



T.C.

ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KONJENİTAL NAZOLAKRİMAL KANAL
TIKANIKLIĞINDA NAZAL VE OKÜLER FLORA
MİKROBİYOMUNUN POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU TEMELLİ KARAKTERİZASYONU VE
MİKROBİYOM İLİŞKİLİ METABOLİK YOLAKLARIN
FONKSİYONEL ANALİZİ**

UZMANLIK TEZİ

Hazal BİRCAN

GÖZ HASTALIKLARI

ANKARA – 2023

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KONJENİTAL NAZOLAKRİMAL KANAL
TIKANIKLIĞINDA NAZAL VE OKÜLER FLORA
MİKROBİYOMUNUN POLİMERAZ ZİNCİR
REAKSİYONU TEMELLİ KARAKTERİZASYONU VE
MİKROBİYOM İLİŞKİLİ METABOLİK YOLAKLARIN
FONKSİYONEL ANALİZİ**

UZMANLIK TEZİ

Hazal BİRCAN

GÖZ HASTALIKLARI

**Bu araştırma; Türk Oftalmoloji Derneği Ankara Şubesi (TODAŞ)
tarafından Asistan Çalışma Bütçe Destek Programı kapsamında
desteklenmiştir.**

ANKARA – 2023

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

KONJENİTAL NAZOLAKRİMAL KANAL TIKANIKLIĞINDA
NAZAL VE OKÜLER FLORA MİKROBİYOMUNUN POLİMERAZ
ZİNCİR REAKSİYONU TEMELLİ KARAKTERİZASYONU VE
MİKROBİYOM İLİŞKİLİ METABOLİK YOLAKLARIN
FONKSİYONEL ANALİZİ

Hazal BİRCAN

UZMANLIK TEZİ

Tez Savunma Sınav Tarihi

05.04.2023

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nilay YÜKSEL

Yardımcı Tez Danışmanı: Prof. Dr. Fatma YÜLEK

Jüri Üyelerinin Unvanı Adı Soyadı – İmzası

Prof. Dr. Özlem EVREN KEMER

Prof. Dr. Fatma YÜLEK

Dr. Öğr. Gör. Sema YÜZBAŞIOĞLU

Okuduğumuz ve savunmasını dinlediğimiz bu tezin bir Tıpta Uzmanlık derecesi için gereken tüm kapsam ve kalite şartlarını sağladığını beyan ederiz.

05.04.2023

PROF.DR. FATMA YÜLEK
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI

Bu tezin uzmanlık derecesi için gereken tüm şartları sağladığını tasdik ederim.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içerisinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

05.04.2023

Hazal BİRCAN

TEŞEKKÜR

Eğitim ve tez sürecinde desteğini bir an bile esirgemeyen, her koşulda yanımda olduğunu bildiğim, bana sadece iyi bir hekim olmayı değil cesur bir insan olabilmeyi de öğreten, hep yol gösteren, bilgi, deneyim ve öğütleriyle yolumu aydınlatan canımdan çok sevdiğim biricik hocam, ablam, idolüm Doç. Dr. Nilay YÜKSEL'e,

Tez süreci boyunca her zaman pozitif yaklaşp her sorumuzu büyük bir sabırla cevaplayan, desteğini ve yardımlarını bir an olsun esirgemeyen tezimin mimarlarından değerli hocam Doç. Dr. Turan DEMİRCAN'a ve sevgili asistanı Mervenur YAVUZ'a,

Bugün burada bu tezin yazılıyor olmasını sağlayan, verdiği destek sayesinde her zaman kendimi güçlü hissettiğim, kendisine hem bir göz asistanı olarak hem de bir insan olarak gönülden borçlu olduğum, asistanlık eğitimim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini paylaşan, her bir asistanını ayrı ayrı anne şefkati ile sarıp sarmalayan, asistanı olduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim, kıymetli hocam Prof. Dr. Özlem EVREN KEMER'e,

Başarılı bir hekim olmasının yanı sıra insanlığına, adaletine ve özverisine hayranlık duyduğum, eğitimim boyunca yanında çalışmaktan büyük mutluluk ve onur duyduğum, değerli hocam Prof. Dr. Fatma YÜLEK'e,

Asistanlık eğitimim boyunca her zaman desteğini hissettiğim, cerrahi yeteneğine hayranlık duyduğum, paylaştığı kıymetli bilgi ve tecrübeleri sayesinde kendimi hep bir adım önde hissettiğim, canım hocam Prof. Dr. Tamer TAKMAZ'a,

Sakinliğini, olumlu bakış açısını her zaman örnek aldığım, değerli bilgi ve cerrahi tecrübelerini paylaşan, her zaman desteğini hissettiğim ve yanımda olduğunu bildiğim, bir hocadan çok abla samimiyeti ile sevdiğim, canım ablam Dr. Öğr. Gör. Sema YÜZBAŞIOĞLU'na,

Bu süreçte, klinik içerisinde asistanı olarak birebir çalışma şansına ulaşamamış olsam da hiçbir zaman desteğini esirgemeyen değerli hocalarım Prof.Dr. Mehmet Numan ALP ve Prof. Dr. Emine ŞEN'e,

Yine tez sürecim boyunca, özverisiyle yardımlarını esirgemeyen, ameliyathanede elimiz ayağımız olan biricik ameliyathane personelimiz Deniz PİŞKİN'e,

Bu süreçte yanlarında çalışma fırsatı bulduğum, bilgi ve tecrübeleriyle iyi bir göz hekimi olmamı sağlayan, yanlarında çalıştığım ve onları tanıdığım için mutluluk duyduğum, çoğu göz hekiminin görme fırsatını bulamadığı cerrahileri ve olguları görebilmemi sağlayan kıymetli oküloplastî, şaşılık, glokom, nörooftalmoloji-uvea, retina ve glokom birimi hocalarıma ve uzmanlarıma,

Birlikte çalıştığımız, beraber yorulduğumuz, beraber güldüğümüz, beraber ağladığımız, iyi kötü tüm güzel anılarımızı paylaştığımız kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Birlikte yorulduğumuz ancak buna rağmen güleryüzlü ortamda keyifle çalıştığımız ameliyathane ekibimize, klinik ve poliklinik hemşirelerimize, tüm sağlık personelimize ve tez sürecimde özveriyle desteğini esirgemeyen başta Özlem YILMAZ ve Merve TURFAN olmak üzere değerli sekreterlerimize,

Yalnızca bu süreçte değil daima desteklerini hissettiğim, hayatımdaki varlıklarına her zaman şükredeceğim başta Dilan CANDAN ve Hande SANDAL olmak üzere biricik canım arkadaşlarıma,

Bugünlere gelmemde sayısız emeği ve fedakarlığı olan, her zaman yanımda, arkamda olan, varlıklarından güç aldığım, bana her zaman iyi bir hekimden önce iyi bir insan olma değerini aşılayan hayattaki en büyük şanslarım olan kıymetli annem, babam ve ablama yürekten teşekkür ediyorum.

Dr. Hazal BİRCAN

Ankara, 2023

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Lakrimal Sistem.....	3
2.1.1. Lakrimal Salgılayıcı Sistem.....	3
2.1.1.1. Ana Gözyaşı Bezi (Lakrimal Bez).....	3
2.1.1.2. Yardımcı Gözyaşı Bezleri.....	4
2.1.2. Lakrimal Drenaj Sistemi.....	5
2.1.2.1. Lakrimal Punktumlar.....	5
2.1.2.2. Lakrimal Kanalikül	5
2.1.2.3. Lakrimal Kese	6
2.1.2.4. Nazolakrimal Kanal	7
2.2. Lakrimal Sistem Embriyolojisi	8
2.3. Lakrimal Drenaj Sistem Fizyolojisi	9
2.4. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı	10
2.4.1. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Risk Faktörleri.....	12
2.4.2. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Teşhis ve Muayene Yöntemleri.....	13
2.4.2.1. Hikaye ve Gözlem.....	13

2.4.2.2. Boya Kaybolma Testi	13
2.4.2.3. Gözyaşı Kesesi Kompresyonu.....	14
2.4.2.4. Jones I ve Jones II Testi	14
2.4.2.5. İrrigasyon	15
2.4.2.6. Dakriyosistogram.....	15
2.4.2.7 Nazal Endoskopi.....	16
2.4.2.8. Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme.....	16
2.4.3. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Tedavisi	16
2.4.3.1. Medikal Tedavi	16
2.4.3.2. Girişimsel Yöntemlerle Tedavi.....	19
2.5. Mikrobiyom ve Mikrobiyota	28
2.5.1. Pediatrik Yaş Grubunda Oküler Yüzey ve Nazal Mikrobiyom	29
2.5.2. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığında Mikrobiyom.....	33
2.6 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR).....	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1. Araştırmanın Tasarımı.....	38
3.2. Etik Kurul	38
3.3. Hasta Seçimi ve Kriterleri.....	38
3.4. Değerlendirilen Parametreler	39
3.5. Örneklerin Toplanması.....	40
3.6. Örneklerin Değerlendirilmesi.....	41
3.6.1. Bakteri Genomik DNA'sı İzolasyonu.....	41
3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	42
3.6.3. Agaroz Jel Elektrophorezi.....	43
3.6.4. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	44
3.6.5. Metabolit ve Hastalık Analizi.....	44

3.7. İstatiksel Analiz.....	46
4. BULGULAR.....	47
4.1. Genomik DNA eldesi.....	49
4.2. Bakteri Varlığının Gösterilmesi için PZR Analizi.....	55
4.3. Kantitatif PZR.....	60
4.3.1. <i>Streptococcus pneumonia</i> miktarının qPZR ile tayini.....	60
4.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> miktarının qPZR ile tayini.....	62
4.3.3. <i>Haemophilus influenzae</i> miktarının qPZR ile tayini.....	64
4.3.4. <i>Serratia marcescens</i> miktarının qPZR ile tayini.....	67
4.3.5. <i>Moraxella catarrhalis</i> miktarının qPZR ile tayini.....	69
4.3.6. Verilerin kantitatif değerlendirilmesi.....	71
4.4. KNKLT Grubu İçinde Tıkalı ve Sağlam Taraflar Arasındaki Karşılaştırma.....	75
4.5. Bakteri yükü ve klinik veriler ile ilişkili karşılaştırmalar ve analizler.....	77
4.6. Bakteri Türü/Yükü Tespiti Sonrası Metabolit ve Hastalık Yolakların Analizi.....	77
5. TARTIŞMA.....	82
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	89
7. KAYNAKLAR.....	91
8. EKLER.....	107
8.1. EK-1 Tablo 2.2.....	105
8.2. EK-2 Etik Kurul Onayı.....	107
8.3. EK-3 Özgeçmiş.....	106

ÖZET

Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığında Nazal ve Oküler Flora Mikrobiyomunun Polimeraz Zincir Reaksiyonu Temelli Karakterizasyonu ve Mikrobiyom İlişkili Metabolik Yolakların Fonksiyonel Analizi

Amaç: Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) bazlı yöntemler kullanarak tek taraflı konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı (KNLKT) olan çocukların nazal ve oküler yüzey florasında *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* karakterizasyonu ile bu bakterilerin biyoaktivite ve enzimlerinin tanımlanmasını yapmak, yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş sağlıklı çocuklar karşılaştırmak.

Gereç ve yöntem: Sondalama yapılmadan önce, tek taraflı KNLKT olan 26 hastanın her iki taraf inferior meatus ve oküler yüzeylerinden sürüntü örnekleri alındı. Ayrıca tek taraflı şaşılık veya pitozis cerrahisi uygulanan çocukların kontralateral oküler yüzey ve inferior meatuslarından alınan örnekler kontrol grubunu oluşturdu. Örneklerde bakteri varlığı ve miktarı, bakteriye özgü primerler kullanılarak analiz edildi. Bakteri miktarını belirlemek için döngü eşiği (Ct) değeri kullanıldı. Düşük Ct değeri, numunede daha fazla bakteri DNA/RNA olduğu anlamına gelmekteydi.

Bulgular: Nazal florada *Streptococcus pneumoniae*, oküler yüzey florasında *Staphylococcus aureus* ve hem nazal hem de oküler yüzey florasında *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, KNLKT tarafında kontrol grubuna göre daha fazlaydı ($p<0.05$). Tüm bakteriler için ct değeri KNLKT tarafında hem nazal hem de oküler florada kontrollere göre daha düşüktü ($p<0.05$). Fark en çok *Serratia marcescens* için dikkat çekiciydi. KNLKT'li çocukların tıkalı ve açık tarafları karşılaştırıldığında oküler yüzeyde *Moraxella catarrhalis*, nazal florada *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* daha yüksek bulundu ($p<0.05$). Bu bakterilerin metabolit analizi yapıldığında betaine, L-carnitine, L-leucine ve L-alanine'nin bu bakterilerin varlığında negatif olarak regüle edildiği yani KNLKT'li hastalarda daha az bulunduğu görüldü.

Sonuç: KNLKT, bazı bakterilerle veya bu bakterilerin oküler yüzey ve nazal floradaki miktarlarındaki değişikliklerle ilişkili görünmektedir. Bu mikrobiyolojik farklılıklar, KNLKT için bir risk faktörü veya KNLKT'nin bir sonucu olabilir.

Anahtar kelimeler: Bakteri, mikrobiyom, nazolakrimal kanal, PZR

ABSTRACT

Polymerase Chain Reaction Based Characterization of Nasal and Ocular Flora Microbiome in Congenital Nasolacrimal Duct Occlusion and Functional Analysis of Microbiome Related Metabolic Pathways

Objective: To characterize *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenza*, *Serratia marcescens*, and *Moraxella catarrhalis* in the nasal and ocular surface flora of children with unilateral congenital nasolacrimal duct obstruction (CNLDO) using polymerase chain reaction (PCR)-based methods, and to identify the bioactivity and enzymes of these bacteria, and to compare age- and sex-matched healthy children.

Materials and methods: Before probing, the swab samples were taken from the bilateral inferior meatus and ocular surfaces of 26 patients with unilateral CNLDO. Also, samples taken from the contralateral ocular surface and inferior meatus of the children who underwent unilateral strabismus or ptosis surgery constituted the control group. The presence and quantity of bacteria in the samples were analyzed by using primers specific to the bacteria. The cycle threshold (Ct) value was used to determine the amount of bacteria. The lower Ct value means there was more bacteria DNA/RNA in the sample.

Results: *Streptococcus pneumonia* in nasal flora, *Staphylococcus aureus* in the ocular surface flora, and *Hemophilus influenza*, *Serratia marcescens* in both the nasal and ocular surface flora were more abundant on the CNLDO side than the control group ($p < 0.05$). The ct value for all bacteria was lower on the CNLDO side in both nasal and ocular flora compared to controls ($p < 0.05$). The difference was the most remarkable for *Serratia marcescens*. When the obstructed and patent sides of the children with CNLDO were compared, *Moraxella catarrhalis* was found to be higher in the ocular surface, and *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* were found to be higher in the nasal flora ($p < 0.05$). The metabolite analysis of these bacteria revealed that betaine, L-carnitine, L-leucine, and L-alanine were negatively regulated in the presence of these bacteria.

Conclusion: CNLDO seems to be associated with some bacteria or alterations in their amounts in the ocular surface and nasal flora. These microbiological differences may be a risk factor for or a result of CNLDO.

Keywords: Bacteria, microbiome, nasolacrimal duct, PCR

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

cDNA	: Circular (Halkasal) DNA
CNLDO	: Congenital Nasolacrimonal Duct Obstruction
DSR	: Dakriyosistorinostomi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
dNTP	: Deoksinükleotitfosfat
dsDNA	: Çift sarmallı deoksiribonükleik asit
FKT	: Floresein kaybolma testi
KNLKT	: Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı
NLKT	: Nazolakrimal kanal tıkanıklığı
PEDIG	: Pediatric Eye Disease Investigator Group
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
qPCR	: Quantitative Polymerase Chain Reaction
RNA	: Ribonükleik asit
RT-PZR	: Ters transkripsiyon - polimeraz zincir reaksiyonu
ssDNA	: Tek sarmallı deoksiribonükleik asit

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Normal lakrimal drenaj sistem anatomisi.....	8
Şekil 2.2. Sağ KNLKT'li çocukta floresein kaybolma testi.....	14
Şekil 4.1. KNKLT örneklerinden (26 göz ve 7 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	53
Şekil 4.2. KNKLT örneklerinden (19 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	53
Şekil 4.3. KNKLT örneklerinden (26 göz ve 7 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	54
Şekil 4.4. KNKLT örneklerinden (19 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü.....	55
Şekil 4.5. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş KNLKT grubu göz ve burun örneklerinden <i>S. pneumonia</i> içeren ve içermeyen örnekler.....	56
Şekil 4.6. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş KNLKT grubu burun örneklerinden <i>S. pneumonia</i> içeren ve içermeyen örnekler.....	56
Şekil 4.7. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş kontrol göz örneklerinden <i>S. pneumonia</i> içeren ve içermeyen örnekler.....	57
Şekil 4.8. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş kontrol burun örneklerinden <i>S. pneumonia</i> içeren ve içermeyen örnekler.....	58
Şekil 4.9. KNKLT ve kontrol grupları arasında <i>S. pneumonia</i> görülme oranı karşılaştırılması.	58

Şekil 4.10. PZR'ın ayırıcılığının bakterilerin varlığını tespit etmede yetersiz kalması.....	59
Şekil 4.11. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Streptococcus pneumoniae</i> miktarının qPZR ile tayini.	60
Şekil 4.12. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Streptococcus pneumoniae</i> miktarının qPZR ile tayini.	61
Şekil 4.13. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında <i>Streptococcus pneumoniae</i> görülme oranı karşılaştırılması	62
Şekil 4.14. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Staphylococcus aureus</i> miktarının qPZR ile tayini.....	63
Şekil 4.15. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Staphylococcus aureus</i> miktarının qPZR ile tayini.	63
Şekil 4.16. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında <i>Staphylococcus aureus</i> görülme oranı karşılaştırılması.....	64
Şekil 4.17. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Haemophilus influenzae</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.	65
Şekil 4.18. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Haemophilus influenzae</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.....	66
Şekil 4.19. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında <i>Haemophilus influenzae</i> görülme oranı karşılaştırılması.....	67
Şekil 4.20. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Serratia marcescens</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.	68

Şekil 4.21. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Serratia marcescens</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.	68
Şekil 4.22. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında <i>Serratia marcescens</i> görülme oranı karşılaştırılması.	69
Şekil 4.23. KNLKT göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Moraxella catarrhalis</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.....	70
Şekil 4.24. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde <i>Moraxella catarrhalis</i> varlığı ve miktarının qPZR ile tayini.	70
Şekil 4.25. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında <i>M. catarrhalis</i> görülme oranı karşılaştırılması.....	71
Şekil 4.26. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından pozitif örnek sayısı dağılımı.....	72
Şekil 4.27. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından elde edilen ortalama ct değeri dağılımı.....	73
Şekil 4.28. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından bakteri yükü karşılaştırması.	74
Şekil 4.29. qPZR analizi sonrası KNKLT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bütün bakteriler açısından bakteri yükü karşılaştırması.....	76
Şekil 4.30. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında normalize edilmiş ortalama ct değeri dağılımı (bütün bakteriler açısından)	77
Şekil 4.31. KNKLT’li hastalarda sonda başarısı. Sonda sonrası sulanma olan ve olmayan hastaların örneklerinde bakteri yükü karşılaştırması.	79

Şekil 4.32. KNKLT örneklerinde beş bakteri türünün enzimatik aktivitesi sonucu artan ya da azalan metabolom-metabolom etkileşim ağı.80

Şekil 4.33. KNKLT örneklerinde beş bakteri türünün varlığı ile hastalık-hastalık etkileşim ağı..... 81



TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1. 18 yaş altı sağlıklı çocuklarda filum seviyesinde mikrobiyom kompozisyonu.....	32
Tablo 2.2. Literatürde KNLKT’de tespit edilen patojenlerin karşılaştırılması.....	105
Tablo 3.1. Bakteri spesifik primerler.....	43
Tablo 4.1. KNLKT ve kontrol grubu yaş ortalamaları.....	47
Tablo 4.2. KNLKT ve kontrol grubu cinsiyet dağılımları.....	47
Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubunun doğum şekli dağılımı	48
Tablo 4.4. KNLKT grubunda sondalama tedavi başarısı.....	48
Tablo 4.5. gDNA konsantrasyonu ve saflığı.....	49
Tablo 4.6. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNLKT ve kontrol grubu arasındaki bakteri miktarı kat farkı.....	75
Tablo 4.7. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNLKT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bakteri miktarı kat farkı.....	76
Tablo 4.8. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNLKT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bakteri miktarı kat farkı.....	78



1. GİRİŞ

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı (KNLKT), pediatrik popülasyonda %5-20 oranında görülen nazolakrimal drenaj sistemindeki bir bozukluktur [1]. Lakrimal drenaj sisteminin kanalizasyonu, üst kısımdan başlayarak segmental ilerler ve devam eden bir lümen oluşturur. Doğuma kadar, nazolakrimal kanalın kanalizasyonu distal uçta tam değildir, bir membran yapısı ile örtülüdür [2]. Yenidoğan bebeklerin %70'inde, Hasner valvindeki bu membranöz yapı doğum zamanında da devam edebilir. Birçok olguda, hayatın ilk birkaç haftasında, henüz gözyaşı oluşumu başlamadan, bu membranöz yapı kendiliğinden rezorbe olur ve nazolakrimal kanal, burunun inferior meatusuna patent şekilde kanalize olur [2-4]. Bu kanalizasyon, bazı bebeklerde başarılı bir şekilde meydana gelmez ve gözyaşı oküler yüzeyden buruna doğru akamaz. Bu durum klinik olarak kendini epifora (fazla miktarda göz yaşarması) olarak gösterir. Doğumdan sonra kendiliğinden olan bu kanalizasyonun hangi faktörlere bağlı olduğu, nelerden etkilendiği bilinmemektedir. Nazolakrimal kanalın, neden bazı bebeklerde kendiliğinden kanalize olurken neden bazı bebeklerde olmadığı henüz açıklanamamıştır ve bu araştırmaya açık bir konudur.

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan bebeklerde, buruna akamayan gözyaşı, nazolakrimal kanalın yukarı kısımlarında göllenip sık tekrarlayan konjonktivit ve hatta ilerleyerek preseptal selülit, orbital selülit gibi enfeksiyonlara yol açmaktadır [1, 5, 6]. Aynı zamanda oküler yüzey üzerinde oluşan fazla gözyaşının %10-12 oranında anizometropik ambliyopiye yol açtığı da çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [1].

Güncel pek çok çalışma, insan mikrobiyobumun, insan sağlığı ve hastalıklarında birçok mekanizma aracılığıyla çok önemli bir rol oynadığını güçlü bir şekilde ortaya koymuştur. İnsan vücudundaki bu mikrobiyal oluşumlar, insan sağlığı için önemli çok büyük bir genetik çeşitlilik ve fonksiyonel kapasite sağlarlar. Mikrobiyom, insan genomunda bulunandan daha fazla miktarda çok yönlü metabolik genler içerir ve insanlara benzersiz spesifik enzimler ve biyokimyasal yollar sağlar. Bu fonksiyonları

nedeniyle, insan mikrobiyomu yeni bir “metabolik organ” olarak tanımlanmaktadır [7, 8].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda konjenital hastalıklar ile mikrobiyom ilişkisi popülerlik kazanmıştır. Yine, konjenital hastalıklarda mikrobiyom ilişkili metabolik yolların ve biyokimyasal özelliklerin de hastalıkların patogeneğinde etkili olabileceğine dair sonuçlar elde edilmiştir [9]. Literatürde az sayıda çalışmada KNLKT ve flora özellikleri incelenmiştir [10].

Literatürde KNLKT ve flora ilişkisini araştıran tüm çalışmalarda geleneksel kültür yöntemi kullanılmış olup bu ilişkinin, duyarlılığın daha yüksek olduğu yeni nesil mikrobiyolojik incelemelerle araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bugüne kadar, pediatrik yaş grubunda oküler yüzey ve nazal flora çalışmalarında en sık saptanan bakteriler *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis*’dir. Bu nedenle bu çalışmadaki birincil amacımız; KNLKT olan, masaj tedavisine yanıt vermediği için bir yaşından sonra sondalama işlemi gerektiren çocuklarda PZR temelli yöntemler ile nazal ve oküler yüzey flora mikrobiyotasındaki bu bakterilerin karakterizasyonu ile biyoaktivite ve enzimlerinin tanımlanmasını yapmak, yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş sağlıklı çocuklar karşılaştırmaktır. İkincil amacımız ise; sondalama işleminin başarısının, nazal ve oküler yüzey flora mikrobiyota ile ilişkisini değerlendirmektir. Bu çalışma ile sebebi henüz tam belirlenmemiş olan KNLKT’nin etiyolojisine ışık tutmayı, oküler yüzey ve nazal flora mikrobiyota özelliklerinin tedaviye yanıt ile ilişkisini belirlemeyi hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Lakrimal Sistem

Lakrimal sistem, salgılayıcı sistem ve drenaj sistemi olmak üzere iki bölüme ayrılır.

2.1.1. Lakrimal Salgılayıcı Sistem

2.1.1.1. Ana Gözyaşı Bezi (Lakrimal Bez)

Ana gözyaşı bezi (lakrimal bez), birincil işlevi gözyaşı filminin aköz kısmını salgılamak ve böylece oküler yüzeyi korumak olan iki loblu bir bezdir. Frontal kemiğin lakrimal fossası içinde anterior, superotemporal orbitada yer alır. Levator palpebra superioris tendonu, lakrimal bez ikiye böler: Palpebral lob ve ondan iki kat daha büyük orbital lob. Palpebral ve orbital loblardan gelen boşaltım kanalları superior konjonktival fornikse açılır. Lakrimal bez yaklaşık 20x25 mm boyutlarındadır ve palpebral lob 3 mm, orbital lob 5 mm kalınlığa sahiptir. Lakrimal bezin büyüklüğü minimal oranda bireysel farklılık gösterebilir. Lakrimal bez, histolojik olarak karışık seröz ve müsinöz asini, miyoepitelyal hücreler ve birbirine bağlı küçük kanalcıklardan oluşur [11].

Lakrimal bez, meme bezi ve tükürük bezi gibi bir ekzokrin bezdir. Lakrimal bez, birbirinden gevşek bağ dokusu ile ayrılan birçok lobül içerir. Her lobülde birçok asinüs ve intralobüler kanal bulunur. Bağ dokusu, interlobüler kanallar, damarlar, sinir lifleri, fibroblastlar, birçok plazma hücresi ve birkaç lenfosit içerir. İnterlobüler kanallar sonunda konjonktivanın forniksine açılan yaklaşık on iki adet boşaltım kanalı haline gelir [12].

Lakrimal bez, oftalmik arterin dalı olan lakrimal arter ile beslenirken, venöz dönüş kavernoöz sinüsten geçen superior oftalmik vene boşalan lakrimal ven ile olur. Gözyaşı bezi tarafından aköz salgılanma, parasempatik ve sempatik uyarım ile olur. Bez, ponstaki fasiyal sinirin lakrimatuar çekirdeğinden kaynaklanan lifler aracılığıyla parasempatik innervasyon alır. Presinaptik parasempatik lifler fasiyal sinirle genikülat gangliona giderler ve orada ayrılarak büyük petrosal siniri oluştururlar. Büyük petrosal sinir foramen lacerumdan geçer ve derin petrosal sinirle (superior servikal gangliondan gelen sempatik lifleri içeren) birleşerek pterygoid kanalın sinirini oluşturur. Bu sinir daha sonra pterygopalatin ganglionda sinaps yapar. Pterygopalatin gangliondan ayrılan postsinaptik parasempatik lifler, zigomatik ve zigomatikotemporal sinirleri oluşturur. Bu lifler maksiller sinirin lakrimal dalı ile birlikte hareket ederek lakrimal beze ulaşır. Lakrimal bezin sempatik innervasyonu superior servikal gangliondan kaynaklanır. Bu postsinaptik lifler, büyük petrosal sinire katılarak pterygoid kanalın sinirini oluşturmada önce internal karotid arter ile birlikte hareket eder. Bu sinir pterygopalatin gangliona ulaştığında sempatik lifler sinaps yapmaz ve lakrimal beze ulaşan parasempatik liflerle birlikte yol almaya devam eder. Gözyaşı bezinin duysal innervasyonu, oftalmik sinirin bir dalı olan lakrimal sinir yoluyla sağlanır [11]. Lakrimal bezin lenfatik drenajı ise konjonktival ve palpebral lenfatik sistem ile preauriküler lenf nodlarına olur.

