasında olan en fazla olguya, Grup 1(Kontrol)'de ise keratit odağı >6 mm olan en fazla olguya rastlanmıştır.

Tedavi sonrası 10.günde yapılan muayenede grupların stromal infiltrasyon açısından bulguları Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9: Gruplar arası 10.gün stromal infiltrasyon skorları

			1	2	3	Total
Grup	1	S	1	5	2	8
		%	12,5%	62,5%	25,0%	100,0%
	2	S	5	3	0	8
		%	62,5%	37,5%	0,0%	100,0%
	3	S	5	3	0	8
		%	62,5%	37,5%	0,0%	100,0%
	4	S	4	4	0	8
		%	50,0%	50,0%	0,0%	100,0%
	Total	S	15	15	2	32
		%	46,8%	46,9%	6,3%	100,0%

$X^2=7,41$ $p=0,211$ $p>0,05$ önemsiz S: Göz sayısı

Tedavi sonrası 10.gün yapılan muayenede izlenen bulgulara göre stromal infiltrasyon yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.

Grup 1(Kontrol)'e ait 3.gün-10.gün klinik bulgular ve anlamlılık düzeyleri aşağıda Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10: Grup 1(Kontrol) 3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon,Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları

Gün	Bulgular	Mean	Ortanca	Min	Mak	Sonuç
3	Konjonktival hiperemi	2,00	2,00	1,00	3,00	p=0,025*
10	Konjonktival hiperemi	2,63	3,00	2,00	3,00	
3	Hipopiyon	2,13	2,00	1,00	3,00	p=0,083
10	Hipopiyon	2,50	2,50	2,00	3,00	
3	Keratit odağı	2,25	2,00	2,00	3,00	p=0,046*
10	Keratit odağı	2,75	3,00	2,00	3,00	
3	Stromal infiltrasyon	1,38	1,00	1,00	2,00	p=0,034*
10	Stromal infiltrasyon	2,13	2,00	1,00	3,00	
3	Korneal ödem	1,50	1,50	1,00	2,00	p=0,014*
10	Korneal ödem	2,25	2,00	2,00	3,00	
3	KOB	58,875	45,00	19,00	127,00	p=0,123
10	KOB	93,13	90,5	37,00	156,00	

Kontrol grubunda tedavi öncesi ve sonrası konjonktival hiperemi,keratit odağı,stromal infiltrasyon,korneal ödem yönünden ölçümler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0.05$), hipopiyon, KOB yönünden ölçümler istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$) .

Grup 2 (Meropenem)'ye ait 3.gün-10.gün klinik bulgular ve anlamlılık düzeyleri aşağıda Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11: Grup 2(Meropenem)3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon, Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları

Gün	Bulgular	Mean	Ortanca	Min.	Maks.	Sonuç
3.	Konjonktival hiperemi	2,00	2,00	1,00	3,00	p=0,157
10.	Konjonktival hiperemi	1,75	1,50	1,00	3,00	
3.	Hipopiyon	2,13	2,00	1,00	3,00	p=0,083
10.	Hipopiyon	1,75	1,50	1,00	2,00	
3.	Keratit odağı	2,25	2,00	2,00	3,00	p=0,157
10.	Keratit odağı	2,00	2,00	1,00	3,00	
3.	Stromal infiltrasyon	1,38	1,50	1,00	2,00	
10.	Stromal infiltrasyon	1,38	1,00	1,00	2,00	
3.	Korneal ödem	1,50	1,50	1,00	2,00	p=0,317
10.	Korneal ödem	1,38	1,00	1,00	2,00	
3.	KOB	49,625	55,00	21,00	109,00	p=0,035*
10.	KOB	28,63	8,50	7,00	53,00	

Meropenem grubunda tedavi öncesi ve sonrası konjonktival hiperemi,keratit odağı,stromal infiltrasyon,korneal ödem ve hipopiyon yönünden ölçümler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$), KOB yönünden ölçümler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Grup 3 (Meropenem+KKÇB)'e ait 3.gün-10.gün klinik bulgular ve anlamlılık düzeyleri aşağıda Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12: Grup 3 (Meropenem+KKÇB)3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon, Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, Korneal ödem, KOB sonuçları

Gün	Bulgular	Mean	Ortanca	Min.	Maks	Sonuç
3.	Konjonktival hiperemi	2,00	2,00	1,00	3,00	p=0,046*
10.	Konjonktival hiperemi	1,50	1,50	1,00	2,00	
3.	Hipopiyon	2,25	2,00	1,00	3,00	p=0,014*
10.	Hipopiyon	1,50	1,50	1,00	2,00	
3.	Keratit odağı	2,25	2,00	2,00	3,00	p=0,046*
10.	Keratit odağı	1,75	2,00	1,00	3,00	
3.	Stromal infiltrasyon	1,50	1,50	1,00	2,00	p=0,312
10.	Stromal infiltrasyon	1,38	1,00	1,00	2,00	
3.	Korneal ödem	1,50	1,50	1,00	2,00	p=0,157
10.	Korneal ödem	1,25	1,00	1,00	2,00	
3.	KOB	60,500	55,00	22,00	108,00	p=0,012*
10.	KOB	11,00	8,50	0,00	44,00	

Meropenem+KKÇB grubunda tedavi öncesi ve sonrası konjonktival hiperemi, hipopiyon, keratit odağı ve KOB yönünden ölçümler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0.05$), stromal infiltrasyon ve korneal ödem yönünden ölçümlerde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

Grup 4 (KKÇB)'e ait 3.gün-10.gün klinik bulgular ve anlamlılık düzeyleri aşağıda Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13: Grup 4 (KKÇB) 3.gün-10.gün Konjonktival hiperemi, Hipopiyon, Keratit odağı, Stromal infiltrasyon, korneal ödem, KOB sonuçları

Gün	Bulgular	Mean	Ortanca	Min.	Maks	Sonuç
3	Konjonktival hiperemi	2	2	1	3	p=0,157
10	Konjonktival hiperemi	1,75	2	1	3	
3	Hipopiyon	2	2	1	3	p=0,317
10	Hipopiyon	1,88	2	1	3	
3	Keratit odağı	2,25	2	2	3	p=0,317
10	Keratit odağı	2,13	2	2	3	
3	Stromal infiltrasyon	1,50(a)	1,5	1	2	
10	Stromal infiltrasyon	1,50(a)	1,5	1	2	
3	Korneal ödem	1,50(a)	1,5	1	2	
10	Korneal ödem	1,50(a)	1,5	1	2	
3	KOB	55	45,5	21	107	p=0,021*
10	KOB	40	32	23	100	

KKÇB grubunda tedavi öncesi ve sonrası konjonktival hiperemi, keratit odağı ve hipopiyon yönünden ölçümler arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$), KOB yönünden ölçümler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

4.2. Mikrobiyolojik Bulgular

Gruplara göre tedavi öncesi alınan kültürlerde değerlendirilen KOB sayıları aşağıda Tablo 14'de verilmiştir.

Tablo 14: Gruplara göre tedavi öncesi KOB sayıları

Grup	N	Mean	Std. Deviation	Ortanca	Min.	Max	Sonuç
1	8	58,8750	41,18057	45.00	19,00	127,00	KW=1,28 p=0,773
2	8	49,6250	35,70489	37.00	21,00	109,00	
3	8	60,5000	30,77104	55.00	22,00	108,00	
4	8	55,0000	30,89614	45.00	21,00	107,00	

N: Göz sayısı

Gruplara ilişkin tedavi öncesi KOB değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).

Gruplara göre tedavi sonrası alınan kültürlerde değerlendirilen KOB sayıları aşağıda Tablo 15’de verilmiştir.

Tablo 15: Gruplara göre tedavi sonrası KOB sayıları

Grup	N	Mean	Std. Deviation	Ortanca	Min.	Max.	Sonuç
1	8	93,13	47,021	90,50	37	156	KW=18,54 p=0,001
2	8	28,63	16,248	32,50	7	53	
3	8	11,00	14,203	8,50	0	44	
4	8	40,00	25,433	32,00	23	100	

N: Göz sayısı

Gruplara ilişkin tedavi sonrası KOB değerleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).

Gruplara ilişkin tedavi sonrası KOB değerleri ikişerli karşılaştırıldığında Grup 1 (Kontrol) ile Grup 2 (Meropenem), Grup 1 (Kontrol) ile Grup 3 (KKÇB+ Meropenem), Grup 1 (Kontrol) ile Grup 4 (KKÇB) ve Grup 3 (KKÇB+Meropenem) ve Grup 4 (KKÇB) grupları arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$).

4.3. Patolojik Bulgular

Çalışma sonunda patolojik inceleme için alınan korneal örnekler Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda incelendi; inflamasyon ve stromal ödem yönünden değerlendirildi (Tablo 16, Tablo 17).

Tablo 16: Gruplar arası patolojik incelemede inflamasyon sonuçları

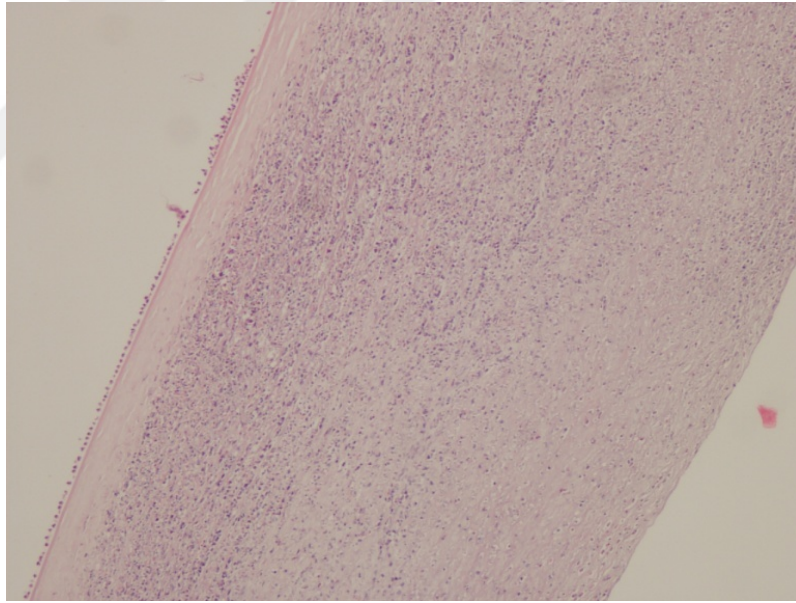
		Hafif	Orta	Yoğun	Total	
Grup	1	S	0	1	7	8
		%	0,0%	12,5%	87,5%	100,0%
	2	S	0	4	4	8
		%	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	3	S	3	4	1	8
		%	37,5%	50,0%	12,5%	100,0%
	4	S	0	1	7	8
		%	0,0%	12,5%	87,5%	100,0%
	Total	S	3	10	19	32
		%	9,4%	31,3%	59,4%	100,0%
X ² =13,96	p=0,008	p<0,05 önemli		S:göz sayısı		

Gruplara ilişkin inflamasyon sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). İnflamasyon yönünden yoğun inflamasyona sahip en fazla olgu Grup 1 (Kontrol)'de tespit edilirken, hafif inflamasyona sahip en fazla olgu ise Grup 3 (KKÇB+Meropenem)'de tespit edilmiştir. Grup 1 (Kontrol)'e ait inflamasyon ve stromal ödemin yoğun olarak izlendiği patoloji kesiti Şekil 9'da verilmiştir. Grup 3 (KKÇB+Meropenem)'e ait stromal ödemin orta düzeyde ve inflamasyonun hafif düzeyde değerlendirildiği patoloji kesiti Şekil 10'da verilmiştir.