2.1.1.2. Yardımcı Gözyaşı Bezleri

Yardımcı lakrimal bezler, konjonktivanın lamina propriyasında yer alır ve Krause ve Wolfring bezleri olarak iki anatomik gruba ayrılır. Her iki bez türü de canlı bireylerde tanımlanamayacak kadar küçüktür. Krause bezleri forniksin lamina propriyasında, Wolfring bezleri ise tarsın üst kenarında yer alır. Her iki bezin kanalları konjonktival yüzeye açılır. Temel olarak, yardımcı lakrimal bezler histolojik ve histokimyasal olarak ana gözyaşı bezi ile aynıdır. Yardımcı lakrimal bezlerin toplam gözyaşı hacmine ne kadar katkıda bulunduğu net değildir [12].

2.1.2. Lakrimal Drenaj Sistemi

Lakrimal drenaj sistemi üst ve alt lakrimal punktum, kanalikül, lakrimal kese ve nazolakrimal kanaldan oluşur. Lakrimal drenaj sistemi anatomik olarak üst ve alt bölümlere ayrılır:

Üst bölüm; punktum ve kanalikül

Alt bölüm; lakrimal kese ve nazolakrimal kanal

Gözyaşı, üst sisteme lakrimal punktumlardan girer.

2.1.2.1. Lakrimal Punktumlar

Lakrimal punktumlar, lakrimal drenaj sisteminin başlangıç noktasını oluştururlar. Punktumlar, göz kapaklarının mukokutanöz sınırında, medial kantal bölgenin 5-6 mm lateralinde hafif doku elevasyonu şeklinde (lakrimal papilla) 0.2-0.3 mm'lik açıklıklardır. Punktumlar, globa dönüktür ve gözyaşı ile temas halindedir, göz kapakları hafifçe evert edilirse görülebilirler [2, 13].

2.1.2.2. Lakrimal Kanalikül

Lakrimal kanaliküller, alt ve üst göz kapağındaki punktumları lakrimal keseye bağlayan kanallardır. Kanaliküllerin ilk kısmını alt ve üst göz kapağında punktumlardan göz kapağı kenarına dik uzanan 2 mm uzunluğunda hafif bir genişleme şeklindeki ampulla oluşturur. Ampulla mediale 90 derece dönerek inferior ve superior kanalikül haline gelir ve ortak kanaliküle ulaşmadan önce göz kapağı kenarı hizasında horizontal olarak 8-10 mm yol alır. Kanaliküller birleşerek 3-5 mm uzunluğundaki ortak bir kanalikülü oluşturur. Bu ortak kanalikül, lakrimal keseyi örten periorbitayı delerek ve kesenin lateralinden kese içerisine girer. Kanalikülün keseye girdiği açı, reflüyü önleyen fizyolojik bir kapak yapısı oluşturur [2, 13, 14]. Rosenmüller valvi, lakrimal keseden punktaya geri akışı önleyen tek yönlü bir valftir [14].

Kanaliküller, keratinize olmayan çok katlı yassı epitel ile örtülüdür [15]. Oftalmik arterin terminal dalları olan üst ve alt palpebral arterler kanalikülleri besler [2].

2.1.2.3. Lakrimal Kесе

Lakrimal kесе, medial orbital duvarın ön kısmındaki fossa içinde yer alır. Bu fossa, maksiller kemiğin frontal çıkıntısı ve lakrimal kemik tarafından oluşturulur. [13]. Lakrimal kесе, lakrimal fossada orbital septumun önünde kendi fasyası içinde yer alır. Maksiller kemiğin lakrimal kresti, lakrimal fossanın ön sınırını oluştururken lakrimal kemiğin lakrimal kresti, lakrimal fossanın arka sınırını oluşturur. Lakrimal ve maksiller kemikleri birleştiren sütür hattı, lakrimal fossanın medial sınırındır. Medial kantal tendonun 3-5 mm superiorunda yer alan kесе kısmı fundus olarak adlandırılırken altta kalan kısım kesenin gövdesini oluşturur [4]. Orbikularis oküli kasının tendinöz insersiyonları lakrimal keseyi anterior ve posteriordan bağlayarak gözyaşı hareketine yardımcı olur. Kesenin arkasında, orbikularis okülinin pretarsal ve preseptal kısımlarının derin başları yer alırken pretarsal ve preseptal kısımların yüzeysel başları, kesenin önünde lakrimal fossanın ön tepesine yapışır. Böylece bu insersiyonlar, gözyaşlarını sistem içinde ileriye doğru hareket ettirmek için lakrimal keseyi sıkıştırmaya yardımcı olur [2].

Gözyaşı kesesi 12-15 mm uzunluğunda, 2-3 mm genişliğinde, 4-6 mm derinliğindedir. Kesenin mukozal yüzü goblet hücrelerinden veya bir grup karakteristik intraepitelyal mukus bezinden oluşan çok katlı kolumnar epitel ile kaplıdır. Epitel hücrelerinde mikrovilluslar bulunur [15].

Lakrimal kesenin kan damarları; oftalmik arterin dalları, maksiller arter ve infraorbital arterdir. Venöz drenaj ise lamina propriadaki zengin venöz pleksus yolu ile anguler vene olur. İnervasyonu nazosiliyer sinirin infratroklear dalı ile sağlanmaktadır [16].

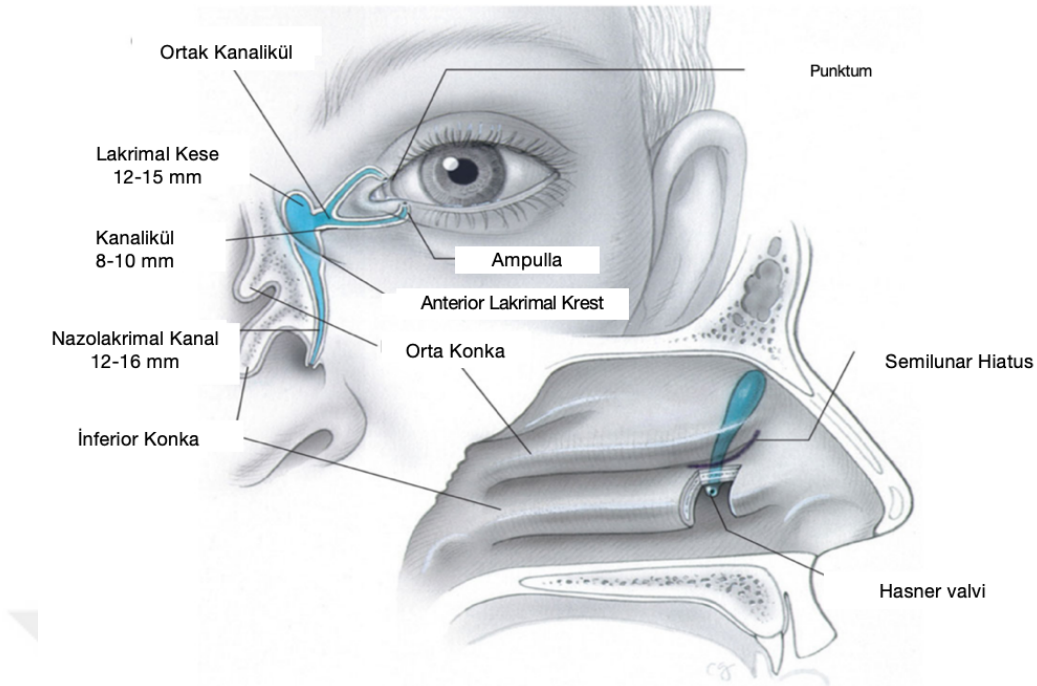
2.1.2.4 Nazolakrimal Kanal

Koronal düzlemde, lakrimal kanal, lakrimal keseden 15 ila 30 derecelik bir açıyla infero-posterior olarak uzanır. Midsagittal düzlemde, yaklaşık 5 derecelik bir açıyla infero-lateral olarak uzanır. İntraosseöz kanal maksiller kemiğin içinden geçer.

Medial sınırını üstte etmoid kemik ve altta alt konka oluşturur. Yaklaşık 12 mm uzunluğunda ve 3-5 mm genişliğindedir [2]. İnferior meatusta açıldığı delikte mukozal bir katlantı olan Hasner valvi yer alır. Hasner valvi, sıvının nazal kaviteden geriye doğru hareketini engeller [13].

Hasner valvi bölgesinde rezorbe olmamış bir membran varlığı gözyaşı drenaj bozukluğu ile karakterize KNLKT ile sonuçlanır [3]. Ostiyumun konumu değişkendir, ancak genellikle dış burun deliklerinin 25-35 mm arkasında ve burun tabanının 4-18 mm üzerindedir [2]. Lakrimal kanal lümeni, lakrimal kese ile benzer şekilde çok katlı kolumnar epitel ile çevrilmiştir [4]. Bu lümen dardır ve duvarı kese ile karşılaştırıldığında daha kalındır. Kanalin 2/3' ü duvarında venöz pleksus içerir. Kanal periost ile devamlı olan lakrimal fasya ile çevrilidir.

Nazolakrimal kanalın kanlanması oftalmik ve infraorbital arterler yoluyla olur [17]. Oftalmik arterin superior medial palpebral dalı gözyaşı kesesini, inferior medial palpebral dalı ise nazolakrimal kanalı besler. Fasiyal arterin angüler dalı hem keseyi hem gözyaşı kanalını beslerken, maksiller arterin infraorbital dalı gözyaşı kesesinin alt kısmı ve kanalın üst kısmını, sfenopalatin arterin nazal dalı ise kanalın alt kısmını beslemektedir. Venler ise aynı isim altında anguler ven ve oftalmik vene dökülür. Gözyaşı yollarının lenfatik drenajı ise submaksiller, retrofaringeal ve derin servikal lenf nodlarına olur. Nazolakrimal kanalın innervasyonu anterior etmoidal sinir (anterior nazal dalı) ve infratroklear sinir (anterior maksiller alveolar dalı) aracılığı ile olur [18]. Normal bir lakrimal drenaj sisteminin anatomisi Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Normal lakrimal drenaj sistemi anatomisi [19]

2.2. Lakrimal Drenaj Sistemi Embriyolojisi

Nazolakrimal kanal, gebeliğin yaklaşık beşinci haftasında oluşmaya başlar. Nazal ve maksiller çıkıntılar arasındaki bir olukta yer alan ektodermin lineer kalınlaşması olarak başlar. Bu kalınlaşma sonunda solid bir kordon haline gelir ve çevredeki mezenkim içine gömülür. Zamanla kord, lakrimal keseyi ve nazolakrimal kanalın başlangıcını oluşturacak şekilde kanalize olur. Kord, kantal alanda çatallanarak erken kanalikülleri oluşturur. Bu projeksiyonlar on ikinci haftada kapak sınırlarına ulaşır. Yedi aylık gebelikte, nazolakrimal kanal sisteminin papilla ve punktal kısımları patent ve tam olarak şekillenmiştir. Nazal lakrimal kanal sistemi, uzanımı boyunca eş zamanlı olarak kanalize olur. Bu süreç genellikle doğum anında tamamlanır. Kanalize edilecek son kısım nazal kavitenin alt meatusuna açılan açıklıktır. Kaudal ucun tam olarak kanalize olamaması sonucu KNLKT ortaya çıkar. Distal uç tıkanıklığı (Hasner valvi) doğumda infantların %50'sinde görülür. Hayatın ilk birkaç haftasında spontan kanalizasyon olur [20].

Doğumdan sonra, nazolakrimal kanal sisteminin boyutu, çevredeki yüz yapılarına göre artmaya devam eder. En fazla büyüme doğumdan sonraki ilk altı ayda gerçekleşir [2, 14].

2.3. Lakrimal Drenaj Sistem Fizyolojisi

Gözyaşı drenajının fizyolojisi tam olarak anlaşılamamıştır. Bu nedenle gözyaşı drenajını açıklamak için çeşitli mekanizmalar önerilmiştir. Yapılan çalışmalarda efferent gözyaşı kanallarının benzersiz anatomik konfigürasyonunu yansıtan birçok faktörün gözyaşı drenajında etkili olduğu gösterilmiştir. Bunlar, orbikularis okuli kasının kasılmasıyla işlev gören aktif bir lakrimal pompa mekanizması, sarmal olarak düzenlenmiş fibriler yapılardan oluşan bir sistem tarafından yönetilen "sıkma" mekanizması, epitelyal salgı ürünlerinin etkisi, kılcılık, yerçekimi, solunum, buharlaşma ve gözyaşı sıvısının efferent gözyaşı kanallarının yüzeyel epiteli yoluyla emilmesi gibi fiziksel faktörlerdir [21].

Yüz felci vakalarında epifora gözlemlenmesinden bu yana, aktif bir mekanizmanın lakrimal drenajda temel bir faktör olduğu kabul edilmiştir. Frieberg ve Rosengren bu aktif mekanizma için bir kanaliküler pompa konseptini öne sürmüştür [22-25]. Fernandez-Valencia ve Gomez Pellico lakrimal kesenin, orbikularis okuli kasının kasılması sırasında aktive olan iki kas vektörüne tabi olduğu sonucuna varmış, kas kasılırken lakrimal kesenin dilate olup fornixin yükseldiğini ve ön yüzü çektiğini, kasılma sona erdiğinde kesenin orjinal hacminine geri döndüğünü açıklamışlardır [26]. Brien ve Snell, konjonktival keseden lakrimal akışı iten ana ve muhtemelen tek kuvvetin, gözlerin kapanmasıyla ortaya çıkan pozitif basınç olduğunu öne sürmüştür [27]. Jones ise bunun aksine negatif basınç prensibine dayalı göz kırpması ile çalışan ve gözyaşı drenajından sorumlu olabilecek lakrimal pompa sistemi kavramını ortaya koymuştur [28, 29]. Büyük ölçüde anatomik değerlendirmelere dayanan bu teoriye göre, kapağın kapanması sırasında kanaliküller kısılır ve mediale doğru hareket ederken aynı zamanda lakrimal kese şişer. Bu hareket, negatif basınç oluşturarak gözyaşı sıvısının drenaj yoluna çekilmesini sağlar. Rosengren, göz kırpması hareketleri sırasında kanaliküllerin sıkıştırıldığını ve lakrimal keseye eşit

miktarda lakrimal sıvı akışının olduğunu göstermiştir [23]. Bu çalışmaya göre küçük kanaliküller kılcak borular gibi davranabilir. Gözyaşı kapillerite ile lakrimal punktaya çekilir ve göz kapaklarının kapanmasıyla preseptal kasın kasılması negatif bir basınç oluşturur ve gözyaşını lakrimal keseye çeker. Rohen ve Paulsen gözyaşının buruna ulaşmadan önce yüzeysel epitel tarafından emilimini araştırmıştır [30, 31]. Hurwitz, yerçekiminin gözyaşlarının taşınmasında önemli bir rolü olduğunu belirtmiştir [32]. Lakrimal kesede zengin venöz pleksusun kan damarları arasındaki kollajen demetleri ile elastik ve retiküler lifler sarmal bir düzende düzenlenir ve lakrimal kesenin forniksinden nazolakrimal kanalın çıkışına spiral olarak uzanır ve burada biyomekanik olarak gözyaşı çıkışına göz kırpma sırasında katkıda bulunur [33]. Göz kırpma ile orbikularis okuli kasının lakrimal kısmı kasılır. Kesenin forniksi kraniolateral yönde hareket eder. Bu nedenle, lakrimal kese genişler ve medial bağlantısı ile sarmal olarak düzenlenmiş fibriler yapıları nedeniyle pasif olarak "sıkılabilir". Venöz pleksus ve bu sarmal sisteme gömülü arterler, lakrimal sıvının emiliminde ve drenajında önemli bir rol oynayabilir [33, 34]. Kavernöz cisim olarak adlandırılan bu özel damar yapısı ile kan akışının değişimi lakrimal lümenin açılıp kapanmasına neden olur [33]. Aynı zamanda efferent gözyaşı kanalları, konjonktiva ve tükürük bezleriyle kısmen karşılaştırılabilir düzeyde ve geniş spektrumda müsin üretir. Efferent gözyaşı kanallarının müsin çeşitliliği, gözyaşı taşınmasını ve antimikrobiyal savunmayı arttırabilir. Epifora ile ilişkili olan lakrimal pasajın fonksiyonel olmayan bölümünde azalmış müsin mRNA seviyeleri, müsinlerin (galaktoz, N-asetil-glukozamin, fukoz, O-asetillenmiş ve O-asetillenmemiş sialik asitler, trefoil faktör ailesi [TFF] peptitleri) efferent gözyaşı kanallarından gözyaşı akışını kolaylaştırdığını düşündürür [35].

2.4. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı, pediatrik popülasyonda görülen nazolakrimal kanal drenaj sisteminde bozukluğun neden olduğu ve klinik olarak 'epifora' olarak da adlandırılan göz sulanması ile kendini gösteren bir hastalıktır [36].

Gözyaşı boşaltım sistemi, gözyaşının boşaltılmasından sorumludur. Doğumda nazolakrimal kanal drenaj sistemindeki tıkanıklık çoğunlukla nazolakrimal kanalın distal ucundaki Hasner valvinde yer alan bir membranın patolojik kalıcı varlığından kaynaklanır. Nazolakrimal kanalın, kanaliküllerin veya punktumların stenozu, punktum veya kanalikülün atrezisi ve nadiren tüm lakrimal drenaj sisteminin bozuk gelişimi dahil olmak üzere, lakrimal drenaj sisteminin diğer gelişimsel anormallikleri KNLKT'nin diğer nedenleri arasında gösterebilir. Ayrıca, prematür doğan bebeklerde bildirilen yüksek KNLKT prevalansı, nazolakrimal drenaj sisteminin intrauterin gelişiminin de önemli olduğunu göstermektedir [37].

Erken çocukluk döneminde nazolakrimal kanal tıkanıklığı insidansı %5-%20 arasında değişmektedir. MacEwen ve Young tarafından yapılan geniş, prospektif bir kohort çalışmasında, yaşamın ilk yılında KNLKT insidansı ve doğal seyri incelenmiş, çalışmada tüm bebeklerin %20'sinin nazolakrimal kanal sisteminde bir tıkanıklığa sahip olduğu ve tıkanıklıkların %96'sının tedavi olmaksızın bir yaşına kadar kendiliğinden düzeldiği görülmüştür [38].

Klinik olarak, KNLKT'li bebekler, doğal drenaj sistemi tıkalı olduğu için gözlerde aşırı gözyaşı veya mukoid akıntı ile başvururlar. Tıkanıklık, distal uçta Hasner valvinde ise mukopürülan bir akıntı ile; nazolakrimal keseye (Rosenmüller valvi) yakın ise daha sık olarak sulu bir akıntı ile karakterizedir. Genellikle tek taraflı olmakla birlikte, KNLKT vakaların %20'sinde iki taraflı olarak görülür [36].

Epifora her zaman nazolakrimal kanal tıkanıklığı anlamına gelmez, çünkü bu semptom, tahriş edici yabancı maddelere maruz kalma, göz kapağının uygunsuz pozisyonu, anormal kirpikler veya konjenital glokom gibi başka durumlarda da ortaya çıkabilir. Epifora ve akıntı göz kapaklarının derisinde maserasyona ve konjonktivite neden olabilir.

Dakriyosistose, KNLKT'ye eşlik edebilen hem distal nazolakrimal kanalın tıkanması hem de ana kanaliküllerin lakrimal keseye girmeden önce proksimal bükülmesi ile meydana gelebilen ve lakrimal kese içinde sekresyonların birikmesine neden olan spesifik bir tıkanıklık türüdür. Dakriyosistose olan bebekler

dakriyosistit adı verilen lakrimal kesenin sekonder enfeksiyonu riski altındadır. Bu nedenle, yakın takip ve acil tedavi gerektirir.

Yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda, KNLKT'li çocuklarda anizometropik ambliyopi prevalansının yüksek olduğu (%10-12) gösterilmiştir; bu nedenle KNLKT'li hastalarda en az 3-4 yıllık takip süresi ile sikloplejik refraksiyon dahil tam bir göz muayenesi yapılmalıdır [36].

2.4.1. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Risk Faktörleri

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığının etiyolojisinde genetik, maternal enfeksiyonlar ve gebelik sırasında radyasyona maruz kalma, ilaçlar veya gebelik sırasında bazı mesleki tehlikeler gibi birçok faktörün rol oynadığı ileri sürülmüştür [39]. Bir diğer önemli faktör de sezaryen ile ilk doğumdur. Sezaryen ile ilk doğumun, vajinal yol ile ilk doğumla karşılaştırıldığında KNLKT için daha fazla risk taşıdığı saptanmıştır [40]. Vajinal yol ile yapılan ilk doğumlarda KNLKT sıklığının daha az olmasının nedeni, 200 mmHg'ye kadar çıkabilen dış basıncın, nazolakrimal kanal distal ucundaki Hasner valvinde bulunan mukoza zarı üzerindeki fizyolojik etkilerine bağlanabilir. Bununla birlikte, sezaryen ile doğumdaki düşük dış basınç, Hasner valvinin açılması için yetersiz görünmektedir [40]. Vajinal doğumda daha az KNLKT görülmesinin bir başka nedeni ise, vajinal doğum sırasında fizyolojik olarak uterustan amniyotik sıvıya kollajenolitik enzimlerin salgılanması ve bu sıvının burundan aspire edilmesiyle Hasner valvinin enzimatik olarak rezorbe olması olabilir [40]. Aynı zamanda pozitif aile öyküsü de KNLKT için risk faktörü olarak görülmektedir [40]. Yine kraniyofasiyel anomaliler veya Down sendromu olan bebeklerde KNLKT insidansı yüksek bulunmuştur [41]. Başka bir çalışmada prematür doğan bebeklerde ve beyaz ırkta KNLKT insidansının daha yüksek olduğu saptanmıştır [37, 42].

2.4.2. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Teşhis ve Muayene Yöntemleri

2.4.2.1. Hikaye ve Gözlem

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan hastalar, doğumdan itibaren var olan epifora, tekrarlayan mukopürülan akıntı ve lakrimal kese üzerine uygulanan basınçla birlikte ortaya çıkan lakrimal kese içeriğinin reflüsü gibi belirtiler gösterir. Epifora durumunda, ayrıntılı ve amaca yönelik öykü ve fizik muayene esastır. Göz yaşarmasının süresi, sıklığı, tek veya iki taraflı oluşu ve gözyaşının görünümü sorgulanmalıdır. Medial kantal bölgede herhangi bir renk değişikliği ve distansiyon varlığına, punktum açıklığının değerlendirilmesi için göz kapağı kenarına bakılmalıdır. Oküler yüzeyin tahrişine neden olarak göz sulanmasına neden olabilecek blefarit, trikiyazis, korneal enfeksiyonlar (keratit), gözde yabancı cisim, göz kapağı anomalileri (epiblefaron, konjenital entropion) ve konjenital glokom ayrıca punktal agenezi veya atrezi, gelişimsel yüz anomalileri (yarık yüz) ve dermoid, ensefalosel gibi durumların varlığı değerlendirilmelidir. [43-45].

2.4.2.2. Boya Kaybolma Testi

Floresein kaybolma testi ile makroskopik olarak KNLKT tanısı koyulabilir. Floresein kaybolma testi, %90'lık bir hassasiyet ve %100'lük bir özgüllükle lakrimal kanal tıkanıklığını invaziv olmayan bir şekilde olarak güvenilir bir şekilde doğrulayabilir [45].

Tanı için şüphelenilen göze %2'lik floresein solüsyonu damlatıldıktan sonra gözyaşı film tabakasından floresein boyanın beş dakika içinde kaybolup kaybolmadığı değerlendirilir. Eğer beş dakika geçmesine rağmen floresein boya oküler yüzeyden temizlenmez ve göllenirse KNLKT tanısı koyulur [44, 45]. Şekil 2.2'de sağ KNLKT'si olan bir çocukta floresein kaybolma testi gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Sağ KNLKT’li çocukta floresein kaybolma testi [46]

2.4.2.3. Gözyaşı Kesesi Kompresyonu

İşaret parmağı veya pamuk uçlu aplikatör çubuğu ile lakrimal kese fossasının üzerine basınç kullanılarak, kanalikül ve punktaya doğru yukarı doğru hareketle ortaya çıkan herhangi bir mukus veya mukopürülan materyal, en yaygın olarak nazolakrimal kanalda olmak üzere bir tıkanıklığı gösterir [43].

2.4.2.4. Jones I ve Jones II Testi

Jones I testi, fizyolojik olarak konjonktival keseye damlatılan floresein boyanın inferior konkadaki varlığını pamuk uçlu çubuğu buraya yerleştirerek ikinci ve

beşinci dakikada değerlendirir. Pozitif test yani pamuk uçlu çubukta boyanma varlığı, patent ve fonksiyonel bir nazolakrimal drenaj sistemini gösterir ancak boya geçiş süreleri değişken olabilir ve yanlış negatif sonuçlar sıktır. Negatif bir Jones I testi yetersiz fizyolojik fonksiyon ile anatomik obstrüksiyon arasında ayrım yapamaz. Jones I testi negatifse, anatomik açıklığı doğrulamak için Jones II testi yapılabilir. Konjonktival kesede kalan boya temizlenir ve nazolakrimal sistem yoluyla berrak salin irrigé edilir. Burundan sıvı geçişi normal anatomiyi düşündürürken, floresein içeren reflü bir tıkanıklığı düşündürür. Yüksek yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları ve bu testleri gerçekleştirmenin teknik zorluğu nedeniyle, Jones I ve Jones II testleri nadiren kullanılmaktadır [43].

2.4.2.5. İrrigasyon

Nazolakrimal sistemin irrigasyonu, anatomik obstrüksiyonun değerlendirilmesinde sıklıkla altın standart olarak kabul edilir. Punktumlar dilate edilir ve lakrimal bir kanül kullanılarak salin enjekte edilir. Salin enjekte edilen aynı punktumdan geri akarsa, kanalikül seviyesinde bir tıkanıklık vardır. Salin karşı punktumdan geri akarsa, ortak kanalikülün distalinde bir tıkanıklık vardır. Burundan salin geçişi anatomik olarak açık bir sistemi gösterir. Kesin tıkanıklık tanısı koyduramayan bulgular kısmi bir tıkanıklığı veya daralmayı gösterir [43].

2.4.2.6. Dakriyosistogram

Nazolakrimal anormalliğin nedeni belirsiz ise bir dakriyosistogram kullanılabilir. Bu test entübasyonla başlar, ardından nazolakrimal sistemin radyoopak bir madde ile yıkanması ve ardından çoğunlukla dijital çıkarma tekniği kullanılarak yakalanan bir dizi görüntü ile devam eder. Her iki taraf da test edilir ve daralma, distansiyon, fistül, tıkanma veya diğer anatomik anomaliler açısından karşılaştırılır [43].

2.4.2.7. Nazal Endoskopi

Nazal endoskopi, ameliyattan önce veya ameliyat sırasında olduğu gibi, nazal anatomiye değerlendirmek üzere doğrudan görselleştirme elde etmek için yapılabilir [43].

2.4.2.7. Bilgisayarlı Tomografi ve Manyetik Rezonans Görüntüleme

Bilgisayarlı tomografi travma veya kraniyofasiyal deformiteler gibi şüpheli kemik anormalliklerinde kullanılabilir. Kraniyofasiyal malformasyonlar veya Down sendromu gibi durumlar, yüksek KNLKT prevalansı ile ilişkilidir [45].

Manyetik rezonans görüntüleme tipik olarak malignite gibi şüpheli yumuşak doku anormalliklerinde kullanılır [43].