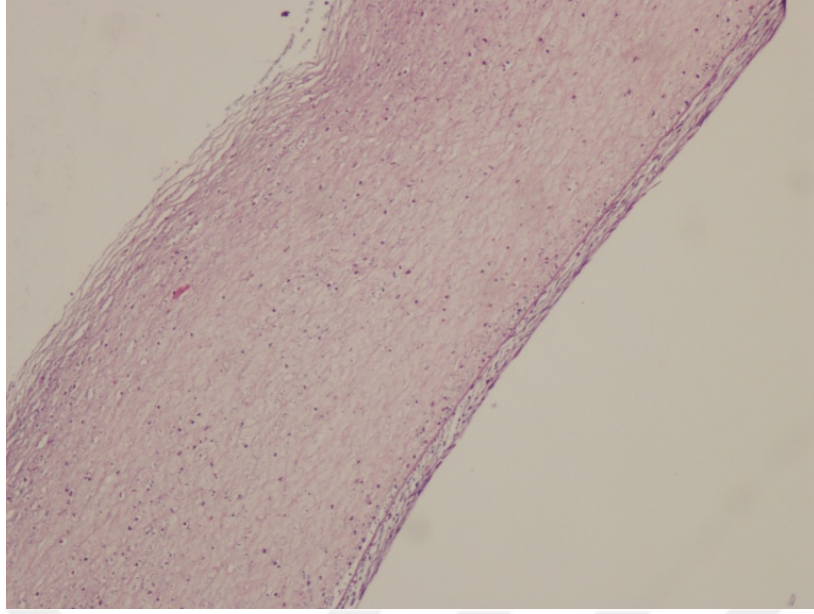
Tablo 17: Gruplar arası patolojik incelemede stromal ödem sonuçları

		Hafif	Orta	Yoğun	Total	
Grup	1	S	0	1	7	8
		%	0,0%	12,5%	87,5%	100,0%
	2	S	0	4	4	8
		%	0,0%	50,0%	50,0%	100,0%
	3	S	1	5	2	8
		%	12,5%	62,5%	25,0%	100,0%
	4	S	0	3	5	8
		%	0,0%	37,5%	62,5%	100,0%
	Total	S	1	13	18	32
		%	3,1%	40,6%	56,3%	100,0%
X ² =8,36	p=0,142	p>0,05 önemsiz	S:göz sayısı			

Gruplara ilişkin stromal ödem sonuçları karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$).



Şekil 9: H&E X100, Grup 1(Kontrol)'e ait bir patolojik kesit



Şekil 10: H&E X100,Grup 3 (Meropenem+KKÇB)'e ait bir patolojik kesit

5. TARTIŞMA

Mikrobiyal keratit dünya çapında en önde gelen oküler morbidite nedenlerinden biridir(46). Bakteriyel keratit korneayı invaze ederek kornea tabakalarının destrüksiyonuna ve nihayetinde körlüğe yol açabilir (47).

Pseudomonas aeruginosa ciddi görme kaybıyla seyreden fulminan keratitin ana nedenlerinden olup, sıklıkla hızlı ve şiddetli bir progresyon göstermesi nedeniyle enfeksiyon süreci korneal erime ve günler içinde korneal perforasyon ile sonuçlanabilir(48). Diğerkeratitlerle kıyaslandığında fulminan keratitlerde tedavi yönetimi daha zordur ve sonuç görme keskinliği düzeyi daha kötüdür (49).

Pseudomonas aeruginosa bakteriyel keratitin önemli oranda nedeni olmakla beraber Amerika Birleşik Devletleri'nde bildirilen vakaların %6-%39, Güney Hindistan'da bildirilen vakaların %8-%21'inden sorumlu olduğu bildirilmiştir (50). Ayrıca kontakt lens ilişkili keratitle ilgili yapılan büyük vaka serilerinde birincil etkenin %49.2-%68.8 oranında *Pseudomonas aeruginosa* olduğu belirtilmiştir (51).

Bakteriyel keratite neden olan potansiyel bütün mikroorganizmalara karşı etkin tek bir antibiyotik yoktur. Tedavi potansiyeli ve hazır ticari preparat olarak bulunmaları nedeniyle florokinolonlar ve aminoglikozidler sıklıkla *Pseudomonas keratiti* de dahil olmak üzere tedavide kullanılmaktadır (52,53). Ancak çalışmalar göstermiştir ki,moksifloksasin ve gatifloksasin gibi 4.kuşak florokinolonlara karşı ciddi bir direnç gelişimi söz konusudur. Bu durum alternatifi yeni topikal antibiyotik gereksinimini olduğunu ortaya koymuştur (54).

Meropenem hidrofilik yapıda, geniş spektrumlu yeni bir betalaktam antibiyotiktir(55). Çalışmalar kornea epitelinin hasarlı olduğu vakalarda hidrofilik ajanların lipofilik ajanlardan daha etkin olduğunu göstermiştir (56). Meropenemin epiteli defektli olgularda kornea penetrasyonu, geniş spektrumlu etkisi ve in vitro *Pseudomonas keratitine* karşı etkinliği,dirençli vakalarda topikal kullanımın olmasıyla iyi bir tedavi alternatifi olduğu düşünülmektedir (57). Bu bilgiler ışığında biz de çalışmamızda topikal tedavide meropenem kullanmayı tercih ettik.

Bozkurt ve ark.(58)2021 yılında yayınladıkları çalışmada tavşanlarda oluşturdukları deneysel *Pseudomonas keratitinde* topikal meropenem, moksifloksasin ve sefepim etkinliğini değerlendirmişlerdir.Klinik skor,mikrobiyolojik yük,stromal PMNL

(Polimorf nükleer lökosit) ve MMP (Matriks metalloproteinaz) -9 immunreaktivitesi yönünden Meropenem ve Moksifloksasinin Sefepime göre daha uygun ve güvenli olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca Meropenemin Moksifloksasine göre keratositlere ve epitel hücrelerine daha az toksik olduğu belirtilmiştir (57).