2.4.3. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığı Tedavisi

Birçok çalışma, KNLKT'nin çoğu durumda yaşamın ilk yılında doğal olarak ve kendiliğinden düzelme eğiliminde olduğunu göstermiştir. Ancak bazı durumlarda bu bozukluk yaşamın ilk yılından sonra da devam edebilir ve bu nedenle KNLKT'nin yönetimi için başka yöntemlere ihtiyaç duyulur.

2.4.3.1. Medikal Tedavi

Konservatif yaklaşım, basit gözlem ve lakrimal kesenin masajından ve konjonktivit gibi bakteriyel bir enfeksiyon meydana geldiğinde topikal antibiyotiklerin uygulanmasından oluşur.

Gözlem

Yapılan çalışmalarda, ilk bir yaş içinde KNLKT'nin yüksek oranda (13 aylıkken %32-95 arasında) kendiliğinden düzeldiği gösterilmiştir [36]. On iki aylık olana kadar aylara göre spontan düzelme olasılıkları, üç aylıkken %80-90, altı aylıkken %68-75 ve dokuz aylıkken %36-57'dir. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan hastaların %14-33.8'inde bilateral semptomlar mevcuttur. Bunların tümü ya aynı anda kendiliğinden ya da kontralateral düzelmenin sonrasında üç ay içinde düzelir. Genel olarak tek taraflı KNLKT çift taraflı olanlara göre daha hızlı düzelmektedir [45].

Lakrimal Kese Masajı

Gözyaşı kesesine masaj, yalnızca gözlemlenilen çözüm şansını artırmak amacıyla yaygın olarak benimsenen konservatif bir tedavi yöntemidir. Bu manevra ilk olarak 1923'te Crigler tarafından geliştirilmiştir. Bu manevrada teknik, yukarı akışı engellemek için bir parmağı ortak kanalikül üzerine yerleştirmeyi ve ardından hidrostatik basıncı artırmak ve nazolakrimal kanalın buruna girişindeki zar yapısını açmaya çalışmak için lakrimal keseye doğru parmağı kaydırarak bastırmayı içerir [41].

Kushner ve ark. prospektif randomize bir çalışmada bu masajın etkinliğini göstermiştir. 132 çocuğun 175 gözünü Crigler tekniğine göre lakrimal masaj, yukarı doğru masaj ve en az bir ay boyunca masaj yapmamak üzere randomize edilmiş, Crigler tekniği ile gözlerin %31'inde semptomlar düzelirken, diğer gruplarda başarının %7-9 arasında kaldığı görülmüştür [47]. Hastaları daha uzun süre takip eden çoğu çalışma, topikal antibiyotikli veya antibiyotiksiz lakrimal masaj için %85 ile %95 arasında başarı oranları bildirmektedir [41].

Aynı şekilde Stolovitch ve ark. KNLKT'li 742 çocuktan oluşan bir grupta Crigler manevrasının klinik etkinliğini göstermiştir. Sonuçlarda, ilk denemeden sonra iki aydan küçük çocuklarda %56, iki-altı ay arası çocuklarda %46 ve altı aydan büyük çocuklarda %28 başarı oranı elde edilmiştir [48]. Bu nedenle, etkinliği, güvenliği ve yine de hastalar için iyi uyumu göz önüne alındığında, yazarlar Crigler manevrasını

altı aylıktan büyük çocuklarda bile KNLKT için birinci basamak konservatif yaklaşım olarak önermektedirler. Yine Pediatrik Göz Hastalığı Araştırma Grubu (PEDIG), 6-10 ay arasındaki 163 çocukta, hızlı ofis ortamında yapılan sondalama işlemi ile konservatif tedavinin maliyet-etkinliğini karşılaştırmış ve çocukların neredeyse üçte ikisinde tıkanıklığın cerrahi olmayan tedavi ile altı ayda çözüldüğünü ortaya koymuştur [49].

Kakizaki ve ark. yaptıkları çalışmada KNLKT'li dokuz aylık bebeklerde bile konservatif yaklaşımla %50'den fazla düzelme olabileceğini göstermiştir [50].

Ayrıca, Karti ve ark. yaptıkları çalışmada düzenli lakrimal kese masajı ile etkili bir şekilde tedavi edilen bebeklerde KNLKT'nin düzelme oranında, sık lakrimal kese masajı yapmayan bebeklerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmuştur (%96.2'ye karşı %77.7, $p = 0.001$) [51]. Bu sonuçlar, yüksek başarı oranı ve “bekle ve gör” yaklaşımının sağladığı ek fayda nedeniyle, rolü ebeveynlere vurgulanması gereken Crigler manevrasının önemini göstermektedir [36].

Antibiyotiklerin Rolü

Antibiyotik göz damlalarının KNLKT tedavisinde önemli bir klinik etkisi olduğuna dair bir kanıt yoktur. Özellikle prematüre bebeklerde antibiyotik damlalarının doğru olmayan kullanımı, bu bireylerin daha yüksek duyarlılığı göz önüne alındığında, nazolakrimal sistemde dirençli bakterilerin çoğalmasını kolaylaştırır. Öte yandan nazolakrimal drenaj sisteminin enfeksiyonu, intravenöz antibiyotik tedavisi ile acil hastaneye yatışı gerektiren orbital ve preseptal selülit gibi ciddi komplikasyonlara yol açabilir. Bu nedenle topikal antibiyotik tedavisi sadece pürülan akıntı semptomları veya konjonkvit gibi durumlarda kullanılmalıdır [36].

Sonuç olarak, çalışmaların çoğu antibiyotik tedavisinin KNLKT'nin konservatif tedavisinde yeri olmadığı konusunda yalnızca enfektif durumlarda kullanılmasında hemfikirdir [36].

2.4.3.2. Girişimsel Yöntemlerle Tedavi

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı, yönetiminde birinci basamak girişimsel yöntem, sondalama ile birlikte irigasyondan oluşur. Sondalamanın başarısız olması durumunda benimsenen diğer ikinci basamak stratejiler, tekrarlanan sondalama, silikon tüp entübasyonu ve lakrimal drenaj sisteminin balonla genişletilmesi ve son olarak dakriyosistorinostomidir [36, 45].

Yüksek Basınçlı İrrigasyon

Yüksek basınçlı irigasyon, lakrimal kese masajı gibi, tıkanıklığı çözmek için nazolakrimal sistemde pozitif basınç oluşturur ve bu nedenle KNLKT'nin konservatif ve invaziv yönetimi arasında bir ara prosedür olarak düşünülebilir [36].

Yapılan çalışmalarda, genel başarı oranının %33-100 arasında değiştiğini bildirilen bu teknik, lakrimal kanallara antibiyotikli veya antibiyotiksiz salin solüsyonu enjekte etmeyi içerir ve sondalamadan daha az invaziv olarak kabul edilir [52].

Alagöz ve ark. ilk denemede yüksek basınçlı irigasyonla, 7-12 aylık çocuklarda %81.8 ve 13-17 aylık çocuklarda %76.5'lik bir KNLKT düzelme oranı göstermiştir [53]. Ancak bu tedavi yöntemi sondalamaya göre daha az invaziv olsa da kanülle işlem sırasında lakrimal kanalikülde hasar meydana gelebilmekte ve kullanılan sıvılar pulmoner aspirasyona yol açabilmektedir [52].

Ayrıca Isaza ve ark. yaptıkları retrospektif bir çalışmada irigasyon ve sondalama birlikte yapıldığında elde edilen sonuçlara benzer şekilde irigasyonsuz sondalamanın da genel olarak başarılı olduğunu ortaya koymuştur [54]. Bu nedenle, kanıtların çoğunun öne sürdüğü gibi, yüksek basınçlı irigasyon, KNLKT için birinci basamak invaziv tedavi olan sondalamadan önce yardımcı bir prosedür olarak düşünülmelidir [36].

Sondalama

Araştırmacıların çoğu konservatif tedaviden sonraki bir sonraki müdahale olarak sondalama ve irrigasyonu önermektedir. Konservatif tedavinin yüksek başarı oranı nedeniyle, hastaların ne kadar süreyle konservatif olarak tedavi edilmesi gerektiği ve ne zaman ek müdahaleye başlanması gerektiği konusunda önemli tartışmalar vardır [41].

Son yıllarda, müdahalenin optimal zamanlaması hakkında iki farklı görüş tartışılmaktadır; ilki, potansiyel NLKT'nin uzun süreli kronik enflamasyonu nedeniyle fibrozis gelişimini önlemek için erken birincil sondalamayı (altı-dokuz ay) önerir. Sonraki çalışmalarda, KNLKT'li çocuklarda inflamasyon kaynaklı fibrozis oluşmadığı bulunmuştur. Bununla birlikte ikinci düşünce ekolü ise erken müdahale ile karşılaştırılabilir başarı oranları gösterdiğinden, geç sondalamayı (12 aydan sonra) önermektedir [36].

Yapılan birkaç çalışmada yaş ile birincil sondalamanın başarıları arasında bir ilişki bulunamamış olsa da çoğu araştırma 12-15 aydan sonra artan yaş ile birincil sondalamanın başarı oranları arasında negatif bir ilişki saptamıştır [55].

Özellikle bir yaş ve üzerindeki çocuklarda yapılan sondalamanın optimal sonuçlarını gösteren birçok çalışmada, 13-18 ay arasındaki çocuklarda %76.8-89.1 oranında ,18-24 ay arasındaki çocuklarda %54-88.6 , 24-36 ay arasındaki çocuklarda %33-71.7 oranında başarı olduğu gösterilmiştir [36]. Napier ve ark. cinsiyet, yaş ve tıkanıklığın karmaşıklığına bakılmaksızın birinci basamak müdahale olarak birincil sondalamanın başarı oranını %76 olarak bildirmiştir [56].

Nazolakrimal sistemin sondalanması, KNLKT'nin tedavisinde geleneksel olarak en yaygın olarak benimsenen cerrahi prosedürdür. Tıkanıklığı açmak için nazolakrimal sistemin distal kısmına bir prob geçirilmesini gerektiren bu işlem, muayenehanede sadece lokal anesteziklerle veya ameliyathanede genel anestezi altında yapılabilir. Teşhis kesin değilse, nazolakrimal obstrüksiyonun varlığını doğrulamak için işlemin başında irrigasyon yapılabilir. İşlem punktumun incelenmesiyle başlar. Alt punktum, punktum dilatatörü kullanılarak genişletilir. Bowman probu dilate alt punktumdan

dikey olarak geçirilir ve alt göz kapağı laterale doğru çekilir sonrasında prob lakrimal keseye doğru yatay olarak lakrimal kese fossasında (lakrimal kesenin üzerine oturduğu nazal kemik duvarında) sert sonlanma hissedilinceye kadar ilerletilir. Göz kapağına uygulanan lateral traksiyon bırakılır ve prob 90 derece döndürülerek aşağıya, posterior ve laterale doğru yönlendirilerek nazolakrimal kanaldan buruna doğru ilerletilir. Prob nazolakrimal kanalın ucundaki bir zardan geçerek burnun alt measına girerken bir patlama hissi hissedilebilir. Nazolakrimal sistemin patentliğini doğrulamak için irrigasyon tekrarlanabilir. Bazı araştırmacılar, burunda yeni oluşturulan açıklığın boyutunu en üst düzeye çıkarmak ve nazolakrimal sistemin stenotik kısımlarını rahatlatmak için prosedürü giderek daha büyük problemlerle tekrarlamayı savunur [41].

Prosedürün en yaygın komplikasyonu, yanlış pasajların oluşturulmasıdır. Bu komplikasyondan kaçınmak için, nazolakrimal sistemde şiddetli darlığı veya proksimal tıkanıklığı gösteren bir "yumuşak sonlanma" ile karşılaşılsa, prob yavaşça geri çekilmeli ve prosedür iptal edilmelidir [41]. Young ve ark. yaptıkları bir çalışmada sondalama sırasında oluşan yanlış pasajdan kaynaklı lakrimal punktuimlardan %20 oranında kanama olduğunu bildirmiştir [57].

Daha yakın zamanlarda, endoskopi yardımıyla nazal probleme, bu prosedürün başarı oranını artırmış ve aynı zamanda komplikasyon olasılığını azaltmıştır. Endoskopik teknik nazolakrimal sistemin doğrudan görülebilmesine ve kemik anormallikleri durumunda alt konkanın kırılmasına olanak tanır. Wallace ve arkadaşları lakrimal sistem sondalanması sırasında nazal endoskopi yapmış ve tıkanmanın distal nazolakrimal kanalda olduğu lakrimal sistemlerde %100 başarı oranı bildirmişlerdir [58]. Bu nedenle, bu müdahalenin gerektirdiği yüksek beceri ve invazivlik de göz önüne alınarak, endoskopi eşliğinde nazal sondalama KNLKT’li çocuklar için etkili bir ikinci basamak tedavi olarak düşünülmelidir [36].

Sonuç olarak, sondalama, KNLKT’nin yönetiminde ümit verici sonuçlar ortaya çıkarmıştır, ancak müdahalenin optimal zamanlaması hakkında açık bir tartışma halen devam etmektedir [36]. Genel olarak, <12 aylık çocuklar için konservatif tedaviler tercih edilirken 12 ay ve sonrasında semptomların şiddetine göre sondalama veya daha ileri konservatif tedaviler seçilir.

Tekrarlanan Sondalama

Sondalama başarısız olduğunda ve semptomlar yeniden ortaya çıktığında, ek tedavi için birkaç seçenek vardır. Bunlardan biri, sondalama prosedürünü tekrarlamaktır. Sondalama, son denemeden bir ay sonra tekrar edilebilir [45].

Bu bağlamda PEDIG (Pediatrik Göz Hastalığı Araştırma Grubu), çok merkezli, randomize olmayan, prospektif bir çalışmada tekrarlayan KNLKT'li 6-48 aylık çocuklarda tekrarlanan sondalamanın klinik etkinliğini analiz etmek için hastaları ameliyattan sonra sırasıyla bir ay ve altı ay sonrasında değerlendirmiştir. Altı aylık takip sonucunda, Katowitz ve ark. yaptıkları çalışmaya benzer şekilde ikincil sondalamada düzelme oranını 6-18 aylık çocuklarda %52 ve 18-24 aylık çocuklarda %18 olarak bulmuştur [59, 60]. Bu kanıt, ikincil sondalamanın başarı oranında önemli bir azalma olduğunu, muhtemelen bu durumun birincil prosedürün skatrisyel stenoz veya yanlış pasaj oluşumu gibi komplikasyonlarından kaynaklandığını göstermektedir [36].

Silikon Tüp Entübasyonu

Silikon tüplerle lakrimal yolların entübasyonu yetersiz konservatif tedavide, başarısız sondalamada veya striktür varlığında endikedir [52]. Silikon tüp, sondalama prosedüründen sonra yeni açık yol boyunca granülasyon dokusuyla ilişkili tıkanıklık oluşumunu önlemeye yardımcı olur ve lakrimal çıkış sisteminin stenotik segmentlerini genişletir. Teknik ilk olarak 1970 yılında Quickert ve Dryden tarafından tanımlanmıştır [41].

Nazolakrimal entübasyon, KNLKT'nin kalıcı düzeltilmesi için düşünülen, kanaliküllerden birine veya her ikisine bir silikon tüp stentin yerleştirilmesinden oluşan girişimsel bir tekniktir [36]. Kullanılan iki ana silikon tüp türü vardır: monokanaliküler (Mono Crawford, Monoka, Masterka) ve bikanaliküler (Crawford, Bika, Infant - Bika, Goldberg, Ritleng) [52].

İşlem genel anestezi altında yapılır. Burun, kokain veya adrenalin gibi vazokonstriktör ajanla doldurulur. Her iki ucundan metal problara tutturulmuş tek parça bir silikon boru üst ve alt punktumdan kanüle edilerek burun içine ilerletilir; her bir uç metal bir kanca kullanılarak alınır. Metal proplar kesildikten sonra tüp bağlanır ve burun boşluğuna geri çekilmesine izin verilir veya burnun yan duvarına dikilir. Üst ve alt punktum arasında küçük bir tüp halkası görülür ve bu halka tipik olarak rahatsızlığa neden olmaz [41].

Çalışmaların çoğu, başarısız sondalamadan sonra kompleks KNLKT'yi tedavi eden silikon entübasyonun %62-100 arasında başarılı olduğunu bildirmiştir. Lakrimal tüpler genellikle iki ila altı ay arasında değişken bir süre boyunca yerinde bırakılır; ancak büyük çocuklarda, üç aydan uzun entübasyon süresi daha yüksek bir başarı oranı göstermiştir [36]. Tüpler burundan sümkürme ile veya punktumdan çekme ile çıkarılabilir [41].

Alternatif cerrahi teknikler de tarif edilmiştir. Mauffray ve ark., işlevsel olarak daha büyük bir stent oluşturmak için lakrimal sistemden iki tüpün geçirildiği bir çift bikanaliküler entübasyon tekniğini tanımlamışlardır ve bu yöntemle önceki sondalamada başarısız olunan 10 hastanın sekizinde semptomlarda tam düzelme gözlemişlerdir [61].

Bikanaliküler entübasyona bir alternatif, sadece bir Monoka tüpüyle superior punktumdan monokanaliküler entübasyondur. Bu tekniğin avantajı, bu tip tüplerin ofis ortamında çıkarılmasının daha kolay olmasıdır; ancak bir çalışmadaki %79'luk başarı oranı, çoğu çalışmadaki bikanaliküler entübasyonun başarısından daha azdır ve tüm tüplerin neredeyse yarısının erken düştüğü gösterilmiştir [41].

Yine yapılan başka çalışmalarda Rajabi gibi bazı bilim adamları, bikanaliküler silikon tüp entübasyonun daha etkili olduğunu gösterirken, Lee veya Komínek gibi diğerleri, iki grup arasında anlamlı bir fark bulamamıştır [62]. Ayrıca monokanaliküler entübasyon ile ilgili olarak Andalib ve Rajabi, Monoka stent ile tedavide Masterka stentten daha iyi sonuçlar bildirmiştir [63, 64].

Bu prosedürün yaygın komplikasyonu, tüpün kopması sonucu serbest uçların kornea ile temas etmesidir. Bunun sonucunda kornea aşınması ve hatta kornea ülserasyonu oluşabilmektedir. Aynı zamanda kopmuş bir tüp burundan dışarı çıkabilir veya aspire edilebilir. Diğer komplikasyonlar arasında yanlış pasajların oluşturulması, punktumun erozyonu veya yarılması ve piyojenik granülomların oluşumu yer alır [41]

Normal anatominin korunması nedeniyle, silikon tüp entübasyon prosedürü, tipik olarak daha invaziv cerrahilerden önce önerilmektedir [41].

Alt Konkanın Kırılması

Alt konkanın kırılması, nazolakrimal kanalın ostiyumunun çevresinde darlık olan olgularda etkilidir. Ayrıca endoskopik cerrahi sırasında alt meatusun daha iyi görüntülenmesini sağlar [45]. Bu tekniğin tartışmalı bir etkinliği vardır. Attarzadeh ve Katowitz bu teknikle, yüksek bir başarı oranı bulmazken; Havins, alt nazal konkanın kırıldığı cerrahilerde başarısızlık olmadığını bildirmiştir [59, 65, 66].

Tek başına alt konkanın kırılmasının %83 başarılı olduğu bildirilirken alt konkanın kırılması ve sondalama kombinasyonunun başarı oranı, basit sondalamadan farklı bulunmamıştır [45].

Balon Katater Dilatasyon

Balon kateter dilatasyonu veya balon dakriyosistoplasti, nazolakrimal kanalı balon şişirme yoluyla genişletmeye çalışan yeni bir prosedürdür. Bu prosedürün dezavantajı yüksek maliyetli oluşudur bu nedenle kompleks KNLKT vakalarında tercih edilmelidir [36]. Bu yöntem ilk olarak 1966'da Becker ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır [41].

Bu teknik, nazolakrimal kanaldaki punktumdan sönmüş bir balonun tutturulmuş olduğu bir kılavuz telin sokulmasıyla gerçekleştirilir. Balon hafifçe sıvı ile şişirilir

ve oluşan basınç ile tıkalı kanal genişletilir ve açılır. Balon söndürülerek çıkarılır. Bu tekniğin başarı oranı %77'dir [52].

Hu ve ark., balon kateter dilatasyonunu, başarısız sondalama sonrası silikon entübasyonla karşılaştırmıştır (başarı oranları %64.7'e karşı %86.1). Epistaksis ve lakrimal kanal laserasyonu gibi komplikasyon oranları da daha düşük olan balon kateter dilatasyonun silikon tüp entübasyonuna alternatif olabileceği düşünülmüştür [67].

Tao ve ark. yaptıkları çalışmada önceki prosedürlerde başarısız olan hastalar da dahil olmak üzere %77'lik bir genel başarı oranı bildirmişlerdir [68]. Yüksel ve ark. çoğu daha önce işlem görmemiş 24 gözde %83 başarı oranı bildirmişlerdir [69].

Başarısız sondalamadan sonra 6-48 aylık 159 çocuğun dahil edildiği, randomize olmayan, prospektif, çok merkezli bir PEDIG (Pediatrik Göz Hastalığı Araştırma Grubu) çalışmasında, altı aylık takipte, balon kateter dilatasyonunda %77 oranında başarı oranı saptanırken silikon entübasyon ile %88 oranında başarı saptanmıştır [36].

Dakriyosistorinostomi

Tüm bu prosedürlerin sonuç vermediği veya komplike kemik tıkanıklığı, dakriyosistose ve dakriyosistit gibi klinik durumlar mevcut ise hastalar için son çare dakriyosistorinostomi (DSR) cerrahi prosedürüdür [36]

Dakriyosistorinostomi (DSR), gözyaşı akışı için alternatif bir yol sağlamak üzere lakrimal kese ile burun arasında bir yeni yol fistülü oluşturan bir prosedürdür. Burnun orta measına bitişik bir osteotomi oluşturulur, ardından lakrimal kese ve nazal mukoza anastomozu yapılır. Prosedür, medial kantusa yakın bir dış cilt insizyonu yoluyla veya endoskopik görselleştirme ile burun içinden gerçekleştirilebilir [52]. Çocuklarda iki cerrahi yaklaşımın başarı oranı nispeten aynıdır [52]. Endoskopik teknikler ile prosedürün başarı oranını artırmış ve eksternal yaklaşıma bağlı postoperatif komplikasyonları azaltmıştır [36].

Dakriyosistorinostomi (DSR) ile birlikte silikon tüp entübasyonu her iki yöntemde de sıklıkla uygulanmaktadır [41]. Nitekim Choung, DSR'yi silikon tüp entübasyonla birleştirmenin başarısızlığı önlediğini belirtirken, Pakdel bu tekniğin üstün olmadığını göstermiştir [70, 71].

Eksternal Dakriyosistorinostomi

Eksternal DSR prosedürü ilk olarak 1904'te Toti tarafından tarif edilmiştir. İşlem, lokal veya genel anestezi altında yapılır. Lokal anestezi için %2'lik jetokain ve %0.1 epinefrin içeren anestezik madde ile infraorbital ve infratroklear sinirler bloke edilir. Daha sonra kokain hidroklorid ve epinefrine doyurulmuş bir spanç orta konkanın ön ucuna yerleştirilir. İç kantüsün 8-10 mm kadar iç tarafına 15-25 mm uzunluğunda cilt insizyonu yapılır. Cilt ekartör ile angüler vene dikkat edilerek iki tarafa doğru açılır. Kesenin daha iyi görülebilmesi için daha sonra dikilmek üzere medial kantal tendon kesilir. Kese lakrimal fossadan disseke edilir ve ekartörle korunarak ön lakrimal krest ve lakrimal fossa duvarı 5-10 mm çapına kadar açılır. Ostiyum elde edildikten sonra ortaya çıkan burun mukozasına H veya T şeklinde insizyon yapılır. Lakrimal kese de bir kanülle kontrol edildikten sonra aynı şekilde insize edilir. Kese ve mukozadan oluşturulan flepler birbirlerine sütüre edilir. Cilt ve cilt altı suture edilir. Hemoraji dışında karşılaşılan en sık postoperatif komplikasyon osteotominin kapanmasıdır. Bu nedenle DSR ile birlikte silikon tüp entübasyonu hemen her zaman uygulanmalıdır [72].

Genel olarak, çocuklarda DSR için başarı oranı, yetişkinlerdeki başarı oranına benzer şekilde yaklaşık %85-95'tir. Welham ve Hughes, KNLKT, dakriyosistit ve travma dahil olmak üzere çeşitli endikasyonlar için gerçekleştirilen 160 pediatrik DSR'de %84'lük bir genel başarı oranı bildirmiştir [73]. Sadece KNLKT olan hastalar düşünüldüğünde başarı oranı %93'e çıkmaktadır [73]. Nowinski ve ark., KNLKT'li 17 hastada %88 başarı oranı bildirmiştir [74]. Hakin ve arkadaşları, toplam 258 vakada %88 başarı oranı ve kanalikül darlığı olan hastalar hariç tutulduğunda 177 vakada %96 başarı oranı bildirmiştir [75]. Barnes ve meslektaşları, KNLKT veya mukosel olan ve DSR yapılan 134 vakanın %96'sında semptomların tamamen düzeldiğini bildirmiştir [76].

Eksternal yaklaşımın ana dezavantajı, cilt insizyonu nedeniyle skar gelişme olasılığıdır [41].

Endoskopik Dakriyosistorinostomi

Burundan gözyaşı cerrahisinin ilk tanımları 1893'te Caldwell'den, 1910'da West'ten ve 1921'de Mosher'den gelmiştir [41]. Bu teknikte, eksternal DSR'nin tersi yönünde burundan girilerek önce orta konka ön kısmındaki mukoza kaldırılır sonrasında kese önündeki kemik yaklaşık 5-7 mm olacak şekilde çıkarılır. Keseye ulaşıldıktan sonra insizyon yapılarak flep oluşturulur ve eksternal DSR'de olduğu gibi proksimal lakrimal kanallardan silikon tüp geçirildikten sonra flepler birbirine sütüre edilir [72].

Cunningham ve Woog, dört pediatrik hastada endoskopik teknik kullanarak semptomların düzeldiğini bildirmiştir [77]. Wong ve ark. endoskopik DSR yapılan 6 hastanın beşinde başarı bildirmişlerdir [78]. Vanderveen ve arkadaşları, %88 başarı oranı bildirmişlerdir [79]. Kominek ve Cervenka 34 vakanın 28'inde başarı bildirmiştir [80]. Altı başarısız cerrahiden beşi, tek bir endoskopik revizyondan sonra başarıya ulaşmıştır. Genel olarak, çocuklarda endoskopik ve eksternal DSR cerrahisinin başarısı, yayınlanmış raporlarda benzer görünmektedir; ancak, çalışmalar arasındaki dahil etme kriterlerindeki farklılıklar, sonuçların doğrudan karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır [41].

Endoskopik DSR ile ciltte skar gelişme riski ve medial kantal anatomisinin bozulması önlenemez, ancak çocuklarda küçük burun deliklerinin neden olduğu zayıf görüntüleme ve ameliyat alanının kafa tabanına daha yakın olması nedeniyle pediatrik endoskopik prosedür teknik olarak zordur [45].

2.5. Mikrobiyom ve Mikrobiyota

Mikrobiyom, belirli bir doku üzerinde bulunan bakteri, mantar, virüs, protozoa ve ökaryotların genetik materyalinden oluşur. Mikrobiyata ise bu dokuları kolonize eden mikroorganizmalar topluluğudur. Son dönemlerde yapılan çalışmalar, mikrobiyomun/mikrobiyotanın insan vücudunun immünolojik durumunun düzenlenmesinde rol oynadığını göstermektedir. Mikrobiyom/mikrobiyotadaki değişiklikler, çevre, diyet, yaş ve cinsiyet dahil olmak üzere çeşitli faktörlerden kaynaklanabilir. Bu faktörler bağırsakta ve diğer mukozalarda ele alınmış olsa da, oküler yüzeydeki rolleri hakkında daha az şey bilinmektedir [81].