Riboflavin ve UV-A (370 nm) ile fotokimyasal KKÇB, Spoerl ve Seiler tarafından Dresden Üniversitesi'nde 1997 yılında geliştirilmiştir. 2003 yılında Wollensak ve ark. tarafından korneanın ektatik hastalıklarından özellikle keratokonus progresyonunun durdurulmasında ve korneanın stabilize edilmesinde yeni bir tedavi yöntemi olarak bildirilmiştir (59-61).

KKÇB'de korneaya 370nm UV-A ve fotosensitazör olarak topikal %0.1 riboflavin solüsyonu uygulanması, riboflavin reaktif oksijen ürünlerine dönüştükten sonra kollajen fibrillerindeki aminoasitlerle etkileşime girerek fibriller arasında kovalent bağlardan oluşan köprülenmelere neden olmakta ve bu etki de korneada stabilizasyon sağlamaktadır (33). Tsugita ve ark. riboflavinin UVA'ya maruz kaldığında, RNA içeren bütün mozaik virüsünü inaktive etmek için kullanılabilir olduğunu göstermiştir (62).

Coşar ve ark. (63) tavşanlarda oluşturdukları deneysel Pseudomonas keratitinde uyguladıkları tek başına KKÇB tedavisini, tek başına moksifloksasin damla tedavisini ve moksifloksasin ile kombine KKÇB tedavilerini karşılaştırmışlardır. Yapılan çalışmada korneal kültür sayımlarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında moksifloksasin ve moksifloksasin ile kombine KKÇB tedavisi uygulanan gruplarda anlamlı azalma görülmüşken, tek başına KKÇB uygulanan grupta anlamlı azalma görülmemiştir. Ayrıca aynı çalışmada KKÇB uygulamasının korneal moksifloksasin penetrasyonunu azaltmadığı görülmüştür. Bu çalışmada KKÇB'nin tek başına Pseudomonas keratitinde yeterli olmadığı fakat topikal moksifloksasin tedavisine sinerjistik etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızda kültür sayımlarında KKÇB+Meropenem tedavisi uygulanan grup ile kontrol grubu, sadece Meropenem tedavisi verilen grup ile kontrol grubu, sadece KKÇB tedavisi uygulanan grup ile kontrol grubu ve sadece KKÇB tedavisi uygulanan grup ile KKÇB+Meropenem tedavisi uygulanan grup arasında anlamlı azalma izlenmiştir. Aynı zamanda patolojik incelemede değerlendirilen inflamasyonun

KKÇB+Meropenem tedavisi uygulanan grupta anlamlı azalma göstermesi sinerjistik etkiyi desteklemektedir.

KKÇB hakkında yapılmış ilk randomize kontrollü çalışma Said ve ark. (64) tarafından 2014 yılında yayınlanmıştır. Bu çalışmaya enfeksiyöz keratiti ve beraberinde kornea erimesi olan 40 hasta dâhil edilmiştir. 21 hastaya KKÇB ile birlikte antimikrobiyal tedavi, 19 hastaya antimikrobiyal tedavi uygulanmıştır. Hastalarda keratit etkeni genel olarak Aspergillus ve Staphylococcus türleri olmakla beraber üretilen mikroorganizmalar genellikle bakteriyel ve mantar kökenli olduğu bildirilmiştir. Her iki grupta ortalama iyileşme süreleri benzer olup KKÇB uygulanan grupta %21 oranında daha az komplikasyon geliştiği belirtilmiştir. Sadece medikal tedavi uygulanan grupta 3 hastada korneal perforasyon, 1 hastada nüks enfeksiyon görülmüş, kombine tedavi uygulanmış grupta ciddi komplikasyon izlenmemiştir. Bu çalışmada KKÇB grubunda komplikasyon oranlarını azaltan en önemli etkenin erken dönemde enfeksiyonun topikal tedaviye cevap vermesini beklemeden KKÇBişleminin yapılması olduğu düşünülmüştür. Çünkü yapılmış başka bir randomize kontrollü çalışmada Uddaraju ve ark. (65), 2 haftalık antifungal tedaviye cevap vermeyen kültür pozitif 13 fungal keratitli hastanın 6'sına KKÇB, 7'sine medikal tedavinin devamını uygulamışlardır. KKÇB uygulanan 6 hastanın 5'inde, medikal tedaviye devam edilen 7 hastanın 3'ünde tedavi başarısızlığı olmuş ve penetran keratoplasti gerekmiştir. Said ve ark. (64) yaptığı çalışmadan farklı olarak bu çalışmada mevcut durumda medikal tedaviye dirençli ve ülser derinliği ortalama 353 mikron olan hastalara KKÇB uygulanması ülserin çok derinleştiği ve stromanın neredeyse tamamen eridiği durumlarda faydadan çok zarar vereceği ve perforasyonu kolaylaştıracağını düşündürmüştür. Bu nedenle keratit tanısı kesinleştiği zaman erken dönemde KKÇB tedavisinin etkinliğinin daha iyi olduğu düşünülmektedir. Bu doğrultuda çalışmamızda gruplarımızdan KKÇB+Meropenem tedavisi verilen grupta 3.günde KKÇB uygulayarak topikal tedavi devam ettik, sadece KKÇB uygulanan grupta da 3.günde işlem yaptık ve spontan korneal perforasyon veya klinik bulgulara kötüleşme izlemedik.

2013 yılında 9. Uluslararası Korneal Çapraz Bağlama Kongresi'nde keratit tedavisi için CXL (Corneal Cross-Linking) ile ilgili yayınların artmasıyla birlikte yeni bir terminoloji önerilmiş ve enfeksiyonlar için yapılan CXL'yi korneal ektazi için

yapılan CXL'den ayırmak amaçlanmıştır. Önerilen bu terim PACK-CXL(Photoactivated chromophore for keratitis corneal crosslinking)'dir (66). CXL klinik kullanımının, PACK-CXL olarak yeniden adlandırılmasıyla tıp ve veteriner hekimlik literatüründe yerini almıştır (67-70).

PACK-CXL in vitro mikroorganizmalar üzerinde, mikroorganizma tipine ve ortam farklılıklarına bağlı olarak değişken bir inhibitör etkiye sahiptir (71-74). Mikrobiyolojik suşlar ve izolatlar arasındaki genetik değişkenlik fiziksel ve kimyasal uyarılara karşı duyarlılıklarını etkileyebilir, bu da klinik etkinlikte gözlenen değişkenliğin bir kısmını açıklayabilir (75,76). Bunsen-Roscoe fotokimyasal karşılıklılık yasasına göre herhangi bir fotokimyasal reaksiyonun etkileri (mevcut bağlamda, PACK-CXL prosedürü) verilen toplam enerji, enerji iletim süresine radyasyon yoğunluğu adapte edildiği sürece korunabilir (77,78). Bu doğrultuda PACK-CXL tedavisinde verilen toplam enerjinin 5.4 J/cm^2 olması şartıyla, 3 mW/cm^2 'lik 30 dakikalık standart ışınlama (Dresden Protokolü) ve 18 mW/cm^2 'lik 5 dakikalık hızlandırılmış ışınlama için etkinin benzer olması gerektiği düşünülmektedir (78,79). Hızlandırılmış PACK-CXL prosedürü, hayvan deneyi gruplarında genel anestezi süresini kısaltacağı veya genel anesteziye bağlı komplikasyonları azaltacağı için ön plandadır. Hızlandırılmış PACK-CXL, tedavi süresini makul sınırlar içinde tutarken doku stabilize edici etkiyi artıran daha yüksek dozların verilmesine de izin verir (79-82). Bao ve ark. 9 mW/cm^2 'de 10 dakikalık ve 3 mW/cm^2 'de 30 dakikalık ışınlama protokollerinin benzer bir biyomekanik sertleştirme etkisine sahip olduğunu, fakat 18 mW/cm^2 'de 5 dakikalık protokolün benzer bir biyomekanik sertleştirme etkisine sahip olmadığını, yeterli etkiyi göstermediğini öne sürmüştür(83,84). Buna karşın Richoz ve ark. hızlandırılmış (5 dakika, 18 mW/cm^2) ve yüksek hızlandırılmış (2,5 dakika, 36 mW/cm^2) standart enerji uygulanarak yapılan (5.4 J/cm^2) PACK-CXL arasında antimikrobiyal etki açısından bir fark gözlemlenmemiştir (72). Biz de çalışmamızda deney hayvanlarının genel anesteziden daha az etkilenmesi düşüncesi ile toplam enerjinin 5.4 J/cm^2 olacak şekilde 9 mW/cm^2 'de 10 dakikalık prosedürü uygulamayı tercih ettik.

Özdemir ve ark. (85) tavşan kornealarında *Fusarium solani* ve *Candida albicans* ile oluşturdukları deneysel mantar keratitinde topikal vorikonazol ve KKÇB etkinliğini karşılaştırmışlardır. Fungal kültürlerde CFU (Coloni Forming Units) sayılarını

azaltmada KKÇB'nin vorikonazol kadar etkili olduğunu sonucuna ulaşmışlardır. Aynı zamanda KKÇB'nin CFU sayısı üzerinde vorikonazol ile sinerjistik bir etkisi olduğunu ve yalnızca KKÇB ile tedavi edilen gruplara kıyasla düşüş sergilediğini belirtmişlerdir. Ancak mikroskopik inceleme bulguları ve patolojik sonuçlar, mantar sayısı azaldıkça klinik özelliklerin görece daha yavaş düzelme gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum fungal keratitlerde erken dönemde maya ve hif oluşumları azalsa da inflamasyonun gerilemesinin daha uzun sürdüğünü düşündürmektedir.

İdrus ve ark. (86), yaptığı çalışmada enfeksiyöz keratit tanısı alan 26 hastanın 27 gözü incelenmiş; klinik bulgulardaki iyileşmesi ve antibiyotik yanıtı iyi olmayan, ciddi melting izlenen hastalara KKÇB uygulanmış, aynı zamanda 20 göze aynı gün AMT(Amniyotik Membran Transplantasyonu) yapılmıştır. AMT uygulamasındaki amaç ince kornealarda epitel oluşumunu hızlandırmak, skar formasyonunu azaltmak ve ağrıyı hafifletmek olarak belirtilmiştir. Bu serideki 16 olgu kontant lens kullanımı ile ilişkilidir ve kültür pozitifliği izlenen 19 olgudan 9'unda *Pseudomonas aeruginosa* ürediği görülmüştür. KKÇB sonrası hiçbir hastada korneal perforasyon veya korneal dekompanzasyon izlenmemiştir. Çoğu olguda KKÇB'den 7 gün sonra re-epitelizasyon meydana geldiği, hipopiyonu olan 14 olguda 7-9 gün arasında hipopiyonun çekildiği belirtilmiştir.

Price ve ark.(87) yaptıkları çalışmaya 15 gram pozitif bakteri, 9 gram negatif bakteri, 7 küf mantarı, 1 virüs, 2 Acanthamoeba, 6 kültür negatif keratit olmak üzere 40 hasta dahil edilmiştir. Bu çalışmanın sonundahastaların tamamına primer olarak PACK-CXL uygulanmış olup 33 hastada korneal erime durduğu, 6 hastada acil PK (Penetran keratoplasti) gerektiği bildirilmiştir. PK gereken hastaların çoğunun fungal keratitli ve genellikle derinliğinin 250 mikronu geçen korneal ülserle sahip olgular olduğu görülmüştür.