Günümüzde, bazı otoimmün hastalıklar da dahil olmak üzere, etyolojisi tam olarak anlaşılamamış pek çok hastalık, mikrobiyota bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir [82]. Atopik dermatit, kistik fibrozis, nekrotizan enterokolit, yarı damak, infantil kolik, süt alerjisi gibi pek çok konjenital (doğumsal) olan hastalıkta çeşitli bölgelerdeki mikrobiyomda değişiklikler gösterilmiştir. Mika ve ark. kistik fibrozisli infantlar ile sağlıklı kontrolleri karşılaştırarak yaptıkları bir çalışmada kistik fibrozisi olan infantlardaki nazal mikrobiyomun hastalık progresyonuna sebep olduğunu açığa çıkarmışlardır [83]. Wang ve ark.'nın biliyer atrezili çocuklarda yaptıkları bağırsak mikrobiyom çalışmasında ise bağırsak mikroflorasında dengesizlik (disbiyoz) saptamış olup biliyer atrezinin buna sebep olduğu kanısına varmışlardır [84]. Yine, pediatrik popülasyonda, nazal ve cilt mikrobiyotasının, atopik dermatitin ciddiyeti ile ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur [85, 86]. Yaşamın ilk üç ayında görülen infantil kolik, bağırsak inflamasyonu ve disbiyozisle ilişkisini gösteren çalışmalarla birlikte bu durumun tedavisinde probiyotiklerin kullanımı güncel bir hal almıştır ve çalışmalar hala devam etmektedir [87].

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığında, oküler ve nazal yüzeydeki mikrobiyal ajanların metabolik ve biyokimyasal olarak fonksiyonel analizlerinin yapıldığı bir çalışma literatürde mevcut değildir. Ancak, son yıllarda, başka hastalıklarda mikrobiyal ajanların metabolik fonksiyonlarını değerlendiren çalışmaların sayısı giderek artmaktadır. Örneğin; obezitede bağırsak mikrobiyomun *Faecalibacterium*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Coprococcus*, and *Methanobrevibacter*'den fakir olduğu ve bu bakterilerin patojenik bakterilerin biyofilm oluşturmalarını engelleyen

metabolik ürünlerden kısa zincirli yağ asitleri ve hidrojen peroksiti en çok üreten bakteriler olduğu gösterilmiştir [9]. Yine bir başka çalışmada, Respiratuar Sinsityal Virüs (RSV) veya Rinovirüs (RV) ile bronşiolit olarak hospitalize edilmiş çocuklarda yapılan bir çalışmada iki grupta farklı metabolik yolların enfeksiyona sebep olduğu gösterilmiştir. RV ile enfeksiyonda mikrobiyomda *Haemophilus influenzae* dominansı saptanıp buna bağlı olarak metabolik ürün olarak N-asetil aminoasitler artmış iken RSV ile enfeksiyonda mikrobiyomda *Streptococcus Pneumonia* dominansının çok daha fazla sayıda metabolik yolak ve metabolit oluşumuna sebep olduğu ve böylece hospitalizasyonda ve hastalık ciddiyetinde artışa neden olduğu saptanmıştır [88]. Bir başka çalışmada beyin mikrobiyomunun sağlık veya hastalık durumunda metabolik ürünlerinin etkisi araştırılmış, bebek davranışlarında *Bifidobacterium* ve *Prevotella* bakterilerinin triptofan ve kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) metabolik yollarının etkili olduğu; benzer şekilde dikkat eksikliği ve hiperaktivitede otizm-spektrum bozukluğunda bu triptofan ve KZYA yollarında değişikliklerin olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda şizofrenide beyin mikrobiyomunda baskın bakterilerin *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* olduğu ve triptofan, KZYA metabolik yollarında değişikliklerin olduğu, Anoreksia nevrozda *Escherichia coli*'nin ürettiği alfa-melanokortin stimule hormona benzeyen proteinin hastalığa sebep olduğu, depresyon ve anksiyetede ise *Faecalibacterium*'un azaldığı gösterilmiştir [89].

2.5.1. Pediatrik Yaş Grubunda Oküler Yüzey ve Nazal Mikrobiyoloji

Konjonktivanın mikrobiyal kolonizasyonu muhtemelen doğumdan hemen sonra başlar, ancak kolonizasyonun rahimde başlayabileceği de öne sürülmüştür. Doğumda, oküler yüzey florasının türlerinde ve sayısında çarpıcı bir değişiklik olur. Vajinal yolla doğan bebeklerde, sezaryen ile doğanlara göre daha fazla sayıda farklı bakteri türü bulunur. Doğumdan iki gün sonra alınan sürüntüler, doğum yönteminden bağımsız olarak sürekli pozitif hale gelir ve bu da kolonizasyonun ilerleyici bir süreç olduğunu gösterir. Coğrafi konum, beslenme ve çevre, takip eden haftalar ve aylarda oküler yüzey mikrobiyal florasını etkileyebilir. *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* ve *Propionibacterium sp.* gibi gram pozitif organizmalar kapaklar, kornea, konjonktiva ve gözyaşı filmi gibi yapılarda bol

miktarda olmasa da kommensal olarak rol oynayabilir. Mikrobiyotanın bileşimi yaşam boyunca oldukça stabil olabilir, ancak kontakt lens kullanımı, kozmetikler, koruyucu veya antibiyotik kullanımı, oküler cerrahi, enfeksiyonlar veya diğer oküler veya sistemik bozukluklar gibi dış etkenler florada önemli değişikliklere neden olabilir. Gram negatif bakteriler (*Haemophilus spp.*, *Neisseria spp.*, *Pseudomonas spp.*), daha az yaygın olan veya henüz tanımlanmamış mantarlar ve virüsler de oküler yüzey mikrobiyomunda enflamasyon veya enfeksiyon belirtileri minimal veya hiç olmaksızın bulunabilir. Daha da seyrek olarak, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Haemophilus influenzae* gibi patojenler enfekte olmayan bir oküler yüzeyin mikrobiyotasında bulunabilir. Bu bakteriler, katarakt sonrası endoftalmi ve kontakt lens ile ilişkili keratit gibi ciddi enfeksiyonlardan sorumlu olabilir [90].

Vajinal doğumdan hemen sonra konjonktivanın kültüre edilebilir mikrobiyotası incelendiğinde, serviks ile benzer mikrobiyotadan oluştuğu, yani ağırlıklı olarak *Haemophilus vaginalis*, *Streptococcus viridans*, *Staphylococcus epidermidis*, *Micrococcus sp.*, *Bacillus sp.*, diphtheroids, *Bacteriodes*, *Propionibacterium acnes*, *Peptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Gardnerella sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Bifidobacteria sp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida sp.* olduğu görülmüştür [5].

Sezaryen yoluyla doğan bebeklerin mikrobiyomunun anne cildine ve hastane ortamına benzer ve daha az çeşitli olduğu, çoğunlukla *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Clostridium*'dan oluştuğu belirlenmiştir. Sezaryen ile doğan bebeklerde çeşitli antibiyotiklere dirençli ve hastane ortamında endemik olan *Staphylococcus*, *Clostridium*, *Klebsiella*, *Enterobacter* ve *Enterococcus* türleri de daha sık bulunmaktadır. Araştırmalar, sezaryenlerin yenidoğanlarda mikrobiyotanın olgunlaşma modellerini değiştirerek antibiyotik kullanımına benzer etkilere neden olduğunu göstermektedir [91].

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı etyolojisini araştıran bazı çalışmalarda, doğum şeklinin etkisi değerlendirilmiştir. 2018 yılında yapılan retrospektif bir çalışmada, 104 KNLKT'li hastanın %61'inin sezaryen ile doğduğu, sezaryen ile doğan term bebeklerin tüm diğer bebekler içerisinde KNLKT için %55 daha riskli

olduğu, KNLKT'nin 50 hastada kendiliğinden düzelmediği bu hastaların 37'sinin (%74) sezaryen ile 13'ünün (%26) vajinal yol ile doğduğu saptanmıştır. Bu hastalar içerisinde sondalama işleminin başarısız olduğu hastaların %86.2'sinin sezaryen ile %13.8'inin vajinal yol ile doğduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak bu çalışmada sezaryenin gestasyonel yaştan bağımsız olarak (prematür veya term) KNLKT için risk faktörü olduğu ve ek cerrahi girişimler gerektirdiği rapor edilmiştir [90]. Bu veriler ışığında, doğum şeklinin KNLKT üzerindeki etkisi mikrobiyom farklılığı ile ilişkili olabilir.

Onsekiz yaş altı çocuklarda oküler florada en bol bulunan ilk beş filum (çokluk sırasına göre): Firmicutes, Proteobacteria, Actinobacteria, Cyanobacteria ve Bacteroidetes, en bol bulunan yedi aile ise (çokluk sırasına göre): Staphylococcaceae, Streptococcaceae, Corynebacteriaceae, Moraxellaceae, Enterobacteriaceae, Oceanospirillaceae ve Bacillaceae olduğu görülmüştür. Sağ ve sol göz arasında flora farklılığı bulunmadığı saptanmıştır. İlk üç aile düzeyinde bakteri sınıfının orantılı bolluğu gözler arasında benzer saptanmıştır (sağ göze karşı sol göz): Staphylococcaceae (57.8'e karşı 55.1), Streptococcaceae (12.7'ye karşı 21) ve Corynebacteriaceae (8.76'ya karşı 3.73). Altı aydan büyük bebeklerin oküler flora çeşitliliğinin altı aydan küçük bebeklere göre daha fazla olduğu, altı aydan büyük bebeklerde, Oceanospirillaceae, Listeriaceae, Psychomonadaceae ve Leuconostocaceae gibi mikrorganizmaların küçük bebeklere göre daha fazla bulunduğu görülmüştür. Oküler yüzey mikrobiyomu nazal ve boğaz mikrobiyomu ile karşılaştırıldığında nazal mikrobiyom ile daha fazla benzerlik gösterdiği görülmüştür [92]. Tablo 2.1'de 18 yaş altı sağlıklı çocukların konjonktiva, kapak kenarı ve perioküler cilt mikrobiyom özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.1. 18 yaş altı sağlıklı çocuklarda filum seviyesinde mikrobiom kompozisyonu [81]

Konjonktiva (%)	Kapak kenarı (%)	Periokuler cilt (%)
Proteobacteria (57)	Firmicutes (53)	Firmicutes (45)
Firmicutes (17)	Bacteroidetes (19)	Proteobacteria (35)
Bacteroidetes (13)	Proteobacteria (17)	Bacteroidetes (13)
Actinobacteria (11)	Tenericutes (7)	Actinobacteria (5)
	Actinobacteria (3)	Fusobacteria (1.7)

Son araştırmalar, nazal pasajların epitel yüzeylerinde yaşayan mikrobiyal toplulukların, hem patojenlere karşı direnci hem de immünolojik cevapları etkileyerek sağlıklı bir mikroçevrenin korunmasında kilit bir faktör olduğunu göstermektedir. Bebeklerin burun pasajlarının bakteriyel mikrobiyotasında *Moraxella* (*Moraxellaceae*, *Proteobacteria*), *Streptococcus* (*Streptococcaceae*, *Firmicutes*), *Haemophilus* (*Pasteurellaceae*, *Proteobacteria*), *Staphylococcus* (*Staphylococcaceae*, *Firmicutes*) ve *Corynebacterium* (*Corynebacteriaceae*, *Actinobacteria*) cinsleri (aile, filum) yüksek oranda bulunurken bazı çalışmalarda *Dolosigranulum* (*Carnbacteriaceae*, *Firmicutes*) ve diğer birkaç cinsin de olduğu belirtilmiştir. Nazal bakteriyel mikrobiyota da insan ömrü boyunca belirgin değişiklikler gösterir ve viral ve bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılık ve immünolojik denge bozuklukları gibi hem kısa hem de uzun vadeli sağlık durumlarıyla ilişkilendirilebilir. Yapılan çalışmalarda, nazal mikrobiyomun yaşamın ilk yılı ve sonrasında, çevresel ve konağa ait faktörlerden etkilendiğini bunlarla ilişkili olarak doğum şeklinin veya beslenmenin (anne sütü veya mama ile) de nazal mikrobiyomu etkilediğini göstermiştir. Yapılan başka bir çalışmada, sezaryen ile doğan bebeklerde nazal pasaj mikrobiyota gelişmesinde gecikme ve *Corynebacterium* ve *Dolosigranulum* kolonizasyonunda azalma saptanırken başka bir çalışmada sezaryen doğumda nazal pasajda mikrobiyal topluluğun zengin olduğu saptanmıştır[93].

Amerika’da yapılan bir çalışmada doğumun ilk gününde doğum şeklinden bağımsız olarak, burun deliklerinde *Propionibacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*,

Staphylococcus ve Corynebacterium yüksek yoğunlukta ve göreceli olarak Lactobacillus and Propionibacterium az yoğunlukta, Moraxella, Staphylococcus ve Corynebacterium ise ilk altı hafta içinde artan yoğunlukta saptanmıştır. Bu çalışmalara göre, doğumda doğum yoluna bağlı olarak bakteriyel mikrobiyota bileşimindeki küçük farklılıklar eğer varsa, geçicidir ve altı haftada kaybolmaktadır [93].

2.5.2. Konjenital Nazolakrimal Kanal Tıkanıklığında Mikrobiyoloji

Literatürde, nazolakrimal kanal hastalıklarında yapılmış mikrobiyolojik çalışmalar bulunmaktadır:

Deangelis ve ark. kazanılmış nazolakrimal kanal tıkanıklığı (NLKT) olan erişkinlerde yaptıkları mikrobiyolojik incelemede en sık (%78.5) gram pozitif mikroorganizmalar, bunlar içerisinde de sıklık sırasına göre *Staphylococcus Epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* saptamıştır. Yine bu çalışmada *Pseudomonas sp.* saptanan en yaygın gram negatif izolat iken bunu *Haemophilus sp.* onu takip etmiştir [94].

Bir başka çalışmada, Pornpanich ve ark. yine kazanılmış NLKT'li erişkinlerde en sık gram pozitif bakterileri, bunların içinde en sık koagülaz negatif stafilokokları (%27.8) saptamıştır [95].

Erişkin kazanılmış NLKT'nin yanında, konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olgularında da mikrobiyolojik çalışmalar mevcuttur.

Kuchar ve ark. KNLKT'li bebeklerde yaptıkları çalışmada mukopürülan akıntının bakteriyolojisinde %35.4 *Streptococcus pneumoniae*, %19.6 *Haemophilus influenzae* saptamıştır [96].

Yine Hindistan'da, Madan ve ark. KNLKT'de gram negatif organizmaları, gram pozitiflere göre daha fazla saptamışlardır. Kültür sonuçlarında en sık *Haemophilus*

influenzae (%40.5) ve *Streptococcus pneumoniae* (%26.8) saptanırken bunu *Moraxella catarrhalis* (%13.7), *Staphylococcus aureus* (%12.3), *Pseudomonas aeruginosa* 'nın (%0.65) takip ettiği görülmüştür [97].

Usha ve ark. KNLKT'li olgularda yaptıkları çalışmada en sık gram pozitif bakterileri, bunlar içinde de en sık *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus viridans*'ı saptamıştır. İzolatların %43'ünde gram negatif bakterileri yine bunların içinde de en sık gram negatif *Haemophilus influenza* izole edilmiştir. Örneklerde bir adet mantar izolatu *Candida tropicalis* (%0.5) saptanmıştır. İki yaşından küçük çocuklarda gram pozitif organizmalar, iki yaşından büyük çocuklarda gram negatif organizmalar baskın olarak saptanmıştır [1].

Bir diğer çalışmada KNLKT olan hastalardaki farklı mikroorganizmaların NLKT-kanal darlığını arttırmadaki rolü ile sondalama veya silikon entübasyon tedavi yöntemlerinin başarısı üzerine etkisi araştırılmıştır. Çalışmada gram pozitif ve gram negatif türler eşit olarak saptanmıştır. En çok *Streptococcus pneumoniae* ve *Hemophilus influenzae* (%48.1 ve %39.2) saptanmıştır. Sert-dar KNLKT'de *Serratia marcescens* (%100) ve *Staphylococcus aureus* (%33.3) yaygın bulunurken *Staphylococcus aureus* varlığında sondalama %37.5 oranında başarılı olurken silikon tüp entübasyonunun %100 başarılı olduğu saptanmıştır. Görüldüğü gibi, mikrobiyolojik analizler, hastalıkların sadece tanısında değil tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde de faydalı bilgiler sağlamaktadır [98].

Cevher ve ark. KNLKT'li olgularda yaptıkları mikrobiyolojik incelemede, örneklerin %65'inde kültür sonucu pozitif bulmuştur. İzole edilen mikroorganizmaların %85.2'si gram pozitif, %14.8'i gram negatif olarak belirlenmiştir. *Streptococcus pneumoniae* (%29.6) ve *Staphylococcus aureus* (%11.1) en fazla izole edilen mikroorganizmalardır. [10].

Zheng ve ark. tek taraflı KNLKT'li Çinli bebeklerde yaptıkları mikrobiyolojik incelemede örneklerin %87.5'inin kültürünü pozitif saptamıştır. Bir yaş altı KNLKT olan bebeklerde gram pozitif olarak Streptokok; gram negatif olarak *Haemophilus* baskın olarak bulunmuştur [99]. Tablo 2.2'de literatürde KNLKT ile ilgili yapılan

mikrobiyom çalışmalarında saptanan patojen mikroorganizma sonuçları verilmiştir (EK-1).

Yukarıda bahsedilen tüm çalışmalarda, mikrobiyolojik incelemeler konvansiyonel yöntem olarak tanımlanan kültür yöntemi ile yapılmıştır. Mikroorganizmaların kültüre edilmesi, mikrobiyal çalışmalarda kullanılan yaygın bir mikrobiyolojik yöntemdir. Ancak, geleneksel kültür yöntemi, sadece kültüre edilebilir türler ile çalışmaya imkân verir. Bu sebeple kültür yöntemi ile geniş bir filogenetik yelpazede araştırma yapılması mümkün değildir. Ayrıca, örnek alımı sırasında kontaminasyon olması, geleneksel yöntemler ile elde edilen sonuçları etkilemektedir.

Konvansiyonel kültür yöntemi ile mikroorganizmaların saptanabilmesi için mikroorganizmanın ortamda yüksek yoğunlukta olması, uygun yöntemlerle taşınarak kültür ortamına ekilmesi ve üreyerek çoğaltılabilmesi için belirli bir süre beklenmesi gerekmektedir. Ayrıca geleneksel kültür yöntemi ile elde edilen örneklerde izole edilebilen mikroorganizma çeşitliliğinin daha az olduğu bilinmektedir. Kontaminasyona bağlı yanlış mikroorganizma saptanması ile yanlış antibiyotik kullanımı ve buna bağlı antibiyotik direnci oluşumu önemli dezavantajlarından biridir [86, 100].

Yukarıda özetlediğimiz sebeplerden dolayı, 21. yüzyılın sonuna doğru, mikrobiyolojik analizlerde kültür bağımlı yaklaşımlardan çok, canlı bakteri hücrelerine ihtiyaç duymayan kültür bağımsız moleküler yöntemler ön plana çıkmıştır. Kültür bağımsız yöntemler, tek tek kültüre edilen mikroorganizmalardan ziyade, örnekten direkt izole edilen DNA'nın analiz edildiği yöntemlerdir. Kültür bağımsız yöntemler, esas olarak polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) temelli analizlerdir [86, 101].

Kültüre dayalı çalışmalarda, kazanılmış NLKT olan erişkin hastaların yaklaşık %47-73'ünde Stafilokok varlığı saptandıktan sonra 2020 yılında erişkinlerde yapılan bir çalışmada, DSR yapılan kazanılmış NLKT'li hastaların sinonazal ve lakrimal mikrobiyomları 16S-amplifikasyon PZR yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, *Corinebakterium*'un NLKT'li hastalarda daha düşük oranda bulunduğu gözlenmiştir (%37.6 ve %65.1). Tüm bu veriler sonucunda değişen mikrobiyomun NLKT gelişimiyle ilgili olabileceği NLKT için bir risk faktörü veya NLKT'nin bir

sonucu olabileceğini düşündürmüştür [102]. Bu çalışma, erişkinlerde kazanılmış KNLKT'nin sebeplerini anlamaya yönelik bir çalışmadır. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan çocuklarda da etyolojiyi anlamaya yönelik benzer bir çalışmaya ihtiyaç vardır.

2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

Moleküler biyolojideki en önemli devrim niteliğindeki tekniklerden biri olan PZR, ilk olarak 1971'de Kleppe ve Khorana tarafından tanımlanmış ve ilk olarak 1983'te Kary Mullis tarafından pratik olarak gösterilmiştir [103].

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), DNA parmak izi, genetik bozuklukların teşhisi, kanserle ilişkili genlerin tespiti, doku tiplmesi ve nakil donör seçimi, filogenetik analiz, moleküler epidemiyolojik çalışmalar ve varyant türler ve ilaç direnci genotiplmesi, patojenik mikroorganizmalara bağlı enfeksiyonların teşhisi dahil olmak üzere çok sayıda uygulama için kullanılır [104].

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), tekniği, çok küçük miktarlarda şablon DNA'dan seçilen boyut ve sekansta büyük miktarlarda spesifik DNA parçalarının in vitro üretilmesi için güçlü ve yeni bir yöntemdir. Bu teknik, tek bir DNA molekülünü birkaç saat içinde seçici olarak birkaç milyar kat çoğaltabilir. Bu çoğaltma işleminden sonra, araştırmacılar, DNA moleküllerinin içinde gömülü olan bilgileri deşifre etmek için köklü rekombinant DNA tekniklerini uygulayabilirler [105].

Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), çoğu canlı hücrede bulunan DNA replikasyonu ile hemen hemen aynı olan bir biyokimyasal reaksiyondur. Bir PCR reaksiyonunun dört ana bileşeni vardır: primerler, DNA şablonu, termostabil DNA polimeraz ve nükleotidler (dNTP'ler). Primerler, amplifiye etmek istediğiniz DNA parçasının uçlarını tamamlayan, özel olarak tasarlanmış kısa oligonükleotitlerdir. Şablon DNA, reaksiyon için başlangıç materyalini sağlar ve amplifiye etmek istediğiniz DNA bölgesini içerir. RT-PCR durumunda şablon, RNA'dan yapılan cDNA (halkasal DNA)'dır. Tek sarmallı bir DNA yapısı (ssDNA) olan cDNA dizisi daha sonra orijinal RNA'nın çift sarmallı bir DNA (dsDNA) kopyasını üretmek için şablon

görevi görür. Termostabil DNA polimeraz, birçok kez tekrarlanan bir döngüde primerler olarak oligonükleotitleri kullanarak DNA'yı kopyalar ve bu da DNA'nın primerler arasında üstel amplifikasyonu ile sonuçlanır. Bu, primerler ve/veya serbest nükleotidler bitene kadar veya çift sarmallı DNA, reaksiyonu inhibe edici bir konsantrasyona ulaşana kadar devam edebilir [104, 106].

PCR işlemi üç aşamadan oluşur. PCR amplifikasyon işleminin ilk aşaması, tek sarmallı DNA (ssDNA) oluşturmak için çift sarmallı DNA'nın (dsDNA) yüksek sıcaklıklarda (tipik olarak 90–95 °C) ayrılmasıdır (denatürasyon). Sonraki diziye özgü primerler, düşük sıcaklıklarda (50–65 °C) elde edilen ssDNA moleküllerine bağlanır. Son olarak primerler, orijinal DNA'nın kopyalarını (~72 °C'de) oluşturmak için enzimatik olarak uzatılır. Bu aşamalar tekrarlandığında, DNA konsantrasyonu önemli ölçüde artar [107].

İstenen ürünün yapıldığını doğrulamak için PZR reaksiyonu analiz edilmelidir. Bu en yaygın olarak bir agaroz jel kullanılarak yapılır. Bazı uygulamalar için dizileme de kullanılır.

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Araştırmanın Tasarımı

Bu çalışma, T.C. Sağlık Bakanlığı Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Oküloplastik Birimi'nde Ekim 2022 ve Şubat 2023 tarihleri arasında prospektif vaka kontrol çalışması olarak yapıldı.

3.2. Etik Kurul

Çalışma Helsinki Bildirgesine göre planlanıp tamamlandı. Çalışma için Ankara Şehir Hastanesi 1 nolu Etik Kurulu'nun 19/10/2022 tarihli ve E1-22-2988 sayılı etik kurul onayı alındı. Tüm olgulara çalışma kapsamı ve amacı açıklanarak aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

3.3. Hasta Seçimi ve Kriterleri

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi Oküloplastik Cerrahi Birimi'nde KNLKT tanısı konulan, ilk bir yılda masaj tedavisine yanıt vermediği için sondalama işlemine karar verilen çocuklar çalışmaya dahil edildi.

Sondalama işlemi yapılan 26 hastanın nazolakrimal kanalın tıkalı olduğu taraftaki 52 gözü (tıkalı ve sağlam taraf) ve 52 burun deliği (tıkalı ve sağlam taraf) çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak ise yaş ve cinsiyet olarak eşleştirilmiş, solunum sistemi, nazal flora ve oküler yüzey florasını etkileme ihtimali olan bir hastalığı bulunmayan, tek taraflı şaşılık ya da tek taraflı göz kapağı düşüklüğü nedeniyle cerrahi uygulanan 26 sağlıklı gönüllünün ameliyat edilmeyen gözleri (26 göz) ve aynı taraf burun deliği (26 burun deliği) dahil edildi.

Son bir ay içinde topikal veya sistemik antibiyotik kullanmış olan, KNLKT için daha öncesinde herhangi bir cerrahi girişim yapılmış olan veya son bir ay içinde üst

solunum yolu enfeksiyonu ve akut konjonktivit geçirmiş olan, nazal sprey kullanım hikayesi olan, allerjik rinit öyküsü bulunan olgular ve sendromik olgular çalışmaya dahil edilmedi.

Sondalama işlemi öncesinde çalışmaya dahil edilen tüm olguların doğum şekilleri, sistemik hastalıkları sorgulandı. Hasta grubundaki olgular için, daha önce uyguladıkları masaj tedavisi, süresi ve diğer tedaviler sorgulanarak ailelerinden detaylı anamnez alındı. Öncelikle, gözyaşı menisküsü düzeyleri inspeksiyonla değerlendirildi, lakrimal keseye bastırılarak punktumlardan gözyaşı reflüsünün olup olmadığına bakıldı ve diğer tam oftalmolojik muayeneleri yapıldı. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı tanısı floresein kaybolma testi yapılarak konuldu. Bunun için, tüm olgulara, anestezi damla damlatılmasını takiben her iki göze floresein damlatıldıktan beş dakika sonra hastalar değerlendirildi. Olguların göz yüzeyinde ve alt forniksinde floresein boyanın görülmesi (göllenmesi) ile o taraftaki nazolakrimal kanalın tıkalı olduğu kararı verildi. Bunun üzerine ailelere bilgi verilerek ve onamları alınarak bu olgularda tedavi amaçlı sondalama işlemine karar verildi.

3.4. Değerlendirilen Parametreler

Tüm olgularda, yaş, cinsiyet, doğum şekli (vajinal veya sezaryen), doğum haftası ve sondalama işleminin başarısı kaydedildi.

Her iki grup arasında oküler yüzey ve nazal mukozadaki beş mikroorganizmanın (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis*) oransal farklılığı ve yine bu bakterilerin ürettikleri metabolitler değerlendirildi.

3.5. Örneklerin Toplanması

Sondalama işlemi olgulara maske anestezisi verilerek yapıldı. Anestezi uygulandıktan hemen sonra pamuk uçlu steril kültür çubukları ile önce her iki oküler yüzeyden punktumlara yakın alt forniks konjonktivasına, daha sonra her iki burun içerisinde alt konka hizasından mukozaya değdirilerek birkaç yumuşak sürme hareketi ile örnekler alındı ve bu pamuklu çubuklar, kendilerine ait olan tüplere yerleştirilerek DNA/RNA Shield solüsyonunun içine konuldu. Daha sonra sondalama işlemine geçildi. Bowman probu ile punktumlar dilate edildikten sonra metal prob punktumlardan ilerletilerek nazolakrimal kanalın alt konka hizasında açıldığı yere kadar ilerletildi. Bu sayede tıkalı olduğu düşünülen nazolakrimal kanalın metal prob ile dilate edilerek açılması sağlandı. İşlem sırasında, nazolakrimal kanalın durumu ile ilgili (punktumların ve kanaliküllerin durumu, kanalın patent olması, membranöz tıkanıklık, kemik tıkanıklık gibi) bilgiler hastanın dosyasına kaydedildi.