Shetty ve ark.(88) antimikrobial tedaviye en az 2 hafta yanıt vermeyen 9 bakteriyel, 6 fungal keratit hastasına PACK-CXL uygulamış olup 9 bakteriyel keratitli hastanın 6'sı, 6 fungal keratitli hastanın 3'ünde iyileşme olduğunu bildiren bir çalışma yayınlamışlardır. İyileşme olmayan olgular incelendiğinde derin stromal ülser veya endotelial plak olduğu görülmüştür.

Bu çalışmalardan da görüldüğü üzere keratit tedavisi için yeni ve etkin alternatif arayışı ve mevcut tedavinin etkinliğini arttırmak için araştırmalar sürmektedir.

Keratite bağlı morbiditeyi azaltmak da temel hedeflerden biridir. Çalışmamız, yaptığımız literatür araştırması sonucuna göre, deneysel olarak tavşanlarda oluşturulan *Pseudomonas aeruginosa* keratiti tedavisinde topikal meropenem ve KKB etkinliğini karşılaştıran ilk çalışmadır. Literatürde Meropenem tedavisiyle iyi sonuçların alınması, oftalmolojide dirençli keratit vakalarına alternatif olabileceğini düşünmemiz topikal tedavide tercih nedenimiz olmuştur. Tedavi almayan kontrol grubunda klinik parametrelerde belirgin kötüleşme olması, 2 olguda spontan korneal perforasyon izlenmesi *Pseudomonas* keratitinin agresif seyrine paralel olarak karşımıza çıkmaktadır. Tedavi gruplarına bakıldığında ise tek başına topikal Meropenem tedavisi alan ve tek başına KKB uygulanan olguların bir kısmında klinik iyileşme izlenmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir. Klinik iyileşmenin bu gruplarda daha yavaş gerçekleşmesinin bu duruma neden olabileceğini düşünmekteyiz. Topikal Meropenem+KKB tedavisi verilen grupta diğer gruplara göre, klinik bulgularda izlenen iyileşme ve koloni sayısındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. KKB' nin topikal meropenemin korneaya daha iyi penetre olmasını ve aynı zamandakendi antimikrobiyal etkisiyle beraber klinik bulgulara gerileme sağladığını düşünmekteyiz. Patolojik olarak incelediğimiz kesitlerde de inflamasyon yönünden en fazla hafif inflamasyona sahip olgunun KKB+Meropenem grubunda olması da bu görüşümüzü desteklemektedir.

Çalışmamızda klinik bulgularını değerlendirirken, korneal ödem nedeniyle derecelendirmede yaşanan zorlukların çalışmamızın kısıtlılığı olduğunu düşünüyöruz.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada tavşanlarda deneysel olarak oluşturulmuş *Pseudomonas* keratitinde % 0.1 riboflavin ile yapılmış tek başına KKÇB tedavisi, tek başına topikal meropenem ve KKÇB+meropenem tedavisi karşılaştırılmıştır. Bu konuda yapılmış ilk in vivo çalışmadır. Kontrol grubunda belirgin klinik kötüleşme izlenmekle beraber tedavi gruplarında tedavi öncesine kıyasla klinik bulgulara değişen düzeylerde iyileşme görülmüştür.

Sonuçlarımıza göre KKÇB ile beraber meropenem tedavisinin sinerjistik etki gösterdiği, tedavinin hızlanması ve keratite bağlı komplikasyonların azalması konusunda ümit verici olduğu kanaatindeyiz. *Pseudomonas* gibi agresif seyirli ve oküler komorbiditesi fazla bir patojen için erken dönemde tedavi planında yer almasının uygun olduğunu düşünüyoruz.

Tüm bu bilgiler ışığında mevcut ajanların daha geniş popülasyonlu çalışmalarda etkinliğinin ve güvenliğinin değerlendirilmesine ihtiyaç vardır.

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. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 135: 620-627, 2003.
4. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 17: 356-360, 2006.
5. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res* 29: 35-40, 2004.
6. Rüfer, F., A. Schröder, and C. Erb, White-to-white corneal diameter: normal values in healthy humans obtained with the Orbscan II topography system. *Cornea*, 2005. 24(3): p. 259- 261.
7. Feizi, S., et al., Central and peripheral corneal thickness measurement in normal and keratoconic eyes using three corneal pachymeters. *Journal of ophthalmic & vision research*, 2014. 9(3): p. 296.
8. Cibis, G.W., *Fundamentals and principles of ophthalmology*. 2007: American Academy of Ophthalmology.
9. Farjo, A.A., et al., *Corneal anatomy, physiology, and wound healing*. *Ophthalmology E-Book*, 2018: p. 155.
10. Fini, M.E. and B.M. Stramer, How the cornea heals: cornea-specific repair mechanisms affecting surgical outcomes. *Cornea*, 2005. 24(8): p. S2-S11.
11. O'Brien TP. Management of bacterial keratitis: Beyond exorcism towards consideration of organism and host factors. *Eye* 17(8): 957-974, 2003.
12. Whitcher JP. Corneal ulceration. *Int Ophthalmol Clin* 30(1): 30-32, 1990.
13. McLeod S. Bacterial keratitis. Yanoff M Duker JS *Ophthalmology* (Wigss J, Duker JS ed). Third edition. St. Louis, Elsevier Inc. 262-269, 2009.
14. Thomas PA, Geraldine P. Infectious keratitis. *Curr Opin Infect Dis* 20(2): 129-141, 2007.

15. Parmar P, Salman A, Kalavathy CM, et al. Microbial keratitis at extremes of age. *Cornea* 25(2): 153-158, 2006.40
16. McLeod SD, Flowers CW, Lopez PF, Marx J, McDonnell PJ. Endophthalmitis and orbital cellulitis after radial keratotomy. *Ophthalmology* 102(12):1902-1907, 1995.
17. Schein, O.D., et al., Microbiology of Contact Lens—Related Keratitis. *Cornea*, 1989. 8(4): p. 281-285.
18. Singh, A., L. Hazlett, and R. Berk, Characterization of pseudomonal adherence to unwounded cornea. *Investigative ophthalmology & visual science*, 1991. 32(7): p. 2096-2104.
19. Kupferman, A. and H.M. Leibowitz, Quantitation of bacterial infection and antibiotic effect in the cornea. *Archives of Ophthalmology*, 1976. 94(11): p. 1981-1984.
20. Henry, C.R., et al., Infectious keratitis progressing to endophthalmitis: a 15-year study of microbiology, associated factors, and clinical outcomes. *Ophthalmology*, 2012. 119(12): p. 2443-2449.
21. Jones, D.B., Decision-making in the management of microbial keratitis. *Ophthalmology*, 1981. 88(8): p. 814-820.
22. Park, J., et al., Community practice patterns for bacterial corneal ulcer evaluation and treatment. *Eye & contact lens*, 2015. 41(1): p. 12-18.
23. Jones, D.B., et al., Laboratory diagnosis of ocular infections. 1981: American Society for Microbiology Washington DC.
24. Levey, S.B., et al., The role of cultures in the management of ulcerative keratitis. *Cornea*, 1997. 16(4): p. 383-386.
25. Jones DB. Initial therapy of suspected microbial corneal ulcers II. Specific antibiotic therapy based on corneal smears. *Surv Ophthalmol* 24: 97, 1979.
26. Lesar TS, Fiscella RG. Antimicrobial drug delivery to the eye. *Drug Intell Clin Pharm* 19(9): 642-654, 1985.
27. Barza M. Antibacterial agents in the treatment of ocular infections. *Infect Dis Clin North Am* 3(3): 533-551, 1989.
28. 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.

29. Tam, A.L., et al., Bacterial keratitis in Toronto: a 16-year review of the microorganisms isolated and the resistance patterns observed. *Cornea*, 2017. 36(12): p. 1528-1534.
30. Ford, J.G., et al., Nontuberculous mycobacterial keratitis in south Florida. *Ophthalmology*, 1998. 105(9): p. 1652-1658.
31. Hanet, M.-S., J. Jamart, and A.P. Chaves, Fluoroquinolones or fortified antibiotics for treating bacterial keratitis: systematic review and meta-analysis of comparative studies. *Canadian Journal of Ophthalmology*, 2012. 47(6): p. 493-499.
32. Baldwin CM, Lyseng-Williamson KA, Keam SJ. Meropenem: a review of its use in the treatment of serious bacterial infections. *Drugs* 2008;68:803–38.
33. Scott M, Mehta S, Rahman HT, et al. *Nocardia veterana* endogenous endophthalmitis in a cardiac transplant patient. *J Ophthalmic Inflamm Infect* 2013;3:44.
34. Pande R, Bhailume P. Use of topical meropenem in management of hospital acquired *Pseudomonas* ocular infections. *J Clin Ophthalmol Res* 2014;2:23–5.
35. Wilhelmus, K.R., Indecision about corticosteroids for bacterial keratitis: an evidencebased update. *Ophthalmology*, 2002. 109(5): p. 835-842.
36. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 135: 620–627, 2003.
37. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope. *Curr Opin Ophthalmol* 17: 356–360, 2006.
38. 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.
39. 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.
40. Kling S, Ginis H, Marcos S. Corneal Biomechanical Properties from TwoDimensional Corneal Flap Extensimetry: Application to UV-Riboflavin CrossLinking. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53(8): 5010-5015, 2012.

41. 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.
42. 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.
43. Shechmeister IL. Sterilization by ultraviolet irradiation. Disinfection, Sterilization and Preservation (Block SS, ed). Forth edition. Philadelphia, Pennsylvania: Lea Febiger. 553–565, 1991.
44. Tayapad JB, Viguilla AQ, Reyes JM. Collagen cross-linking and corneal infections. *Curr Opin Ophthalmol* 24(4): 288-290, 2013.
45. 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.
46. Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: A global perspective. *Bull World Health Organ* 2001;79:214–221.
47. Fernandes M, Vira D, Medikonda R, et al. Extensively and pan-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* keratitis: Clinical features, risk factors, and outcome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2016;254:315–322.
48. Green M, Apel A, Stapleton F. Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea* 2008;27:22–27.
49. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ. *Cornea*. 1st ed. St. Louis, MO, Mosby, 1997. pp 1139–1189.
50. Varaprasathan G, Miller K, Lietman T, et al. Trends in the etiology of infectious corneal ulcers at the F. I. Proctor Foundation. *Cornea* 2004;23: 360–364.
51. Hoddenbach JG, Boekhoorn SS, Wubbels R, et al. Clinical presentation and morbidity of contact lens-associated microbial keratitis: A retrospective study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014;252:299–306.
52. Panda A, Ahuja R, Sastry SS. Comparison of topical 0.3 % ofloxacin with fortified tobramycin plus cefazolin in the treatment of bacterial keratitis. *Eye* 1999; 13: 744–747.