Olgulara işlem sonrası 1 hafta boyunca günde 4 kere birer damla damlatılması şeklinde rutin topikal oküler antibiyotik ve steroid kombinasyonlu damla (%0.3 netilmisin+ %0.1 deksametazon) önerildi ve olgular 10 gün sonra kontrole çağırılarak göz sulanmalarının devam edip etmediği ailelere sorularak bilgi alındı. Nazolakrimal kanalın durumu floresein kaybolma testi ile tekrar değerlendirildi.

Kontrol grubunda ise ilgili cerrahi için anestezi uygulandıktan sonra pamuk uçlu steril kültür çubukları ile ameliyat edilmeyecek (sağlam göz) taraf oküler yüzeyden punktumlara yakın alt forniks konjonktivasına, daha sonra yine aynı taraf burun içerisinde alt konka hizasından mukozaya değdirilerek birkaç yumuşak sürme hareketi ile örnekler alındı ve bu pamuklu çubuklar, kendilerine ait olan tüplerde DNA/RNA Shield solüsyonuna yerleştirilerek toplandı. Kontrol grubundaki olgulara, geçirdikleri cerrahiye uygun olarak ameliyat sonrası ilaç ve takip önerilerinde bulunuldu.

Tüm örnekler analiz edilecekleri zamana kadar -80 °C’de laboratuvar buzdolabında saklandı. Tüm örnekler toplandıktan sonra, soğuk zincire dikkat edilerek kuru buz içerisinde uygun transport koşulları altında bizzat tarafımızca, laboratuvar

analizlerinin yapılacağı Muğla Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda Doç. Dr. Turan Demircan'a iletilmiştir.

3.6. Örneklerin Değerlendirilmesi

3.6.1. Bakteri Genomik DNA'sı İzolasyonu:

Sürüntü örneklerinin içine alındığı RNA shield solüsyonundan 100 µl alınarak DNA izolasyonu basamağına geçilmiştir. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı grubu ve kontrol grubu göz ve burun sürüntü örnekleri ayrı ayrı karıştırılmıştır. Örneklerden DNA izolasyonu QIAamp DNA Microbiome Kit'i (QIAGEN) kullanılarak üreticisinin önerilerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Kısaca:

100 µl numune hacmi için prosedür:

1. 2 ml'lik bir tüp içindeki 100 µl numuneye 50 µl Buffer AHL eklenip oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Termal karıştırıcı ile inkübasyon sırasında karıştırma sağlanmıştır. Uçtan uca döndürme yapılmıştır.
2. Tüp 10.000 x g'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmıştır. Bakteriyel materyalin kaybına neden olacağından pelete dokunulmamasına özen gösterilmiştir.
3. Tüpe 19 µl Tampon RDD ve 0.25 µl Benzozonaz eklenip, iyice karıştırıldıktan sonra 37°C'de 30 dakika 600 rpm'de bir ısıtma bloğunda inkübe edilmiştir.
4. 2 µl Proteinaz K eklenmiş ve 56°C'de 30 dakika 600 rpm'de bir ısıtma bloğunda inkübe edilmiştir.
5. Tüpü yavaş hızda kısaca döndürülüp tüpün çeperlerindeki sıvının tüpün dibine çökmesi sağlanmıştır. Daha sonra 20 µl Tampon ATL eklenip, iyice karıştırılıp örnek Patojen Parçalama Tüpü L'ye aktarılmıştır.
6. Bakteri hücrelerini Pathogen Lysis Tube L ile parçalanmıştır. Patojen Parçalama Tüpü L'yi bir vortekse yerleştirilip maksimum hızda 10 dakika vortekslenmiştir.
7. Patojen Parçalama Tüpü L 10.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant yeni bir mikrosantrifüj tüpüne aktarılmıştır.

8. 4 µl Proteinaz K eklenmiş, vorteksleyerek karıştırılmış ve 56°C'de inkübe edilmiştir. Isıtma bloğunda 600 rpm'de 30 dakika boyunca inkübasyon sürmüştür.
9. 20 µl Tampon APL2 eklenmiş ve 30 s için vorteks ile karıştırılmıştır.
10. Örnekler sonraki basamakta 70°C'de 10 dakika inkübe edilmiştir.
11. Lizata 20 µl etanol eklenmiş ve 15-30 s vorteksleme ile iyice karıştırılmıştır.
12. Karışım QIAamp UCP Mini Kolonuna transfer edilip 6.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
13. Tüpte toplanan sıvı atılmış ve kolona 500 µl Buffer AW1 eklenmiştir. Kapak kapatılmış ve 6.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
14. Tüpte toplanan sıvı atılmış ve QIAamp UCP Mini Kolonuna 500 µl Buffer AW2 eklenmiş, maksimum hızda 3 dakika santrifüjlenmiştir.
15. QIAamp UCP Mini Kolonunu 2 ml'lik yeni bir toplama tüpü yerleştirilmiş, 1 dakika boyunca maksimum hızda santrifüjlenmiştir.
16. QIAamp UCP Mini Kolonunu 1,5 ml'lik yeni bir tüpe yerleştirilmiş ve 50 µl Tampon AVE doğrudan kolonun merkezine eklenmiştir. Tüpün kapağı kapatılmış ve tüp oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir.
17. DNA'nın eldesi için tüp 6.000 x g'de 1 dakika santrifüjlenmiştir.
18. Sonraki deneysel basamaklara geçene kadar izole edilen DNA -20°C'de saklanmıştır.

3.6.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu:

Elde edilen genomik DNA'ların bakterilere özgü birimleri her bakteriye spesifik primerler kullanılarak çoğaltılmış olup (Tablo 3.1), örneklerde ilgili bakteri varlığı olup olmadığı test edilmiştir. Reaksiyon için Quick-Load 2X Mastermix (#M0271S, NEB) kullanılmış olup, aşağıda tarif edildiği şekliyle PZR reaksiyonu kurulmuştur:

2X Quick-Load Mastermix: 25 µL,

İleri Primer: 1 µL,

Geri Primer: 1 µL,

DNA: 1 µL,

ddH₂O: 22 µL

Tablo 3.1. Bakteri spesifik primerler

Türler	İleri primer	Geri primer
Streptococcus pneumoniae	GTAAACAGTTGACGATATTCTCG	CGTACCTTGGATATTCACCG
Staphylococcus aureus	TTGATTCAACAGCGCGTATTGTC	AGGTATCTGCTTCAATCAGCG
Hemophilus influenzae	TGTCCATGTCTTCAAAATGATG	TGATGAGGTGATTGCAGTAGG
Serratia marcescens	GGTGAGCTTAATACGTTTCATCAA	AATCCGATTAACGCTTGCAC
Moraxella catarrhalis	GTGAGTGCCGCTTTACAACC	TGTATCGCCTGCCAAGACAA

PZR tüplerinde hazırlanan karışımlarda aşağıdaki koşullarda reaksiyon kurulmuştur:

1. 95°C’de 60 saniye: başlangıç denatürasyonu
 2. 95°C’de 30 saniye: denatürasyon
 3. 55°C’de 30 saniye: primer bağlanması
 4. 68°C’de 30 saniye: ilk uzama
 5. 68°C’de 5 dakika: son uzama
- 2-4 adımları 35 döngü olarak tekrarlanmıştır.

3.6.3. Agaroze Jel Elektroforezi:

Hem genomik DNA’nın varlığı hem de bakteri türlerinin örneklerde olup olmadığı agaroz jel elektroforezi yöntemi ile gösterilmiştir. Agaroze jel hazırlama protokolü şöyledir: %1 agaroz jelin hazırlanması için 100 mg Agar (#16500-100, Invitrogen) 100 ml 1X TAE tamponu (#B49, Thermofisher Scientific) içerisinde 30 saniye mikrodalga yardımıyla ısıtılarak çözündürülmüştür. Çözündürülen %1 Agar solüsyonu 50-55°C’ye soğutulduktan sonra 10 µL SYBRSAFE (#S33102, Thermofisher Scientific) eklenerek jel tankına dökülmüştür. Soğuduktan sonra üzerine elektroforez

tankına jelin üzerine geçecek kadar 1X TAE tamponu eklenmiş ve örnekler ilgili kuyulara yükleme tamponu ile birlikte yüklenerek 90V 45 dakika boyunca yürütülmüştür. Jel elektroforezi sonuçlarının görünürlüğü görüntüleme cihazındaki mavi ışık yardımıyla sağlanmıştır.

3.6.4. Kantitatif Polimeraz Zincir Reaksiyonu:

Polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları pozitif olan örnekler için qPCR reaksiyonu gerçekleştirilip gruplar arasında ifade düzeyi açısından anlamlı bir fark olup olmadığı literatüre uygun protokoller takip edilerek test edilmiştir[108]. Deneylerde tüm örnekler üçer kez çalışılmış ve bu üç ölçümün ortalaması analizlerde kullanılmıştır. Her örnekten reaksiyon başına 25 ng kullanılmıştır.

qPCR için hazırlanan karışım şu şekildedir:

2X SYBR Green karışımı: 10 µl,
İleri primer (10pmol/ µl): 0.8 µl
Geri primer (10pmol/ µl): 0.8 µl,
Distile su: 7.4 µl ve
gDNA: 1µl (25 ng)

İzlenen sıcaklık döngüsü ise şu şekildedir

1. 95°C 5 dk. Başlangıç denatürasyonu
2. 95°C 30 sn. Denatürasyon,
3. 55°C 30 sn. Primer bağlanması
4. 72°C 30 sn. Uzama.

Bu basamaklardan 2-4 basamakları 40 döngü şeklinde devam edilmiştir. Belirtilen koşullardaki reaksiyon Roche Lightcycler II Real-Time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

3.6.5. Metabolit ve Hastalık Profili Analizi:

Gruplarda baskın olarak görülen bakterilerin ürettikleri metabolitler ve ilişkili oldukları diğer hastalıklar için R dilinde MicrobiomeAnalystR paketi kullanılmıştır

[109]. İlgili paketin Takson set analizleri yapılmasına olanak tanıyan modülü içinde yer alan iki alt modül (‘Konağa özgü takson kümeleri’ ve ‘Mikrobiyom metabolit takson kümeleri’) varsayılan parametreler kullanılarak analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz sonrası görselleştirme için ggplot2 paketi R ortamında kullanılmıştır. Yapılan analizler için kullanılan kodlar ise şöyledir:

Mikrobiyom metabolit takson kümeleri:

```
met.KNKLTSet<-Init.met.KNKLTSetObj()
met.KNKLTSet<-SetModuleType(met.KNKLTSet, "tsea")
met.taxa.vec<-scan("path_to_file");
met.KNKLTSet<-Setup.MapData(met.KNKLTSet, taxa.vec);
met.KNKLTSet<-CrossReferencing(met.KNKLTSet, "mixed");
met.KNKLTSet<-SetTaxonSetLib(met.KNKLTSet, "gene");
met.KNKLTSet<-CalculateHyperScore(met.KNKLTSet);
met.KNKLTSet<-SetTaxonSetLib(met.KNKLTSet, "host_int");
met.KNKLTSet<-CalculateHyperScore(met.KNKLTSet);
met.KNKLTSet<-SetTaxonSetLib(met.KNKLTSet, "mic_met");
met.KNKLTSet<-CalculateHyperScore(met.KNKLTSet);
```

Konağa özgü takson kümeleri:

```
KNKLTSet<-Init.KNKLTSetObj()
KNKLTSet<-SetModuleType(KNKLTSet, "tsea")
taxa.vec<-scan("path_to_file");
KNKLTSet<-Setup.MapData(KNKLTSet, taxa.vec);
KNKLTSet<-CrossReferencing(KNKLTSet, "mixed");
KNKLTSet<-SetTaxonSetLib(KNKLTSet, "gene");
KNKLTSet<-CalculateHyperScore(KNKLTSet);
KNKLTSet<-SetTaxonSetLib(KNKLTSet, "host_int");
KNKLTSet<-CalculateHyperScore(KNKLTSet);
```

3.7. İstatiksel analiz

Uygulanan testlerin sonuçları gruplar karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Elde edilen veriler R ortamında (versiyon 4.3.2) “rstatix” paketi kullanılarak analiz edilmiştir. Verilerinin dağılımının normalitesinin belirlenmesi için Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Bu test sonrasında verilerin dağılımına bağlı olarak, verilerin normal dağıldığı durumda tek yönlü varyans analizi testi (One way-ANOVA), normal dağılmadığı durumda ise Kruskal-Wallis testi ile gruplar arasındaki istatistiksel anlam belirlenmiştir. Grupların arasındaki istatistiksel anlamlılık belirlendikten sonra post-hoc analiz olarak normal dağılan verilerde tukey aralık testi, normal dağılmayan verilerde ise dunn testi yapılmıştır. İki örnekli verilerin karşılaştırılmasında verilerin normal dağılımına bağlı olarak Welch’s t testi veya Wilcoxon testi uygulanmıştır. Numerik olmayan verilerin karşılaştırılmasında ise Pearson’s Chi square test kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık p-değeri < 0.05 olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan grubunun yaş ortalaması 23.35 (± 8.86) ay, kontrol grubunun yaş ortalaması 21.23 (± 12.98) ay idi. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı grubu 12 erkek 14 kız çocuktan, kontrol grubu ise 19 erkek 7 kız çocuktan oluşmaktaydı. Yaş ve cinsiyet dağılımı açısından gruplar arasında anlamlı fark izlenmedi (sırasıyla $p=0.496$, $p=0.05$) (Tablo 4.1, Tablo 4.2). Her iki grupta da intrauterin maternal enfeksiyon öyküsü, doğum sonrası yoğun bakım veya hastanede yatış öyküsü bulunmamaktaydı.

Tablo 4.1. KNLKT ve kontrol grubu yaş ortalamaları

	YAŞ (ORT.AY $\pm$ SS)	MİN-MAKS	P
KNLKT	23.35 $\pm$ 8.86	36-48	0.496
KONTROL	21.23 $\pm$ 12.98	2-48	

Tablo 4.2. KNLKT ve kontrol grubu cinsiyet dağılımları

	ERKEK		KIZ		
	n	%	n	%	p
KNLKT	12	46.2	14	53.8	0.05
KONTROL	19	73.1	7	26.9	

Tablo 4.3. Hasta ve kontrol grubunun doğum şekli dağılımı

	DOĞUM ŞEKLİ				p
	SEZARYEN		VAJİNAL		
	n	%	n	%	0.216
KNLKT	13	50	13	50	
KONTROL	12	46.1	14	53.9	

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan grupta vajinal ve sezaryen doğum şekli sayısı eşit ve %50 iken kontrol grubunda vajinal doğum daha fazla ve %53.9 idi ($p=0.216$) (Tablo 4.3).

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı grubunda sondalama tedavisi, 26 olgunun 23'ünde (%88.5) başarılı oldu (Tablo 4.4). Sondalama işlemi yapılan 26 olgunun hepsinde üst ve alt kanalikül bütünlüğü anatomik olarak mevcuttu ve işlem sırasında tüm olgularda Hasner valvi düzeyinde “tık” hissi alınarak membranöz tıkanıklık varlığı hissedildi. Başarısız olan 3 olguya daha sonra ritleng tüp entübasyonu yapıldı ve takiplerde hepsinin sulanma şikayetinin düzeldiği görüldü.

Tablo 4.4. KNLKT grubunda sondalama tedavi başarısı

	SONDALAMA TEDAVİ BAŞARISI			
	BAŞARILI		BAŞARISIZ	
	n	%	n	%
KNLKT	23	88.5	3	11.5

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı grubunda, %69.2 sağ taraf, %30.8 sol taraf nazolakrimal kanal tıkalı idi. Kontrol grubunda ise olguların %50'sinde sağ %50'sinde sol gözden örnek alındı (p=0.045).

4.1. Genomik DNA Eldesi

Örneklerden genomik DNA (gDNA) izolasyonu gerçekleştirilmiş ve izole edilen DNA'ların miktar tayini nanodrop ile kalitesi ise agaroz jel elektroforezi ile izlenmiştir. Elde edilen gDNA'ların konsantrasyonu ve saflığı Tablo 4.5'de verilmiştir.

Tablo 4.5. gDNA konsantrasyonu ve saflığı. KN: KNLKT, KO: kontrol grubu.

Hasta ID	Konsantrasyon (ng/ul)	A260/280	Grup	Örnek Yeri
KN1	72	1,97	KNKLT	Göz
KN2	54	1,84	KNKLT	Göz
KN3	95	2,01	KNKLT	Göz
KN4	83	1,99	KNKLT	Göz
KN5	57	1,74	KNKLT	Göz
KN6	124	1,85	KNKLT	Göz
KN7	52	1,81	KNKLT	Göz
KN8	104	2,03	KNKLT	Göz
KN9	68	1,88	KNKLT	Göz
KN10	113	2,02	KNKLT	Göz
KN11	119	2,02	KNKLT	Göz
KN12	34	2,02	KNKLT	Göz
KN13	80	1,88	KNKLT	Göz
KN14	114	2,00	KNKLT	Göz
KN15	82	1,95	KNKLT	Göz
KN16	73	1,98	KNKLT	Göz
KN17	120	1,70	KNKLT	Göz
KN18	73	1,89	KNKLT	Göz

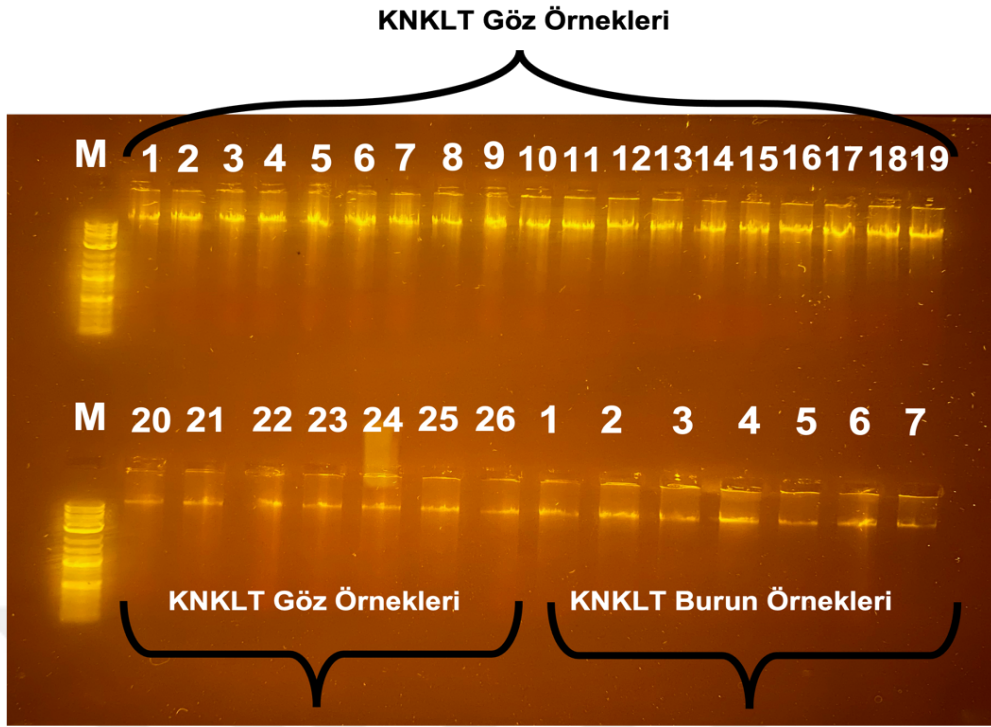
KN19	94	1,79	KNKLT	Göz
KN20	84	1,85	KNKLT	Göz
KN21	39	1,95	KNKLT	Göz
KN22	115	1,74	KNKLT	Göz
KN23	53	1,80	KNKLT	Göz
KN24	33	1,97	KNKLT	Göz
KN25	61	1,87	KNKLT	Göz
KN26	120	2,02	KNKLT	Göz
KN_B1	114	1,74	KNKLT	Burun
KN_B2	95	1,87	KNKLT	Burun
KN_B3	90	2,09	KNKLT	Burun
KN_B4	92	2,06	KNKLT	Burun
KN_B5	97	2,05	KNKLT	Burun
KN_B6	81	1,77	KNKLT	Burun
KN_B7	86	1,75	KNKLT	Burun
KN_B8	57	1,96	KNKLT	Burun
KN_B9	43	1,84	KNKLT	Burun
KN_B10	121	1,96	KNKLT	Burun
KN_B11	115	1,83	KNKLT	Burun
KN_B12	95	1,78	KNKLT	Burun
KN_B13	105	1,74	KNKLT	Burun
KN_B14	32	1,89	KNKLT	Burun
KN_B15	75	1,90	KNKLT	Burun
KN_B16	102	1,94	KNKLT	Burun
KN_B17	50	1,83	KNKLT	Burun
KN_B18	60	1,90	KNKLT	Burun
KN_B19	52	2,08	KNKLT	Burun
KN_B20	43	1,89	KNKLT	Burun
KN_B21	69	2,06	KNKLT	Burun
KN_B22	69	2,07	KNKLT	Burun
KN_B23	65	1,94	KNKLT	Burun
KN_B24	44	1,86	KNKLT	Burun
KN_B25	43	1,76	KNKLT	Burun
KN_B26	92	2,07	KNKLT	Burun
KO1	6,4	NA	Kontrol	Göz

KO2	3,9	NA	Kontrol	Göz
KO3	97	1,82	Kontrol	Göz
KO4	81	1,72	Kontrol	Göz
KO5	4,7	NA	Kontrol	Göz
KO6	86	2,08	Kontrol	Göz
KO7	57	1,76	Kontrol	Göz
KO8	5,9	NA	Kontrol	Göz
KO9	43	1,92	Kontrol	Göz
KO10	121	2,08	Kontrol	Göz
KO11	2,8	NA	Kontrol	Göz
KO12	115	1,93	Kontrol	Göz
KO13	95	1,86	Kontrol	Göz
KO14	105	1,96	Kontrol	Göz
KO15	5,7	NA	Kontrol	Göz
KO16	32	1,83	Kontrol	Göz
KO17	75	1,82	Kontrol	Göz
KO18	102	1,79	Kontrol	Göz
KO19	50	1,85	Kontrol	Göz
KO20	60	2,09	Kontrol	Göz
KO21	9,1	NA	Kontrol	Göz
KO22	52	1,76	Kontrol	Göz
KO23	43	1,74	Kontrol	Göz
KO25	19	NA	Kontrol	Göz
KO24	69	1,76	Kontrol	Göz
KO26	69	1,98	Kontrol	Göz
KO_B1	65	1,93	Kontrol	Burun
KO_B2	8,2	NA	Kontrol	Burun
KO_B3	13	NA	Kontrol	Burun
KO_B4	11	NA	Kontrol	Burun
KO_B5	44	2,08	Kontrol	Burun
KO_B6	43	2,06	Kontrol	Burun
KO_B7	57	1,99	Kontrol	Burun
KO_B8	7,3	NA	Kontrol	Burun
KO_B9	9,6	NA	Kontrol	Burun
KO_B10	14	NA	Kontrol	Burun

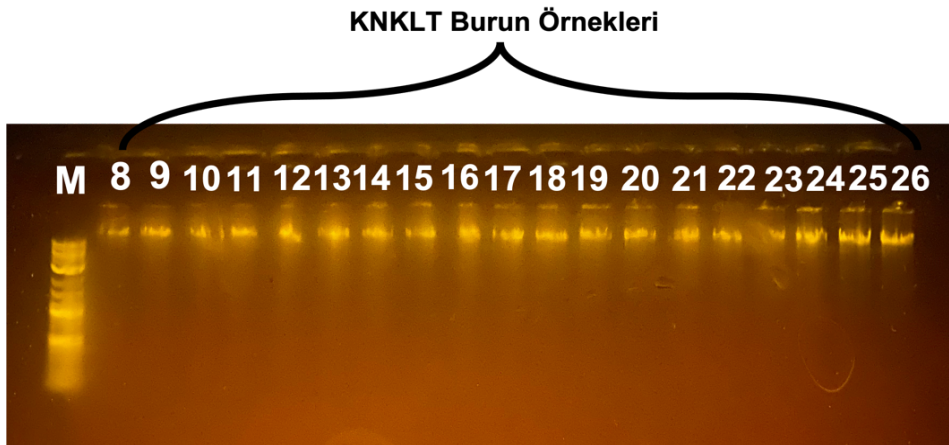
KO_B11	42	1,42	Kontrol	Burun
KO_B12	8,3	NA	Kontrol	Burun
KO_B13	54	1,53	Kontrol	Burun
KO_B14	4,5	NA	Kontrol	Burun
KO_B15	75	1,88	Kontrol	Burun
KO_B16	81	1,74	Kontrol	Burun
KO_B17	115	2,02	Kontrol	Burun
KO_B18	32	2,08	Kontrol	Burun
KO_B19	12	NA	Kontrol	Burun
KO_B20	3,2	NA	Kontrol	Burun
KO_B21	2,7	NA	Kontrol	Burun
KO_B22	4,5	NA	Kontrol	Burun
KO_B23	11	NA	Kontrol	Burun
KO_B24	54	1,70	Kontrol	Burun
KO_B25	114	1,74	Kontrol	Burun
KO_B26	7,7	NA	Kontrol	Burun

Tablo 4.5'te yer alan tüm örnekler jel görüntüsü için kullanılmış olup, hem konsantrasyon/saflık değerleri hem de jel görüntüleri dikkate alındığında, düşük konsantrasyonlu ya da saflık düzeyi yeterli olmayan ve tabloda koyu ile işaretlenen örnekler sonraki analiz basamaklarından çıkarılmıştır.

Örnekler her kuyucuğa 100-150 ng olacak şekilde yüklenmiş ve 90 V'da 45 dakika yürütülmüştür. Kullanılan jel tarakları dolayısıyla jelde 20 ya da 15 kuyucuk oluşmaktadır. İlk kuyucuğa 100 bp DNA merdiveni yüklenmiş olup, bu markır 100 bp -10000 bp arasındaki parçalardan oluşmaktadır. gDNA 10000 bp'den büyük olduğu için jel görüntüsünde markırdan yukarıda yer almaktadır.

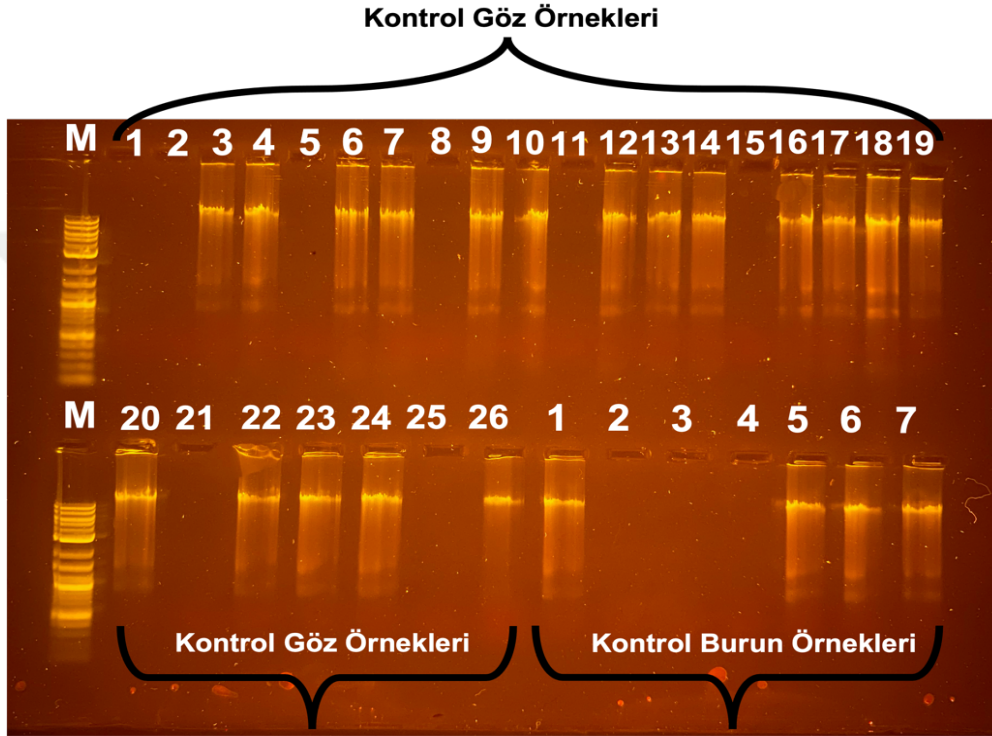


Şekil 4.1. KNKLT örneklerinden (26 göz ve 7 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü

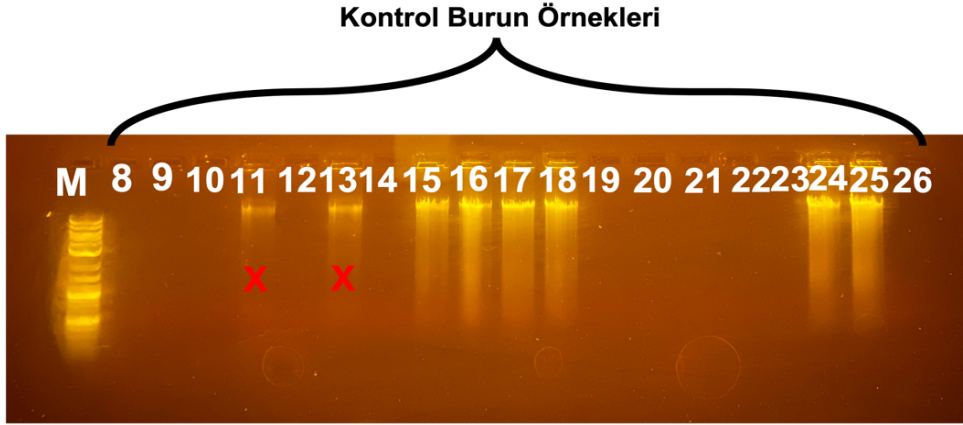


Şekil 4.2. KNKLT örneklerinden (19 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü.

Tablo 4.5, Şekil 4.1 ve 4.2’de görüldüğü üzere KNLKT örneklerinin tümünden gDNA izolasyonu gerçekleştirilebilmiştir. Bununla beraber kontrol grubundan alınan örneklerde ise 26 göz örneğinin 18’inden, 26 burun örneğinin ise 10’undan gDNA izolasyonu gerçekleştirilebilmiştir (Tablo 4.5, Şekil 4.3, Şekil 4.4)



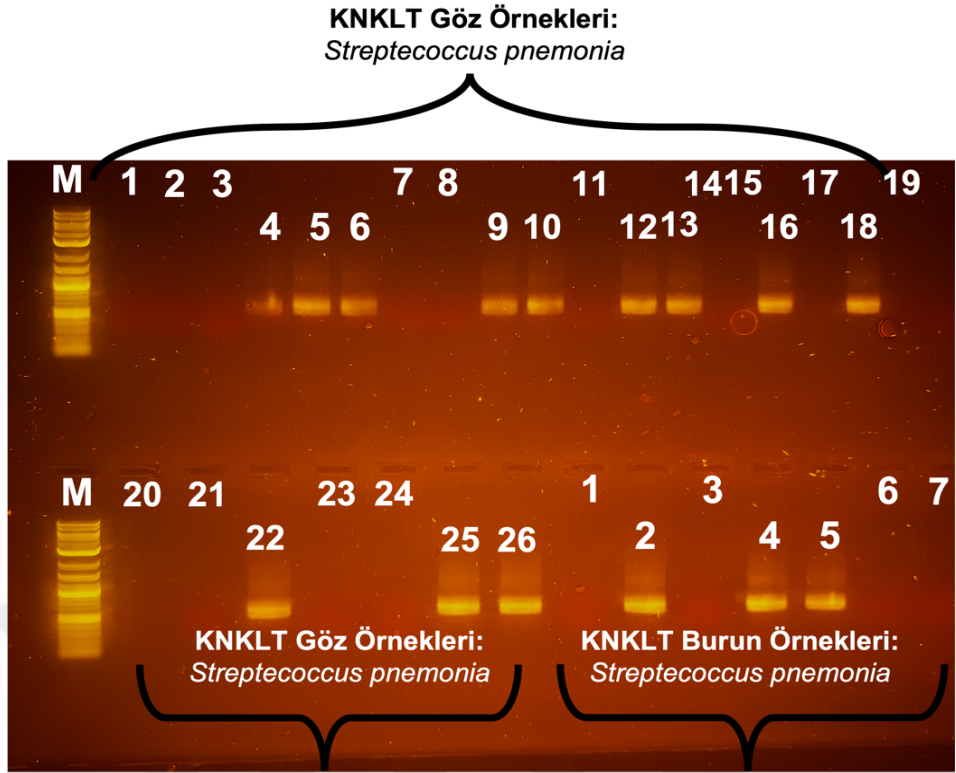
Şekil 4.3. Kontrol örneklerinden (26 göz ve 7 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA’ların agaroz jel görüntüsü



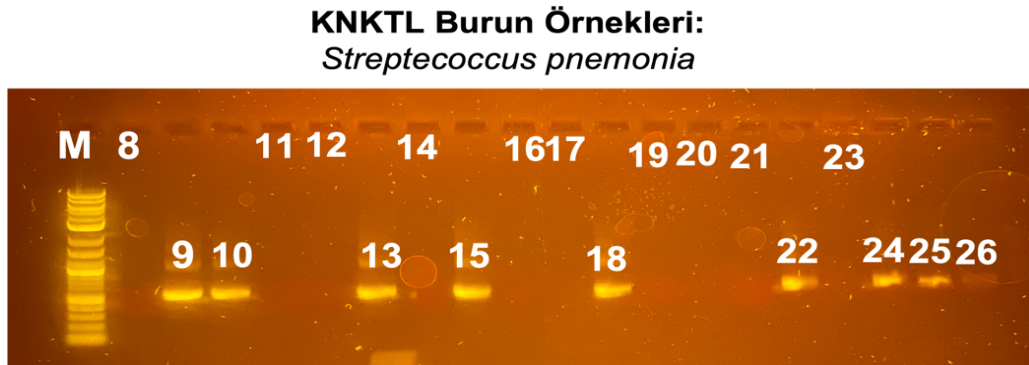
Şekil 4.4. Kontrol örneklerinden (19 burun numunesinden) izole edilmiş gDNA'ların agaroz jel görüntüsü

4.2. Bakteri Varlığının Gösterilmesi İçin PZR Analizi

Genomik DNA izolasyonları basamağından sonra elde kalan örnek listesi ile sonraki çalışmalara geçilmiştir. İzolasyon sonucu elde edilen gDNA'lardan PZR yöntemi ile beş bakteri türünün hangi örneklerde olup hangilerinde olmadığı araştırılmıştır. İlk olarak *Streptococcus pneumoniae* için PZR analizi yapılmış ve KNKLT ve kontrol gruplarının göz ve burun örnekleri için bakterinin varlığı ya da yokluğu analiz edilmiştir.



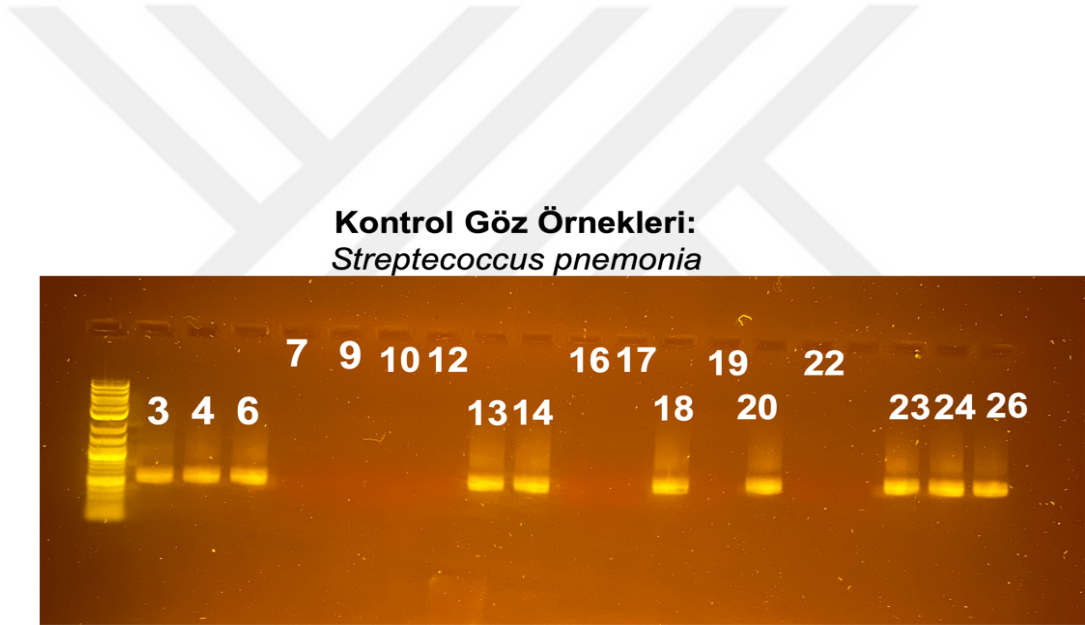
Şekil 4.5. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş KNLKT grubu göz ve burun örneklerinden *Streptococcus pneumoniae* içeren ve içermeyen örnekler.



Şekil 4.6. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş KNLKT grubu burun örneklerinden *Streptococcus pneumoniae* içeren ve içermeyen örnekler.

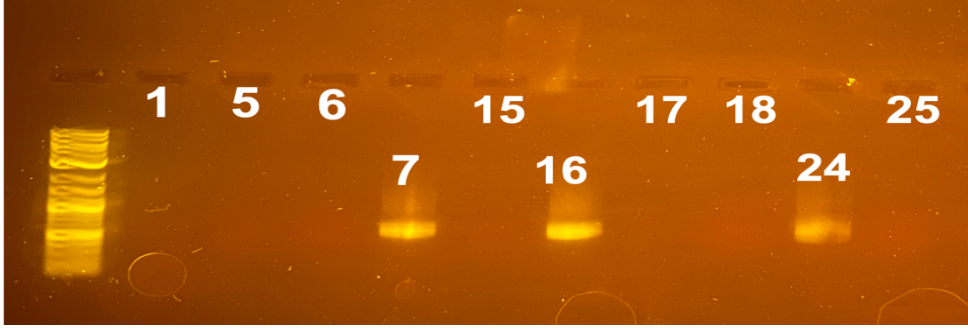
Görüldüğü üzere KNLKT grubunu oluşturan 26 göz örneğinin 12 tanesinde *Streptococcus pneumonia* varlığı saptanmıştır (Şekil 4.5). Aynı grubun burun sürüntü örneklerinde de 26 örneğin 12 tanesinde *Streptococcus pneumonia* saptanmıştır (Şekil 4.6). Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı grubunu oluşturan hastalardan alınan örneklerin çoğu hem göz hem de burun için *Streptococcus pneumonia* varlığı açısından pozitif ya da negatiftir.

Aynı çalışma kontrol grubu için de yapıldığında şaşırtıcı bir düzeyde *Streptococcus pneumonia* pozitif örnek varlığı ile karşılaşmıştır. 18 göz örneğinden 10 tanesinde *Streptococcus pneumonia* varlığı gözlenmiştir (Şekil 4.7). 10 burun örneğinden ise 3 tanesi *Streptococcus pneumonia* pozitif olarak bulunmuştur (Şekil 4.8).



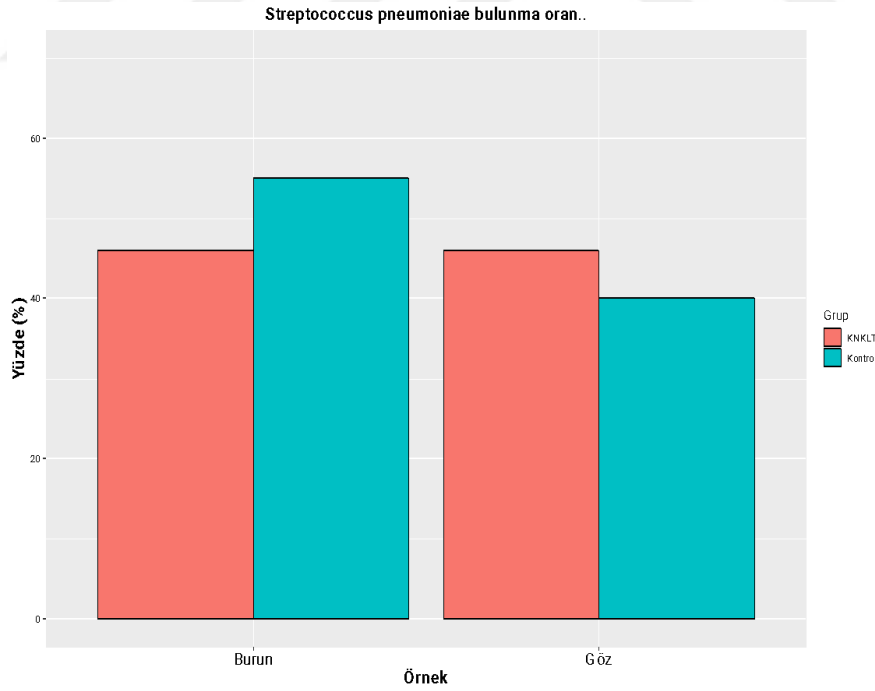
Şekil 4.7. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş kontrol göz örneklerinden *Streptococcus pneumonia* içeren ve içermeyen örnekler.

Kontrol Burun Örnekleri: *Streptococcus pneumoniae*



Şekil 4.8. Genomik DNA'sı izole edilebilmiş kontrol burun örneklerinden *Streptococcus pneumoniae* içeren ve içermeyen örnekler.

Elde edilen *Streptococcus pneumoniae* + örnek oranının karşılaştırılması Şekil 4.9'da görülebilir.

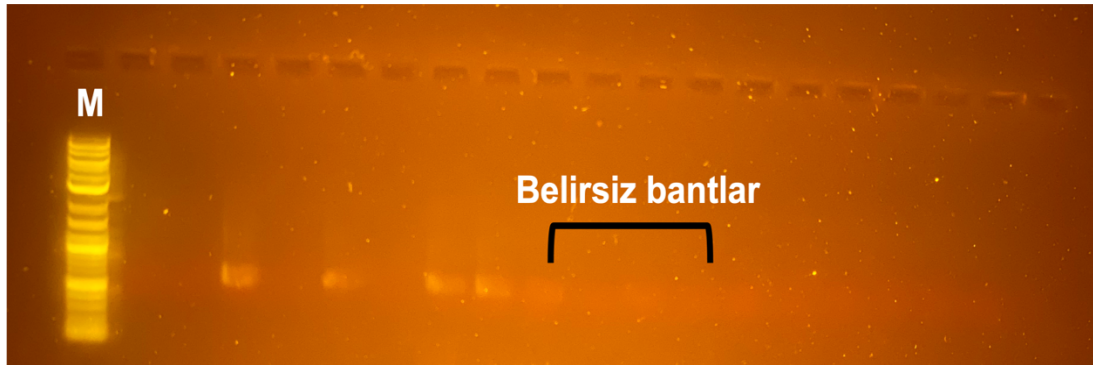


Şekil 4.9. KNKLT ve kontrol grupları arasında *Streptococcus pneumoniae* görülme oranı karşılaştırılması. Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı ve kontrol grubu arasında *Streptococcus pneumonia* görülme oranında anlamlı bir fark görülmemiştir. Pearson's Chi-squared test kullanılarak yapılan analiz sonrası göz ve burun örnekleri için p-değeri sırasıyla 0.539 ve 0.739 olarak bulunmuştur (göz için $X^2=0.37607$ ve $df=1$, burun için ise $X^2=0.11077$ ve $df=1$)

Bu bulgular ışığında *Streptococcus pneumonia* görülme oranının kontrol ve KNLKT grupları için benzer olduğunu söylemek mümkündür.

Yapılan PZR çalışmalarında diğer bakteriler için (*Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens* ve *Moraxella catarrhalis*) istenilen hasssiyete ulaşılammıştır (Şekil 4.10). Polimeraz zincir reaksiyonu sonuçları sayılan bakteri türlerinin varlığı ya da yokluğu hakkında bilgi vermekte yetersiz kaldığı için hem PZR'ye göre çok daha hassas olan hem de sayısal bir veri üretilmesine olanak tanıyan kantitatif PZR metoduna geçilmiş ve bu metot bütün bakteri türlerinin hem kontrol hem de KNLKT örneklerindeki varlığı ve miktarının saptanması için kullanılmıştır.



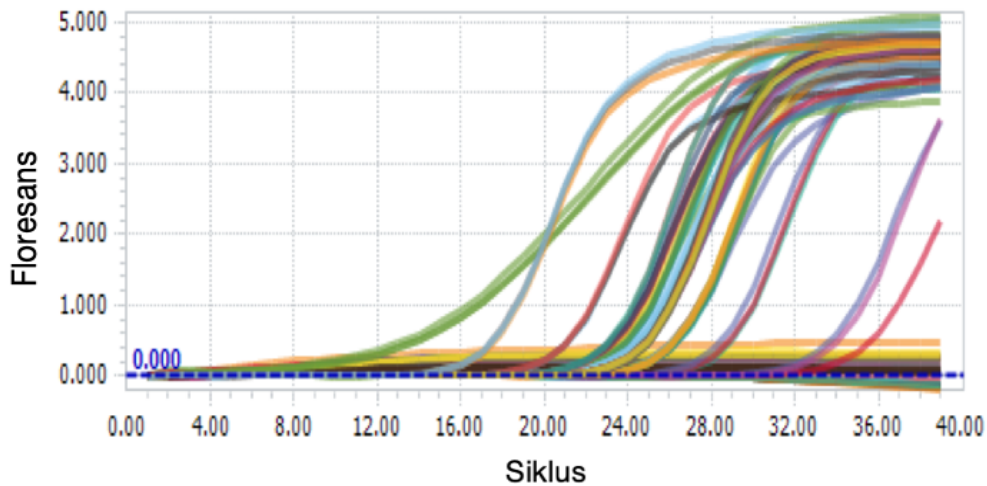
Şekil 4.10. PZR'ın ayırıcılığının bakterilerin varlığını tespit etmede yetersiz kalması. Belirsiz bantların varlığı analizi zorlaştırmakta ve subjektifleştirmektedir.

4.3. Kantitatif PZR

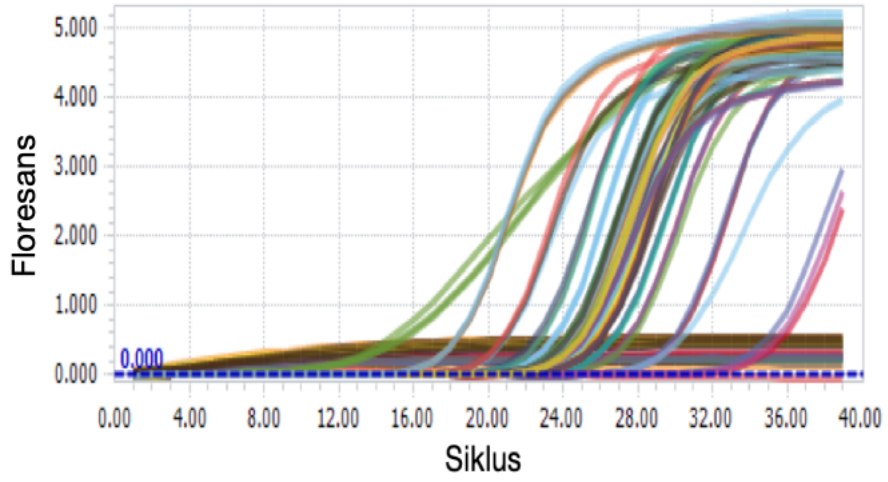
Polimeraz zincir reaksiyonunun, örneklerdeki bakteri varlığını ayırt etmede yetersiz kalması ile yüksek hassasiyetli kantitatif bir PZR yöntemine geçilmiştir. Bu yöntemde PZR’da kullanılmış olan primer setleri kullanılarak oluşturulan reaksiyon sonrasında her döngüyü takiben floresan ışıma miktarı tayin edilip mutlak ct değerleri (eşik döngüsü) ölçülmüştür. Elde edilen mutlak ct değerleri her örnekteki bakteri miktarının belirlenmesi ve gruplar arası karşılaştırmada kullanılmıştır.

4.3.1. *Streptococcus pneumoniae* Miktarının qPZR ile Tayini

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı ve kontrol örneklerinde *Streptococcus pneumoniae* miktarının tayini için ayrı ayrı reaksiyonlar hazırlanmış olup amplifikasyon eğrileri Şekil 4.11. ve 4.12’de sunulmuştur. Floresan yoğunluğu 1’i geçen örneklerin 1’i geçtiği döngü o örnek için ct değeri olarak kabul edilmiştir. Kantitatif PZR (qPZR)’ın güvenilirliği açısından floresan değerini 35. veya sonrasındaki döngülerde geçen örnekler bakteri varlığı açısından negatif olarak kabul edilmiştir.

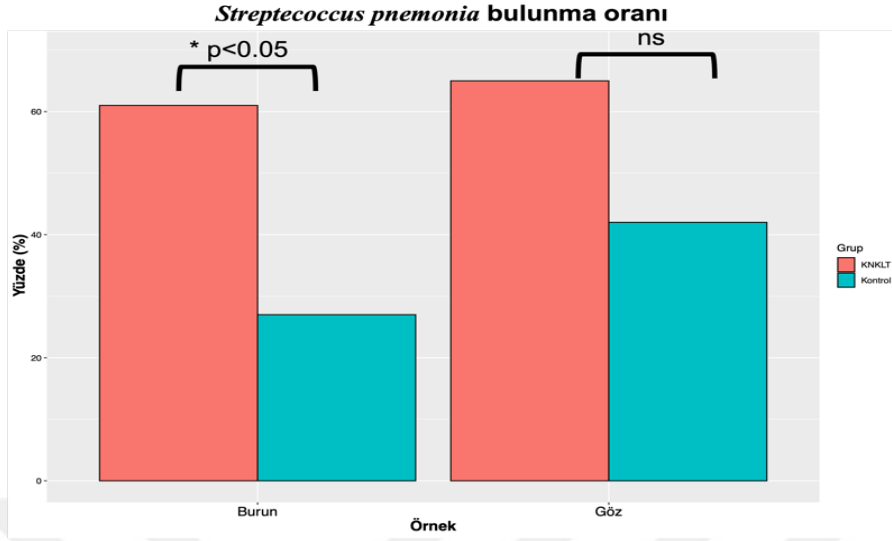


Şekil 4.11. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde *Streptococcus pneumoniae* miktarının qPZR ile tayini. X eksen döngü sayısını, y eksen floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.



Şekil 4.12. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde *Streptococcus pneumoniae* miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.

Yapılan qPZR analizi sonrası KNLKT örnekleri için 26 göz sürüntüsünün 17'si (%65) ve 26 burun sürüntüsünün 16'sı (%62) için sinyal alınmıştır. Bu sayı kontrol grubu örnekleri için 26 göz sürüntüsünde 11 (%42) ve 26 burun sürüntüsünde ise 7 (%30) olarak ölçülmüştür.

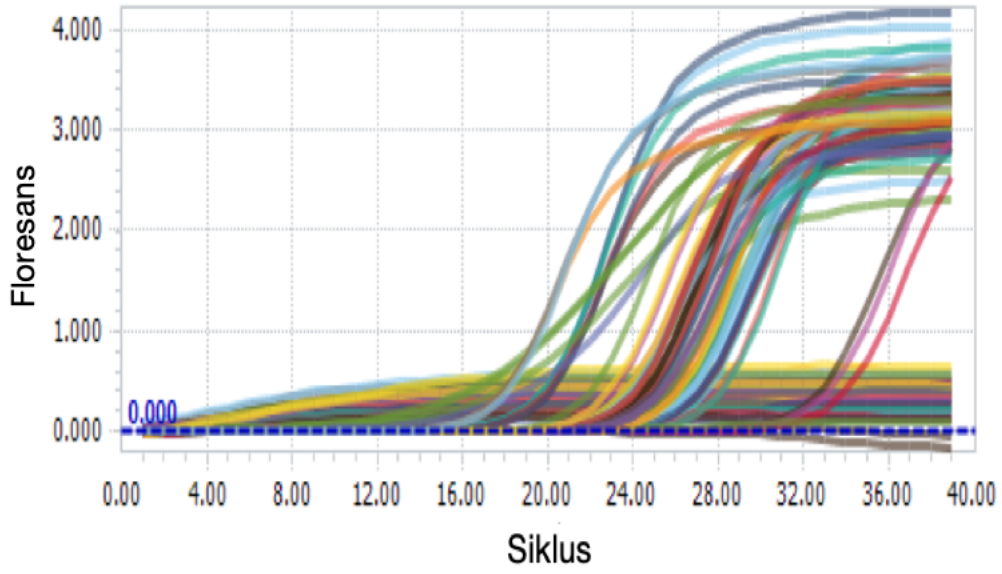


Şekil 4.13. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında *Streptococcus pneumoniae* görülme oranı karşılaştırılması. *: $p<0.05$, ns: istatistiksel olarak anlamlı değil.

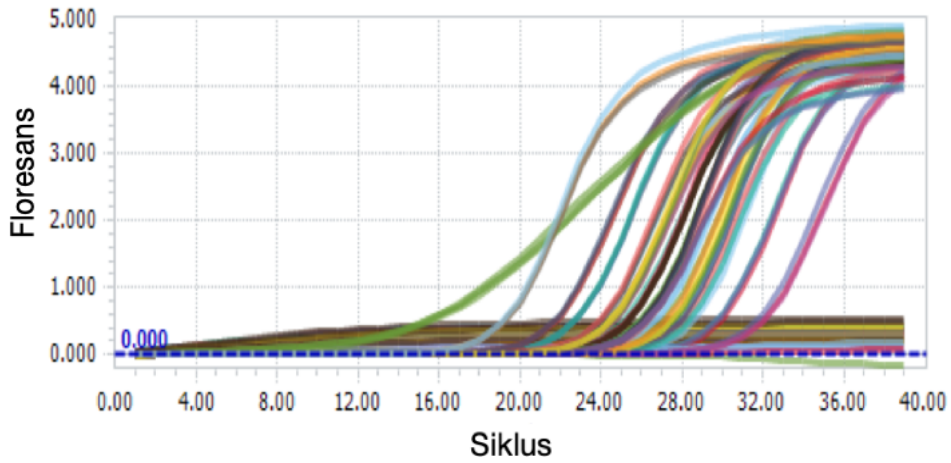
Yapılan Pearson's Chi-squared test sonucu göz örnekleri için istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p-değeri = 0.09511, $X^2 = 2.7857$, $df = 1$). Bununla beraber burun sürüntü örnekleri açısından KNLKT grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür (p-değeri = 0.01197, $X^2 = 6.3148$).

4.3.2. *Staphylococcus aureus* Miktarının qPZR ile Tayini

Bir sonraki basamakta aynı yöntemle iki farklı grupta (KNLKT ve kontrol) bulunan göz ve burun sürüntü örnekler içindeki *Staphylococcus aureus* varlığı ve miktarı qPZR yöntemi ile tayin edilmiştir. Örneklere ait amplikasyon eğrileri aşağıda verilmiştir (Şekil 4.14 ve 4.15).