53. American Academy of Ophthalmology Cornea/External Disease Panel (2013) Bacterial keratitis preferred practice pattern. American Academy of Ophthalmology 1–42
54. Borkar DS, Acharya NR, Leong C, et al. Cytotoxic clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* identified during the steroids for corneal ulcers trial show elevated resistance to fluoroquinolones. *BMC Ophthalmol* 2014;14:54.
55. Roberts JA, Lipman J. Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Crit Care Med* 2009;37:840–851.
56. Shih RL, Lee VH. Rate limiting barrier to the penetration of ocular hypotensive beta blockers across the corneal epithelium in the pigmented rabbit. *J Ocul Pharmacol* 1990;6:329–336.
57. Pande RA, Prajakta V. Bhailume. Use of topical meropenem in management of hospital acquired *Pseudomonas* ocular infections. *J Clin Ophthalmol Res* 2014;1:23–25
58. Bozkurt E, A New Treatment Experience in *Pseudomonas* Keratitis: Topical Meropenem and Cefepime, *Eye & Contact Lens* 2021;47: 174–179
59. Sporn E, Huhle M, Kasper M, Seiler T. [Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking]. *Ophthalmologe*. 1997;94(12):902-6.
60. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res*. 1998;66(1):97-103.
61. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):620-7.
62. Tsugita A, Okada Y, Uehara K. Photosensitized inactivation of ribonucleic acids in the presence of riboflavin. *Biochim Biophys Acta*. 1965;103(2):360-3.
63. Cosar CB, Kucuk M, Celik E, Gonen T, Akyar I, Serteser M, et al. Microbiologic, Pharmacokinetic, and Clinical Effects of Corneal Collagen Cross-Linking on Experimentally Induced *Pseudomonas* Keratitis in Rabbits. *Cornea*. 2015;34(10):1276-80.
64. Said DG, Elalfy MS, Gatzoufas Z, El-Zakzouk ES, Hassan MA, Saif MY, et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology*. 2014;121(7):1377-82

65. Uddaraju M, Mascarenhas J, Das MR, Radhakrishnan N, Keenan JD, Prajna L, et al. Corneal Cross-linking as an Adjuvant Therapy in the Management of Recalcitrant Deep Stromal Fungal Keratitis: A Randomized Trial. *Am J Ophthalmol*. 2015;160(1):131-4 e5.
66. Tabibian D, Mazzotta C, Hafezi F (2016) PACK-CXL: corneal cross-linking in infectious keratitis. *Eye and Vis* 3:11
67. Famose F. Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(5):358–67.
68. Spiess BM, Pot SA, Florin M, et al. Corneal collagen cross-linking (CXL) for the treatment of melting keratitis in cats and dogs: a pilot study. *Vet Ophthalmol*. 2014;17(1):1–11.
69. Hafezi F, Randleman JB. PACK-CXL: defining CXL for infectious keratitis. *J Refract Surg*. 2014;30(7):438–9.
70. Hellander-Edman A, Makdoui K, Mortensen J, et al. Corneal crosslinking in 9 horses with ulcerative keratitis. *BMC Vet Res*. 2013; 9: 128.
71. Martins SA, Combs JC, Noguera G, et al. 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*. 2008;49(8):3402–8
72. Richoz O, Kling S, Hoogewoud F, et al. Antibacterial efficacy of accelerated photoactivated chromophore for keratitis-corneal collagen crosslinking (PACK-CXL). *J Refract Surg*. 2014;30(12):850–4
73. Schrier A, Greebel G, Attia H, et al. In vitro antimicrobial efficacy of riboflavin and ultraviolet light on *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Refract Surg*. 2009; 25(9): S799-802.
74. Makdoui K, Backman A, Mortensen J, et al. Evaluation of antibacterial efficacy of photo-activated riboflavin using ultraviolet light (UVA). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2010;248(2):207–12
75. Kralik P, Babak V, Dziedzinska R. Repeated cycles of chemical and physical disinfection and their influence on *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* viability measured by propidium monoazide F57 quantitative real time PCR. *Vet J*. 2014;201(3):359–64.

76. Ermolaeva SA, Varfolomeev AF, Chernukha MY, et al. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. *J Med Microbiol*. 2011;60(Pt 1):75–83.
77. Bunsen RW, Roscoe HE. Photochemical researches-Part V. On the measurement of the chemical action of direct and diffuse sunlight. *Proc Roy Soc Lond*. 1862;12:306–12.
78. Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, et al. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1176–80.
79. Kymionis GD, Tsoulfas KI, Grentzelos MA, et al. Evaluation of corneal stromal demarcation line depth following standard and a modified accelerated collagen cross-linking protocol. *Am J Ophthalmol*. 2014;158(4):671-675 e671.
80. Backman A, Makdoui K, Mortensen J, et al. The efficiency of crosslinking methods in eradication of bacteria is influenced by the riboflavin concentration and the irradiation time of ultraviolet light. *Acta Ophthalmol*. 2014;92(7):656–61.
81. Aldahlawi NH, Hayes S, O’Brart DP, et al. Enzymatic resistance of corneas crosslinked using riboflavin in conjunction with low energy, high energy, and pulsed UVA irradiation modes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57(4):1547–52.
82. Kling S, editor. Quantifying the antimicrobial efficacy of PACK-CXL for different bacterial strains as a function of UV fluence and irradiated volume. Zurich; International CXL Experts’ Meeting; 2017.
83. Bao F, Zheng Y, Liu C, et al. Changes in corneal biomechanical properties with different corneal cross-linking irradiances. *J Refract Surg*. 2018;34(1):51–8.
84. Santhiago MR, Randleman JB. The biology of corneal crosslinking derived from ultraviolet light and riboflavin. *Exp Eye Res*. 2020;202:108355.
85. Özdemir, H. B., Kalkanç, A., Bilgihan, K., Göçün, P. U., Ögüt, B., Karakurt, F., & Erdoğan, M. (2019). Comparison of corneal collagen cross-linking (PACK-CXL) and voriconazole treatments in experimental fungal keratitis. *Acta ophthalmologica*, 97(1), e91–e96.
86. Idrus, E. A., Utti, E. M., Mattila, J. S., & Krootila, K. (2019). Photoactivated chromophore corneal cross-linking (PACK-CXL) for treatment of severe keratitis. *Acta ophthalmologica*, 97(7), 721–726.

87. 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.* 2012;28(10):706-13.
88. Shetty, R., Nagaraja, H., Jayadev, C., Shivanna, Y., & Kugar, T. (2014). Collagen crosslinking in the management of advanced non-resolving microbial keratitis. *The British journal of ophthalmology*, 98(8), 1033–1035.