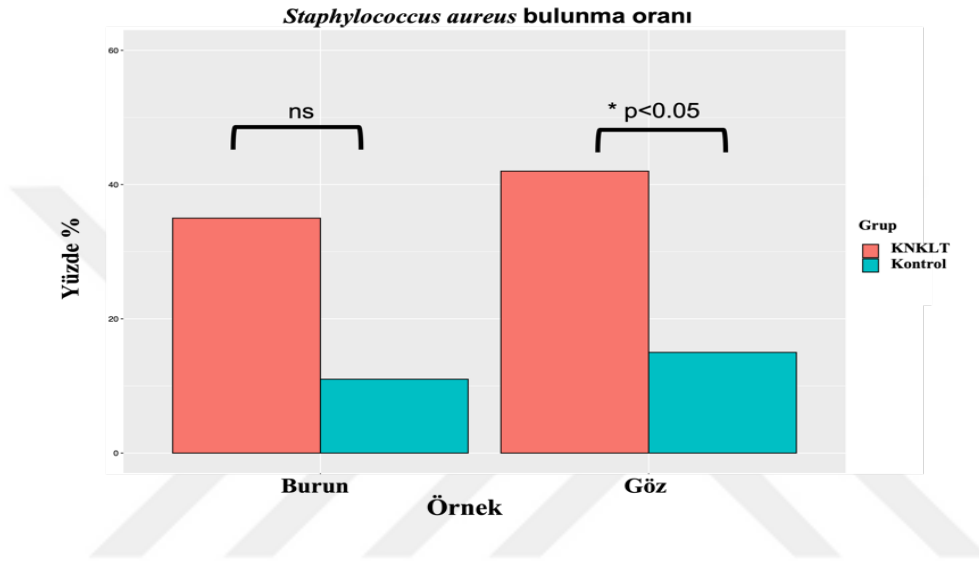


Şekil 4.14. KNLKT göz ve burun sürüntü örneklerinde *Staphylococcus aureus* miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.



Şekil 4.15. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde *Staphylococcus aureus* miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.

Staphylococcus aureus varlığı ve miktarı tayini için yapılan qPZR analizi sonrası KNKLT örneklerinden 26 göz sürüntüsünün 11'inde (%42) ve 26 burun sürüntüsünün 9'unda (%35) belirlenen döngü eşik değerleri içinde sonuç alınmıştır. Kontrol grubu örnekleri için ise 26 göz sürüntüsünden 4'ü (%15) ve 26 burun sürüntüsünden 3'ü (%11) için pozitif sonuç alınmıştır.



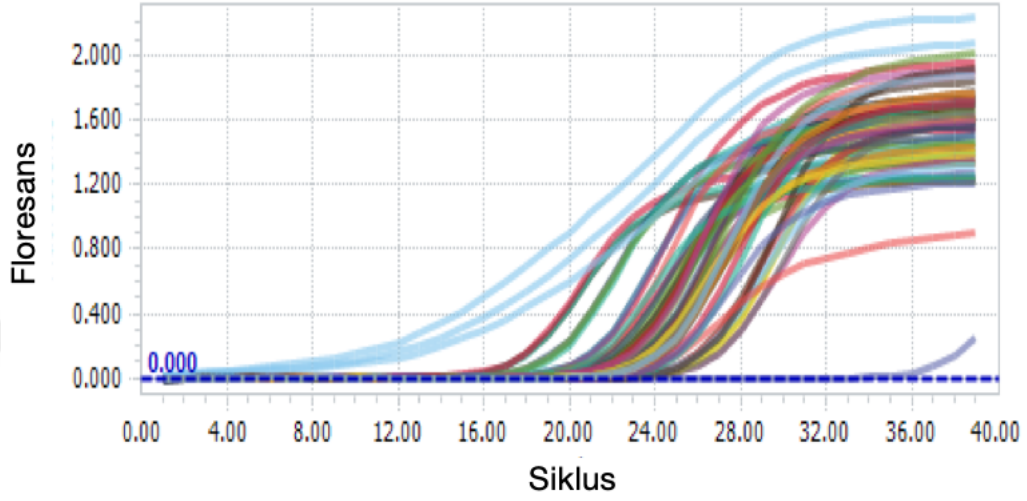
Şekil 4.16. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında *Staphylococcus aureus* görülme oranı karşılaştırılması. *: $p < 0.05$, ns: istatistiksel olarak anlamlı değil.

Yapılan istatistiksel analiz sonrasında karşılaştırılan iki grupta göz sürüntü örnekleri açısından *Staphylococcus aureus* varlığı veya yokluğu göz önüne alındığında anlamlı bir fark gözlenmiştir (p-değeri = 0.03214, $X^2 = 4.591$). Chi-squared testi sonrası burun sürüntüsü örnekleri açısından önemli bir fark olmakla beraber bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür (p-değeri = 0.06068 ve $X^2 = 3.5188$).

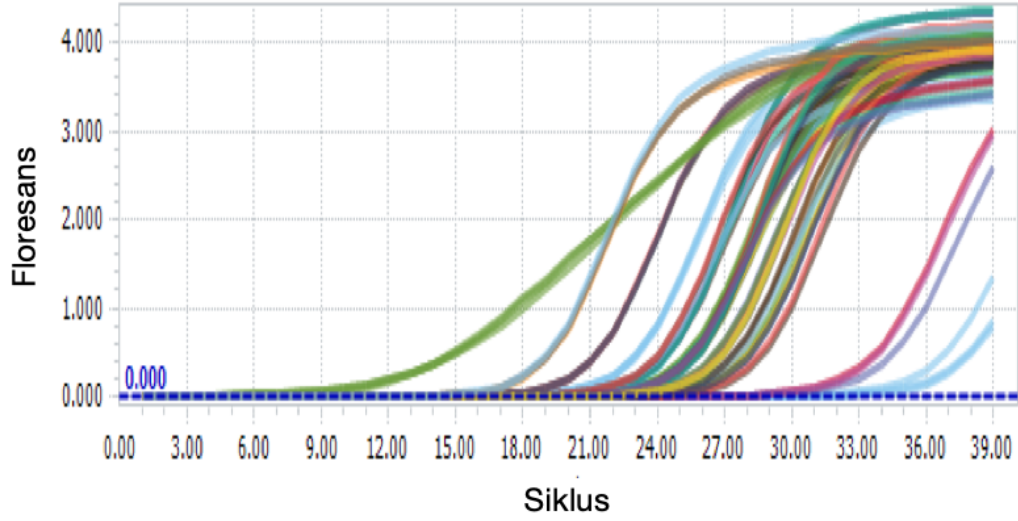
4.3.3. *Haemophilus influenzae* Miktarının qPZR ile Tayini

Daha sonra örnekler *Haemophilus influenzae* varlığı ve miktarı açısından analiz edilmiştir. Kantitatif PZR (qPZR) ile KNKLT ve kontrol gruplarındaki göz ve burun sürüntü örneklerinde bulunan mikrobiyal varlık tespit edilmiştir. Kantitatif PZR

(qPZR) amplikasyon eğrileri ve analiz sonucu aşağıdaki figürlerde yer almaktadır (Şekil 4.17, şekil 4.18, şekil 4.19).

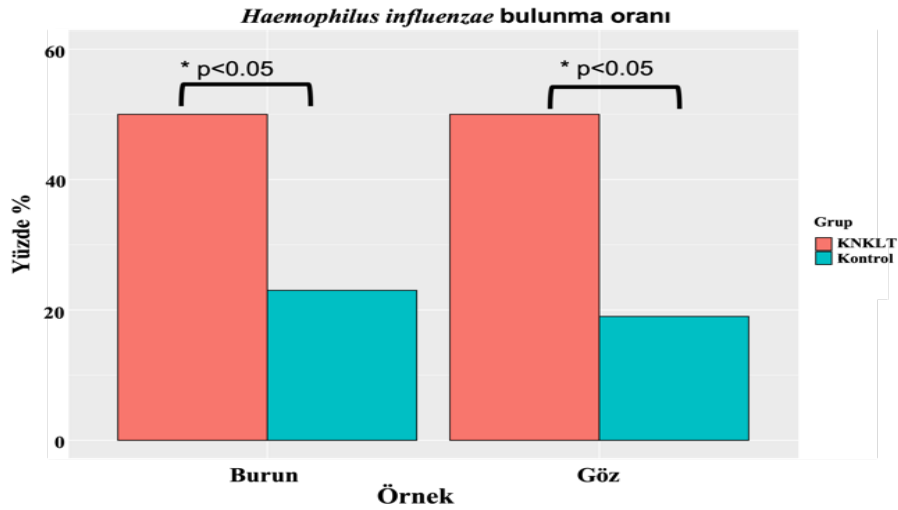


Şekil 4.17. KNKLT göz ve burun sürüntü örneklerinde *Haemophilus influenzae* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.



Şekil 4.18. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde *Haemophilus influenzae* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.

Yapılan qPZR analizi sonrası KNKLT göz ve burun örneklerinden 13'ü (%50) *Haemophilus influenzae* pozitif olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ise göz örneklerinin 5'i (%19), burun örneklerinin ise 6'sı (%23'ü) belirlenen eşik değeri üzerinde bulunuştur.

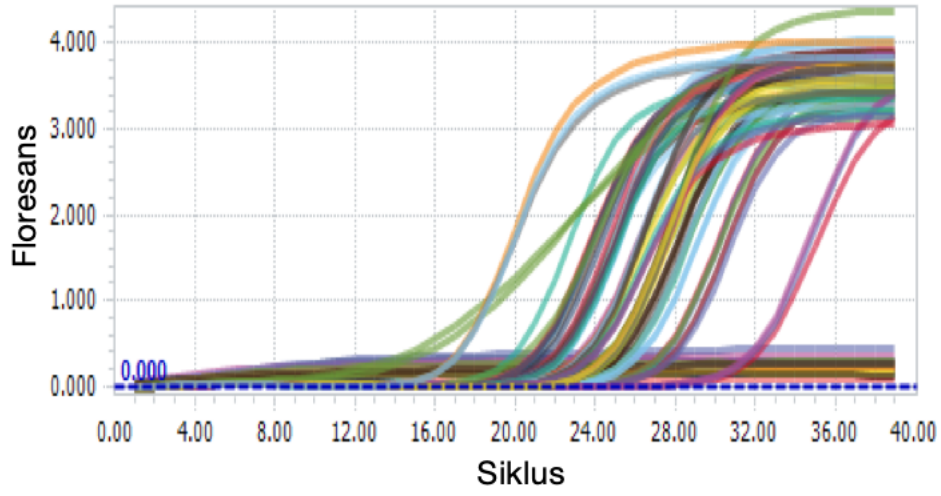


Şekil 4.19. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında *Haemophilus influenzae* görülme oranı karşılaştırılması. *: $p < 0.05$.

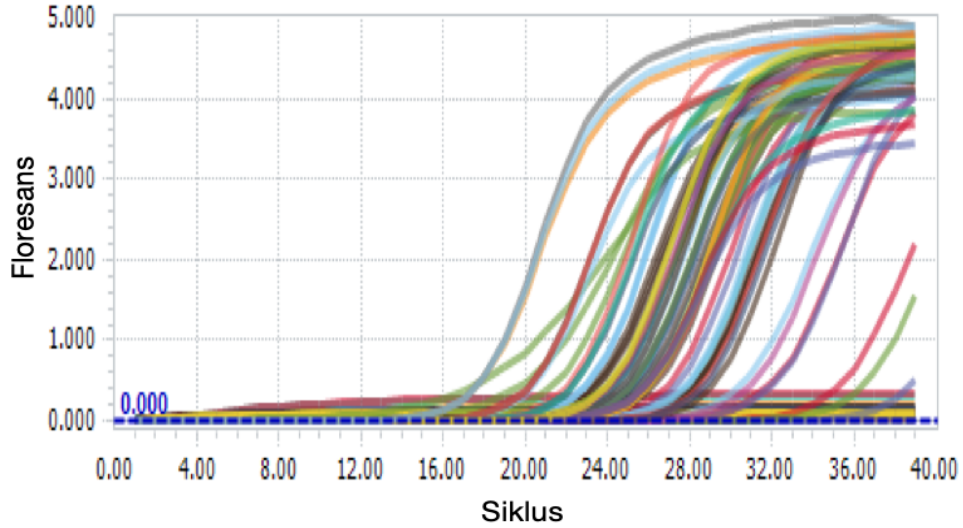
Yapılan analiz sonucunda karşılaştırılan iki grup için hem göz hem de burun sürüntü örnekleri açısından *Haemophilus influenzae* varlığı veya yokluğu göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (göz sürüntü örneği için: p -değeri = 0.0197, $X^2 = 5.4379$ ve burun sürüntü örneği için: p -değeri = 0.04381, $X^2 = 4.0638$).

4.3.4. *Serratia marcescens* Miktarının qPZR ile Tayini

Bir sonraki bakteri türü olarak *Serratia marcescens* varlığı ve miktarı hem KNKLT hem de kontrol gruplarında araştırılmış ve önceki deney dizaynları takip edilerek göz ve burun sürüntü örnekleri için bakteri miktarı için qPZR analizi yapılmıştır (Şekil 4.20, şekil 4.21, şekil 4.22).

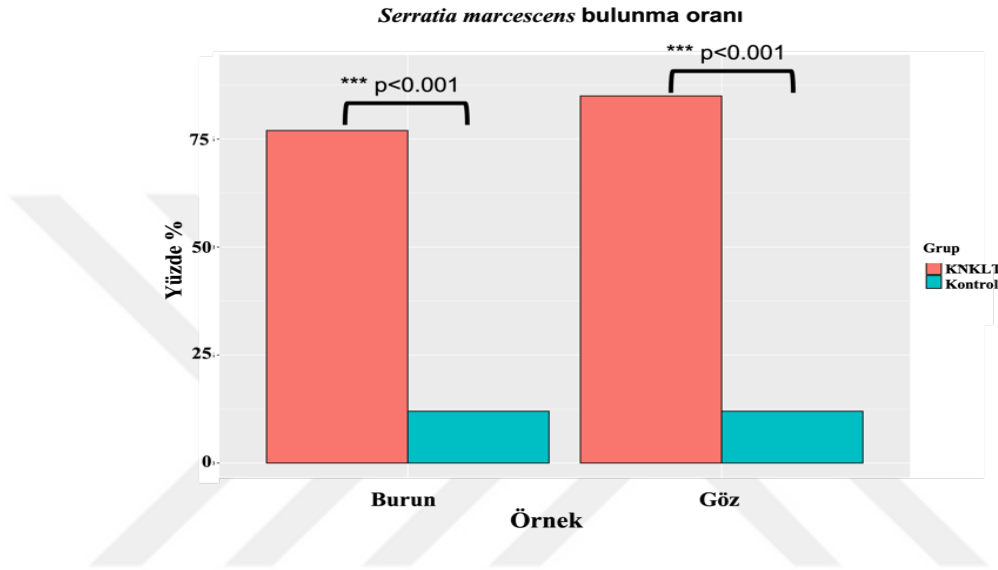


Şekil 4.20. KNLKT göz ve burun sürüntü örneklerinde *Serratia marcescens* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.



Şekil 4.21. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde *Serratia marcescens* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneği temsil etmektedir.

Veriler incelendiğinde KNKLT grubu 26 göz sürüntü örneğinden 22'sinin (%85) burun sürüntü örneğinden ise 20'sinin (%77) *Serratia marcescens* taşıdığı görülmüştür. *Serratia marcescens* görülen kontrol grubu sayıları ise göz ve burun örnekleri için 3 olarak bulunmuştur (%12).

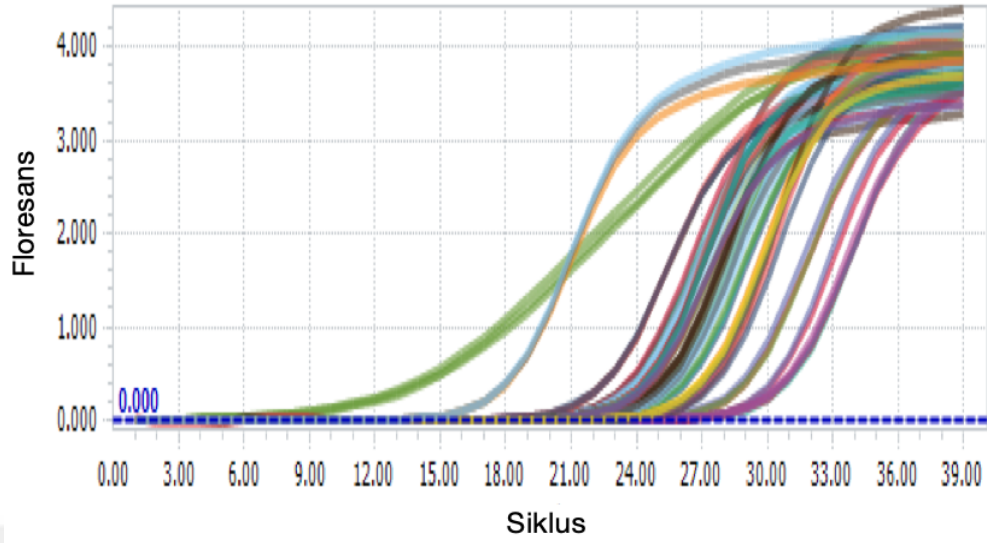


Şekil 4.22. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında *Serratia marcescens* görülme oranı karşılaştırılması. ***: $p < 0.001$.

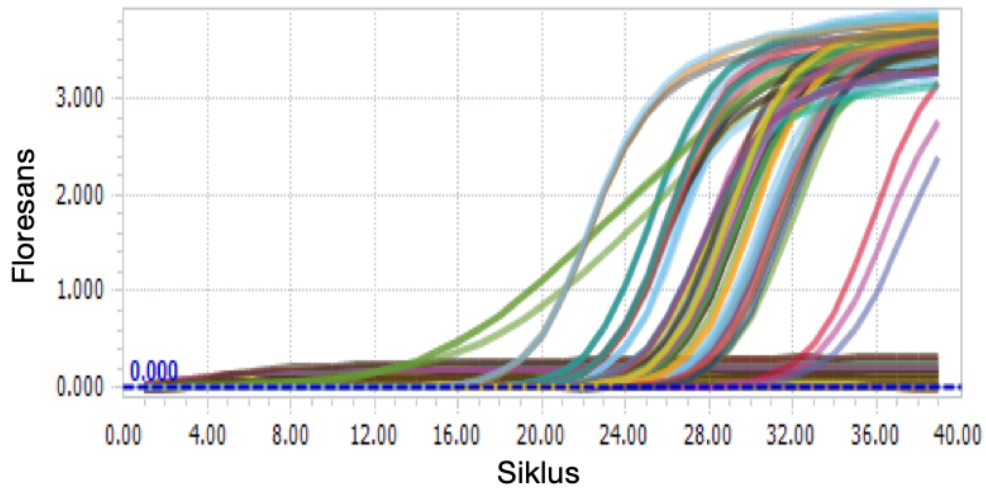
Yapılan analiz sonrası karşılaştırılan iki grup için hem göz hem de burun sürüntü örnekleri açısından *Serratia marcescens* varlığı veya yokluğu göz önüne alındığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir (göz sürüntü örneği için: p -değeri = $1.338e-07$, $X^2 = 27.81$ ve burun sürüntü örneği için: p -değeri = $2.068e-06$, $X^2 = 22.531$).

4.3.5. *Moraxella catarrhalis* Miktarının qPZR ile Tayini

Son olarak KNKLT ve kontrol grubu örnekleminde yer alan göz ve burun örnekleri için qPCR ile *Moraxella catarrhalis* varlığı taranmıştır.

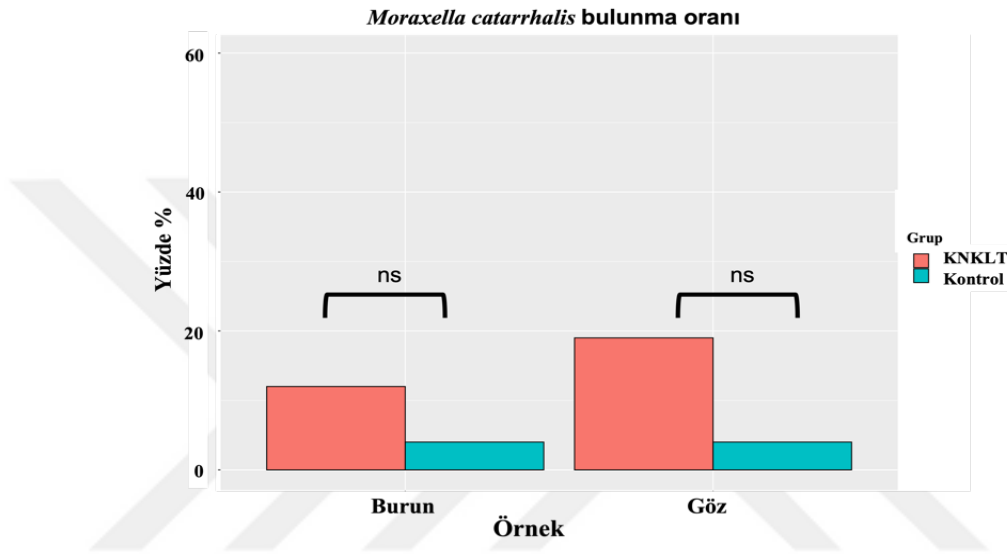


Şekil 4.23. KNLKT göz ve burun sürüntü örneklerinde *Moraxella catarrhalis* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneğı temsil etmektedir.



Şekil 4.24. Kontrol göz ve burun sürüntü örneklerinde *Moraxella catarrhalis* varlığı ve miktarının qPZR ile tayini. X eksenı döngü sayısını, y eksenı floresan yoğunluğunu, şekildeki her bir renk ise bir örneğı temsil etmektedir.

Yirmi altı hastadan alınan sürüntü örnekleri içinden KNLKT göz örneklerinde 5 adet, burun örneklerinde ise 3 adet örnekte *Moraxella catarrhalis* gözlenmiştir. Kontrol grubunda ise 1 göz ve 1 burun örneğinde *Moraxella catarrhalis* varlığı teyit edilmiştir.



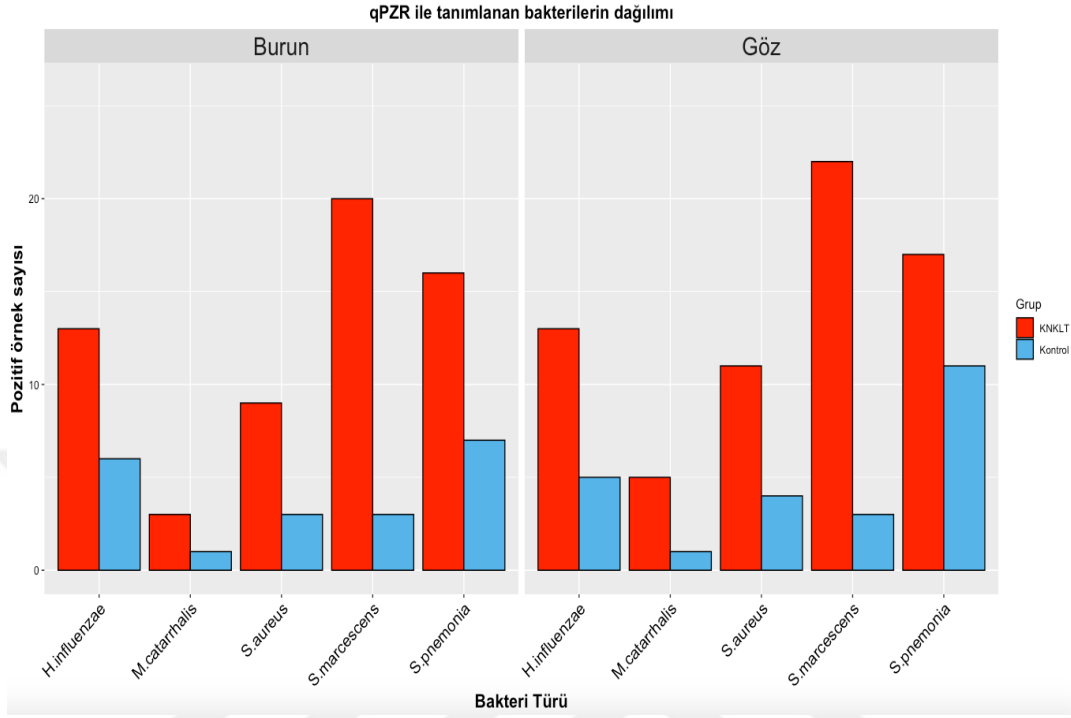
Şekil 4.25. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında *Moraxella catarrhalis* görülme oranı karşılaştırılması. ns: istatistiksel olarak anlamlı değil.

Verilerin analizi sonrası hem göz (p-değeri = 0.08252, $X^2 = 3.0145$) hem de burun (p-değeri = 0.298, $X^2 = 1.0833$) sürüntü örnekleri için kontrol ve KNLKT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

4.3.6. Verilerin Kantitatif Değerlendirilmesi

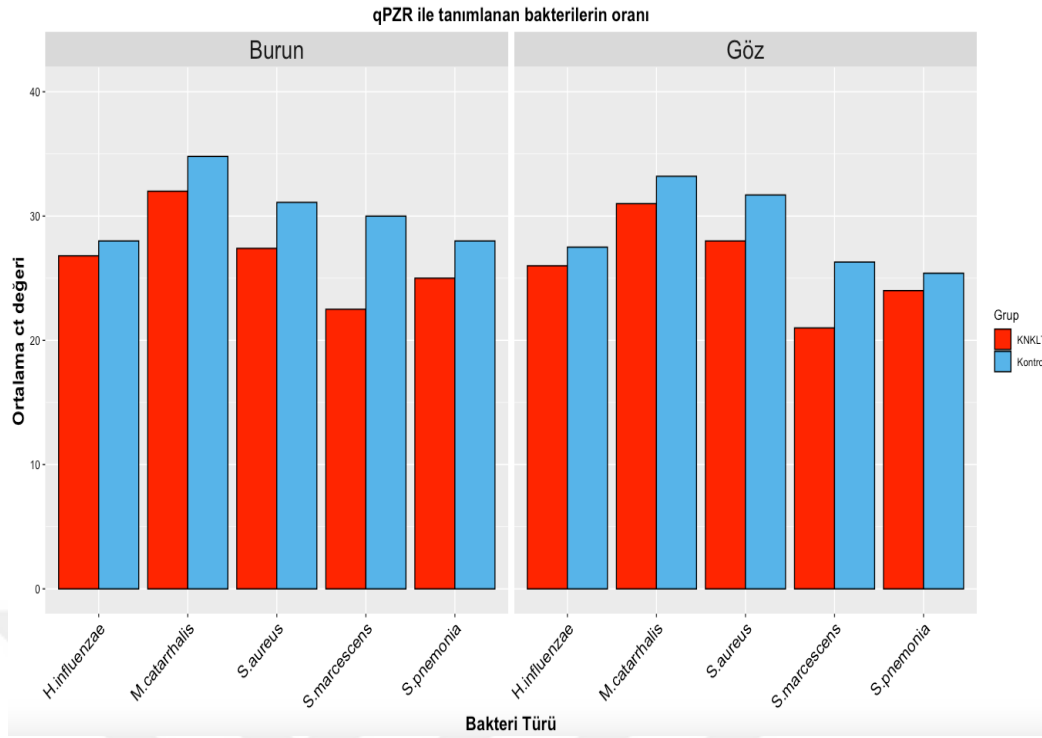
Bütün verilerin bir arada görselleştirildiği figürler aşağıda yer almaktadır. İlk olarak hem göz hem de burun için alınan 26 örnek için hangi grupta kaç pozitif ölçüm yaptığı Şekil 4.26'da görselleştirilmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere hem göz hem de burun için pozitif örnek sayısı KNLKT grubunda kontrol grubuna göre önemli

derecede yüksektir. Bu iki grup arasında pozitif örnek sayısı açısından en büyük fark *Serratia marcescens* bakterisi için gözlenmiştir.



Şekil 4.26. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından pozitif örnek sayısı dağılımı.

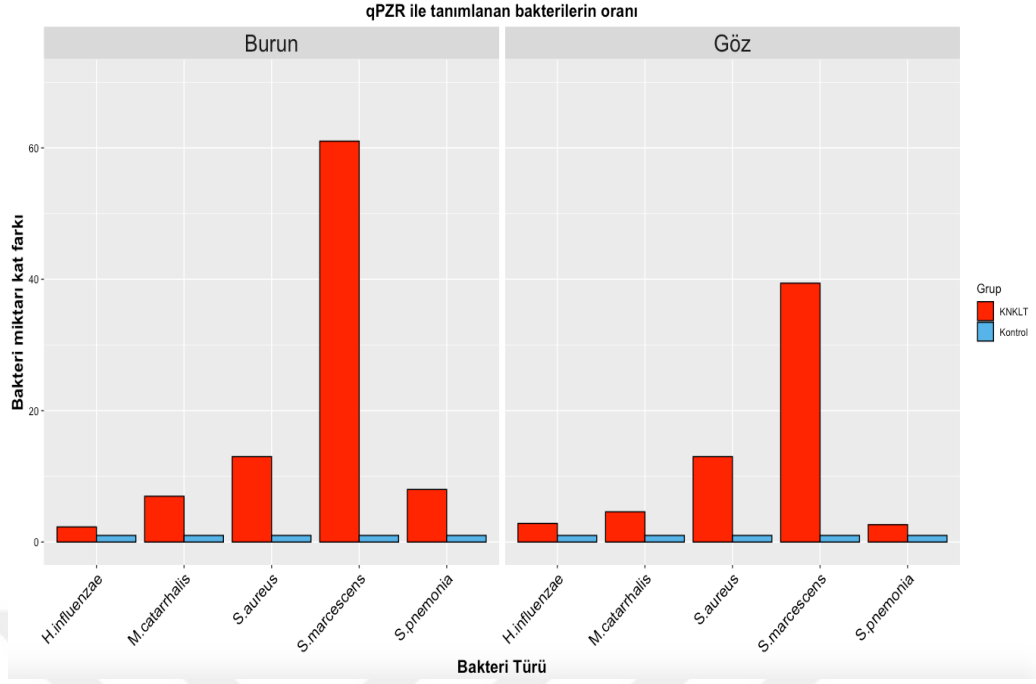
Bir sonraki analizde ise bakterilerin miktarları gruplar arasında karşılaştırılmış ve tek yönlü Anova analizi ile istatistiksel olarak görülen farkın anlamlı olup olmadığı test edilmiştir. Miktar farkı için ct değerleri kullanılmış olup, örnekler arasındaki kat farkı 2^{ct} olarak hesaplanmıştır. Ct değerinin küçüklüğü daha erken floresan ışımanın alınmış olduğu ve böylece daha küçük ct değerine sahip olan örneğin bakteri miktarı açısından daha yüklü olduğu anlamına gelmektedir.



Şekil 4.27. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından elde edilen ortalama ct değeri dağılımı.

Şekil 4.27’de de görülmüş olduğu üzere ct değeri KNLKT grubu için kontrol grubuna göre daha küçüktür. Bu sebeple KNLKT grubunda yer alan göz ya da burun örnekleri bakılan bakterilerin miktarı açısından daha yüksek bir değere sahiptir. Bu da KNLKT patolojisine sahip hastalarda ilgili bakterilerin daha yoğun bulunduğunu göstermektedir.

Ayrıca ilgili ct değerlerinden yola çıkarak bakteri yükünün gruplardaki dağılımı da hesaplanmış ve bu dağılım istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Aşağıdaki şekilde de görüldüğü üzere bakteri yükü ölçeğinde KNLKT grubunu oluşturan örneklerle kontrol grubu arasında büyük bir fark vardır (Şekil 4.28). Tek yönlü Anova analizi ve post-hoc Tukey testi sonuçlarında KNLKT ve kontrol grupları anlamlı olarak farklı bulunmuştur (Tablo 4.5).



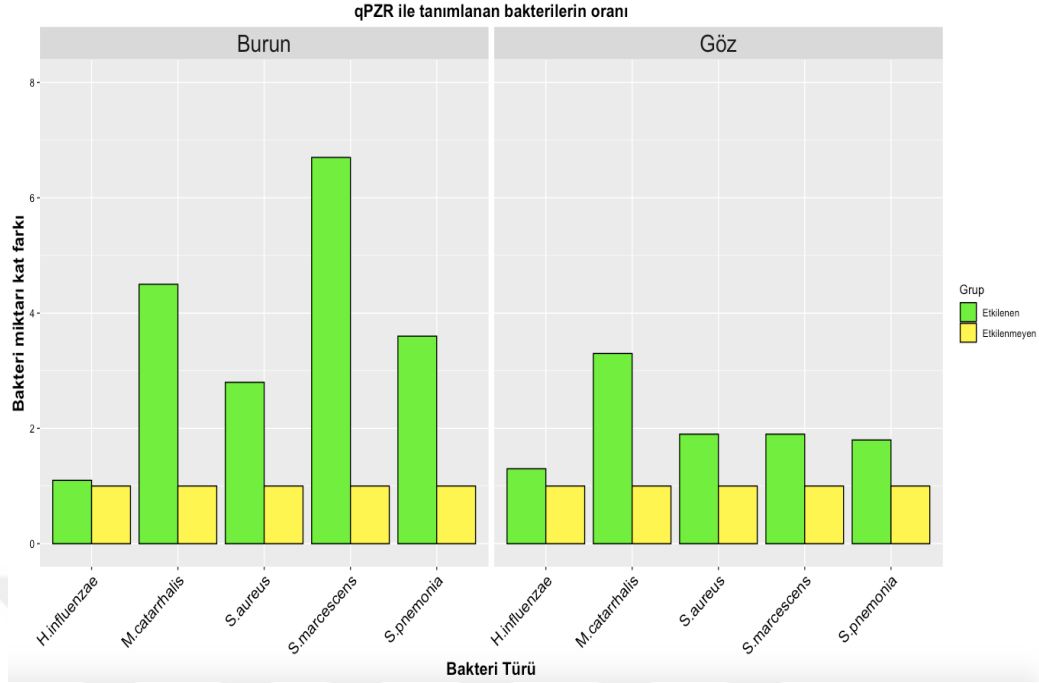
Şekil 4.28. qPZR analizi sonrası KNKLT ve kontrol grupları arasında bütün bakteriler açısından bakteri yükü karşılaştırması.

Tablo 4.6. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNKLT ve kontrol grubu arasındaki bakteri miktarı kat farkı.

Bakteri Türü	Kontrol grubuna göre KNKLT kat farkı (göz)	Kontrol grubuna göre KNKLT kat farkı (burun)	İstatistiksel anlamlılık (göz)	İstatistiksel anlamlılık (burun)
<i>Streptococcus pneumonia</i>	2.63	8.0	P<0.05	P<0.01
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12.6	P<0.001	P<0.01
<i>Haemophilus influenzae</i>	2.82	2.29	P<0.05	P<0.05
<i>Serratia marcescens</i>	39.3	61	P<0.001	P<0.001
<i>Moraxella catarrhalis</i>	4.6	6.05	P<0.05	P<0.01

4.4. KNKLT Grubu İçinde Tıkalı ve Sağlam Taraflar Arasındaki Karşılaştırma

Bir sonraki analiz basamağında hastaların etkilenen ve etkilenmeyen taraflar arasında karşılaştırma yapılmıştır. 26 hastanın 18'inde etkilenen taraf sağ, 8'inde sol olarak kayıt altına alınmıştır. Bakterilerin miktarı ve örnek tarafları arasındaki bakteri miktarı karşılaştırması şekil 4.29'da yapılmıştır. Görüldüğü üzere KNLKT'li hastalarda etkilenen ve etkilenmeyen taraflar açısından bakteri kat farkı KNLKT ve kontrol grupları arasındaki karşılaştırmaya göre azalmış olup, hastaların iki oküler yüzey ve burun deliği mikrobiyomunun birbirine yaklaştığı düşünülmüştür. Özellikle bu benzeşme oküler örnekler için daha belirgindir (Tablo 4.7, Şekil 4.29). Burun örnekleri için dört bakteri türünün, göz örnekleri için ise bir bakteri türünün miktarının anlamlı olarak değiştiği gözlenmiştir. Bununla beraber *Moraxella catarrhalis* hem göz hem de burun örnekleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark gösteren tek bakteri türüdür.



Şekil 4.29. qPZR analizi sonrası KNKLT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bütün bakteriler açısından bakteri yükü karşılaştırması.

Tablo 4.7. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNKLT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bakteri miktarı kat farkı.

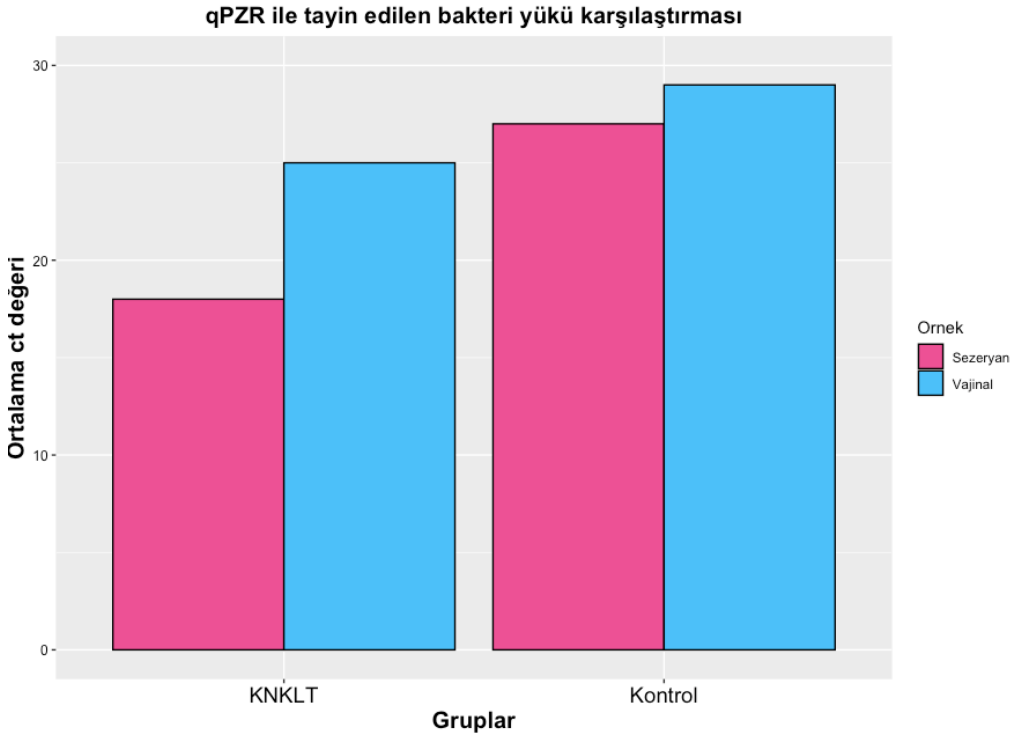
Bakteri Türü	Etkilenmeyen tarafa göre Etkilenen taraftaki kat farkı (göz)	Etkilenmeyen tarafa göre Etkilenen taraftaki kat farkı (burun)	İstatistiksel anlamlılık (göz)	İstatistiksel anlamlılık (burun)
<i>Streptococcus pneumonia</i>	1.8	2.6	P>0.05	P<0.05
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.9	2.8	P>0.05	P<0.05
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.3	1.1	P>0.05	P>0.05
<i>Serratia marcescens</i>	1.9	6.7	P>0.05	P<0.01
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3.3	4.5	P<0.05	P<0.01

4.5. Bakteri Yüğü ve Klinik Veriler ile İlişkilili Karşılaştırmalar ve Analizler

Ayrıca doğum şeklinin KNLKT gelişimi ile ilişkisi de istatistiksel olarak araştırılmış ve veri setimiz için istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. KNLKT için çalışan 26 örneğin alındığı bireylerin yarısının sezaryen, diğer yarısının ise vajinal doğum ile dünyaya geldiği not edilmiştir. Kontrol grubu için ise sezaryen doğum sayısı 12, vajinal doğum sayısı 14'tür.

Karşılaştırma yapılan gruplarda sezaryen doğum KNLKT için tüm doğumlar içinde %50, kontrol grubu için ise %46.1 olarak bulunmuştur. Normal doğum ise KNLKT için %50, kontrol grubu için ise %53.9 olarak bulunmuştur.

Bakterilerin tespit edildiği ortalama eşik değeri hem KNLKT hem de kontrol grubu için bulunmuş ve şekil 4.30'da görselleştirilmiştir. En düşük ct değerine sahip KNLKT grubu sezaryen doğum örnekleri bakteriyel yükün en fazla olduğu grup olarak bulunmuştur.



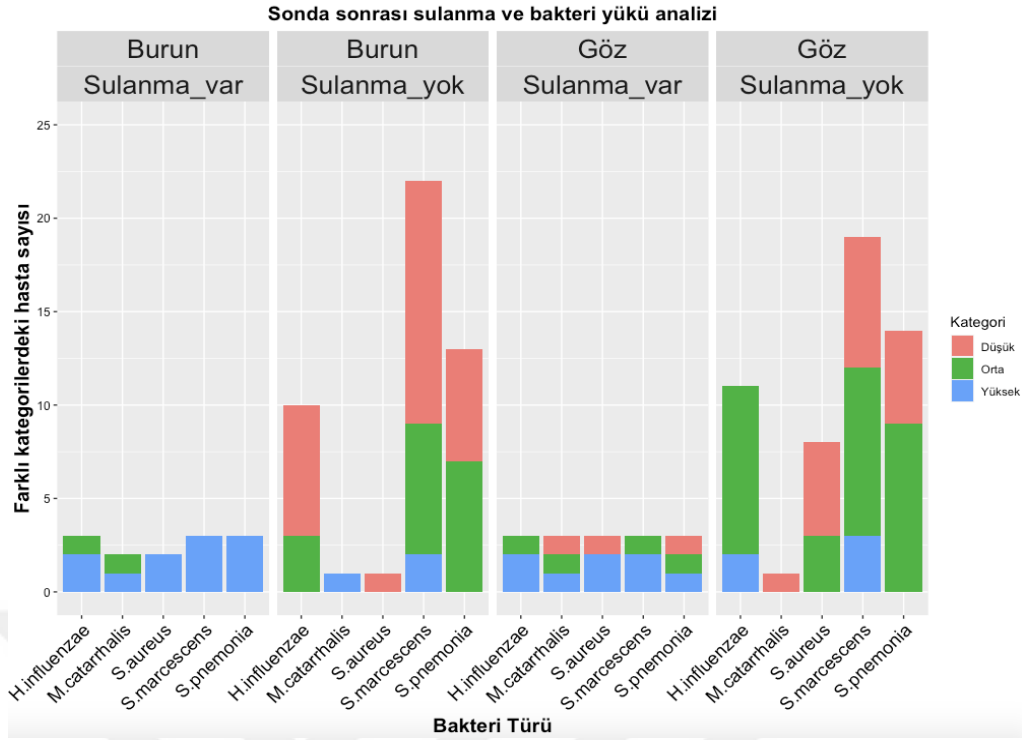
Şekil 4.30. qPZR analizi sonrası KNLKT ve kontrol grupları arasında normalize edilmiş ortalama ct değeri dağılımı (bütün bakteriler açısından)

Yapılan ikili karşılaştırmalar sonrası kat farkları ve istatistiksel anlamlılık tablosu ise şöyledir:

Tablo 4.8. Anova analizi Tukey post-hoc karşılaştırması sonrası KNKLT hasta örneklerinde etkilenen ve etkilenmeyen taraflar için bakteri miktarı kat farkı.

Karşılaştırma	Bakteri yükü kat farkı	Karşılaştırma için istatistiksel anlamlılık
KNKLT sezaryen vs KNKLT vajinal	67.4 (sezaryen için artış)	P<0.001
Kontrol sezaryen vs Kontrol vajinal	3.7 (sezaryen için artış)	P<0.05
KNKLT sezaryen vs Kontrol sezaryen	61.3 (KNKLT grubu için artış)	P<0.001
KNKLT vajinal vs Kontrol vajinal	14.6 (KNKLT grubu için artış)	P<0.001

Yapılan bir diğer analizde ise KNKLT hastalarında sonda işlemi sonrası sulanma görülen bireylerin örnekleri ile sulanma görülmeyen bireylerin örnekleri karşılaştırılmıştır. KNKLT'li hastalarda bütün bakterilerin ışıma vermeye başladığı döngü (ct değeri) normalize edildiğinde 25 olarak bulunmuştur. Bu normalizasyon dikkate alınarak her örnek için her bakteri yükü düşük (ct değeri>28), orta (22<ct değeri<28) ve yüksek (ct<22) olarak üç kategoriye ayrılmıştır. Sonda sonrası her örneğin sulanma ve bakteri yükü kıyası aşağıdaki şekilde verilmiştir.



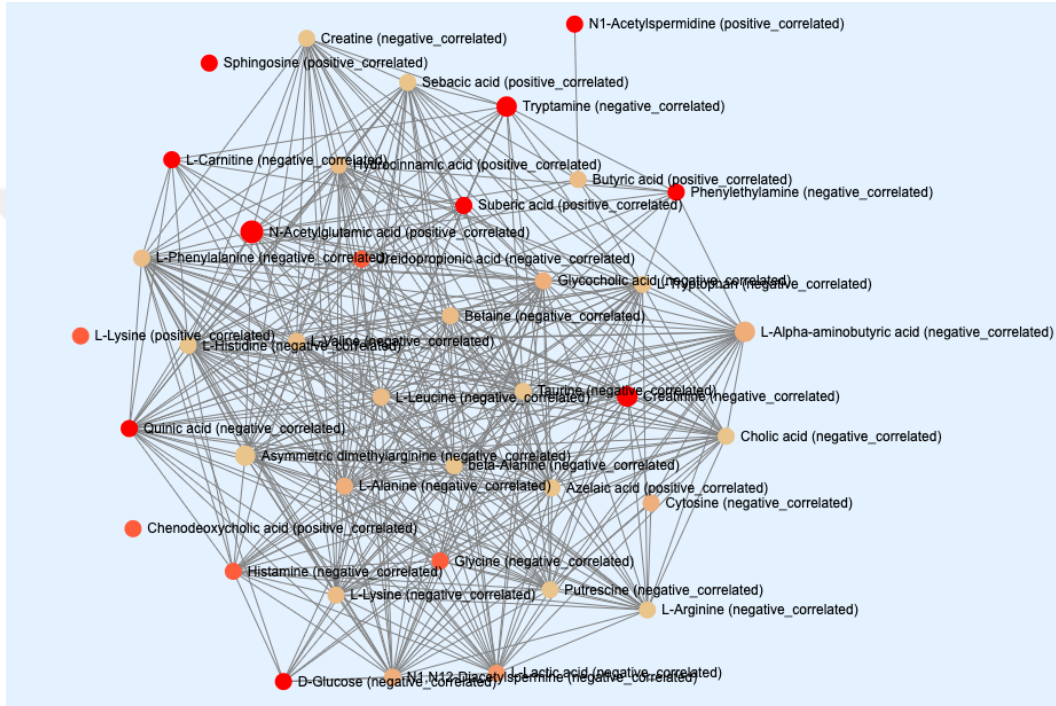
Şekil 4.31. KNKLT’li hastalarda sonda başarısı. Sonda sonrası sulanma olan ve olmayan hastaların örneklerinde bakteri yükü karşılaştırması.

Sonda sonrası sınırlı sayıda sulanma şikayeti olan hasta varlığı iki grup arasında istatistiksel bir analiz yapılmasına olanak vermemektedir. Bununla beraber sulanma şikayeti olan bireylerin örneklerindeki bakteri yükü büyük oranda orta ve yüksek seviyede skorlanırken, bu durum sulanma şikayeti olmayanlarda düşük ve orta şeklindedir.

4.6. Bakteri Türü/Yükü Tespiti Sonrası Metabolit ve Hastalık Yolakları Analizi

Konjenital nazolakrimal tıkanıklığı göz örnekleri için incelenen bakteri türlerinin kalitatif analizlerde üç tanesinin (*Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*), kantitatif analizlerde ise tümünün (*Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Serratia marcescens* ve *Moraxella catarrhalis*) kontrol grubuna göre anlamlı derecede farklı çıkmış olması sebebiyle metabolit ve ilişkili hastalık spektrumu analizlerinde tüm bakteriler girdi olarak kullanılmıştır. Elde edilen metabolit ve ilişkili hastalık ya da sağlık durumu etkileşim

ağı aşağıdaki şekillerde verilmiştir. Metabolit analizleri sonrasında metabolit-metabolit ilişki ağı içinde hub (merkez) metabolit olarak ortaya çıkanlar Betaine, L-carnitine, L-leucine ve L-alanine'dir. Bu metabolitlerin bakterilerin varlığında negatif olarak regüle edildiği görülmüştür. Bakterilerin aktiviteleri ile sayılan metabolitler arasında ters yönlü bir ilişki vardır. Bu da KNKLT örneklerinde bu metabolitlerin azalmış olma ihtimalini düşündürmektedir.



Şekil 4.32. KNKLT örneklerinde beş bakteri türünün enzimatik aktivitesi sonucu artan ya da azalan metabolom-metabolom etkileşim ağı. Negative_correlated: Negatif korelasyon; Positive_correlated: Pozitif korelasyon

Bir sonraki basamakta bu beş bakteri türü ve ilişkili olduğu hastalık-hastalık ağı incelenmiş ve görselleştirilmiştir. Myokardial enfarksiyon, diyabet ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi metabolik hastalıklar durumunda ilişkili organlarda bu bakteri türlerinin artmış olduğu görülmüştür.

5. TARTIŞMA

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı (KNLKT), pediatrik popülasyonda doğumdan itibaren görülen nazolakrimal drenaj sistemindeki bir bozukluktur. Bazı olgularda doğumdan sonra kendiliğinden düzelebilebilen bu tıkanıklığın hangi faktörlere bağlı olduğu, nelerden etkilendiği net olarak aydınlatılamamıştır.

Üzerinde en çok durulan konulardan birisi doğum şekli ve KNLKT arasındaki ilişkidir. Bilge AD, sezaryen yoluyla doğan bebeklerin, vajinal yol ile doğan bebeklere kıyasla KNLKT geliştirme riskinin 3.75 kat daha yüksek olduğunu bulmuştur. Bunun da sezaryen ile doğumda immaturitenin oluşu ile ilişkili olabileceği ileri sürmüştür. [110]. Kuhli-Hattenbach ve ark. sezaryen ile doğan bebeklerde konjenital dakriyostenoz prevelansının daha yüksek olduğu bulmuştur [111]. Spaniol ve ark. primer sezaryen doğum ile KNLKT arasında olası bir ilişki kurulabileceğini belirtmiştir [112]. Palo ve ark. kompleks KNLKT ile sezaryen doğum arasında önemli bir ilişki olabileceğini öne sürmüştür [113]. Tavakoli ve ark. sezaryen ile doğan term bebeklerin diğer bebekler içerisinde KNLKT için %55 daha riskli olduğunu, inceledikleri hasta grubu içerisinde kendiliğinden düzelmeyen KNLKT'li hastalarının %74'ünün sezaryen ile doğduğunu saptamıştır. Yine bu hastalar içerisinde sondalama işleminin başarısız olduğu hastaların %86.2'sinin sezaryen ile doğduğu belirlenmiştir ve sezaryenin gestasyonel yaştan bağımsız olarak (prematür veya term) KNLKT için risk faktörü olduğu, KNLKT'de ek cerrahi girişimler gerektirdiği rapor edilmiştir [90]. Alakuş ve ark. KNLKT etyopatogenezinde ilk doğumda sezaryen ve ailede KNLKT öyküsü varlığının önemli risk faktörleri olabileceğini öne sürmüştür [40]. Vajinal yolla ilk doğumda KNLKT'nin daha az görülmesinin, doğum sırasında artan dış basınca ve amniyotik sıvıya salınan yüksek miktarda kollajenolitik faktörlerin Hasner valvi üzerindeki fizyolojik etkisine bağlı olabileceği öne sürülmüştür.

Bilindiği üzere, bebeklerde doğum şekline göre (sezaryen veya vajinal) değişen flora özellikleri rapor edilmiştir [5,91,93]. Yukarıda bahsedilen çalışmalarda sezaryen doğumun KNLKT ile ilişkili bulunması, doğum şekline göre farklılık gösteren flora özelliklerinden kaynaklanıyor olabilir. Yaptığımız çalışmada, incelediğimiz beş bakteri yükü açısından, KNLKT grubu sezaryen doğum örnekleri

bakteriyel yükün en fazla olduğu grup olarak bulunmuştur. Sezaryen ile doğan KNLKT’li bebeklerin, kontrol grubunda sezaryen ile doğan bebeklere göre bakteri yükü kat farkı 61.3 olarak tespit edilmiştir. Yine, vajinal yolla doğan KNLKT’li bebeklerin, kontrol grubunda vajinal yolla doğan bebeklere göre bakteri yükü kat farkı 14.6 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre değerlendirildiğinde, incelediğimiz beş bakterinin artmış miktarları doğum şeklinden bağımsız olarak KNLKT grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edilmiştir.

Literatürde, KNLKT ile ilgili yapılan çalışmaların bir kısmında mikrobiyolojik çalışmalar ön plana çıkmaktadır. Bunların çoğu KNLKT’li çocukların müköpürülen sekresyonlarından elde edilen örneklerde bakteri karakterizasyonu ve antibiyotik duyarlılığını araştırmaya yöneliktir [1, 10, 97, 99, 114-118]. Örneğin, Cevher ve ark. yaptıkları bir çalışmada KNLKT’li bir yaş altı olguların müköpürülen akıntı örneklerini değerlendirmiş, örneklerin %65’inde kültür sonucu pozitif bulunmuştur. İzole edilen mikroorganizmaların %85.2’si gram-pozitif, %14.8’i gram negatif olarak belirlenmiştir. *Streptococcus pneumoniae* (%29.6) ve *Staphylococcus aureus* (%11.1) en fazla izole edilen mikroorganizmalardır. Bu çalışma ile KNLKT olan hastalarda en sık gram pozitif mikroorganizmaların olduğu saptanmıştır [10]. Natarajan K. ve ark. 5 yaş altı KNLKT’li bebeklerde lakrimal keseden çıkan akıntının kültürünü yapmış ve en sık *Streptococcus pneumoniae* (%42) izole etmiştir [110]. Madan ve ark. ise, kültür sonuçlarında en sık *Haemophilus influenzae* (%40.5) ve *Streptococcus pneumoniae* (%26.8) saptanırken bunu *Moraxella catarrhalis* (%13.7), *Stafilococcus aureus* (%12.3), *Pseudomonas aeruginosa* ’nın (%0.65) takip ettiği görülmüştür [97]. Kuchar ve ark. KNLKT olan bebeklerde muköpürülen akıntının bakteriyolojisini incelemiştir. Örneklerin %72.64’ünde kültür pozitif gelmiş olup bakteri türlerinde %35.4 *Streptococcus pneumoniae*, %19.6 *Haemophilus influenzae* saptanmıştır [114]. Taner ve ark. yaşları 1-9 ay arası KNLKT’li bebeklerde yaptıkları 26 olguluk bir çalışmada müköpürülen akıntıdan aldıkları kültür örneklerinin %75.8’inde üreme saptamıştır. Kültür sonuçlarında, %79 oranında gram pozitif bakterilerin ürediğini gözlemiştir. En sık saptanan bakteri *Streptococcus pneumoniae* (%37.5) iken, ikinci sıklıkta *Staphylococcus epidermidis* (%16.6) yer almıştır [111]. Göncü ve ark. KNLKT’li 21 olgunun 25 gözünün mikrobiyolojik incelemesinde örneklerin %24’ünde kültür sonucunu pozitif olarak saptamıştır. Beş (%83.3) olguda *Streptococcus pneumoniae* tespit edilmiştir [115]. Bareja ve Ghose, konjenital dakriyosistitli hastalarda yaptıkları çalışmada en

sık gram pozitif kokları (%57.9) bunlar içinde en baskın *Streptococcus pneumoniae* (%28.9) bulmuştur [117]. Usha ve ark. 0-5 yaş arası KNLKT'li hastalarda mikrobiyal florayı saptamak için lakrimal keseye basıyla çıkan akıntıyı kültüre etmiş ve örneklerin %83'ü pozitif kültür vermiştir ve en sık gram pozitif bakteriler izole edilmiştir. Gram pozitif izolatlardan en sık *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus viridans* saptanmıştır. İzolatların %43'ünü gram negatif bakteriler oluşturmuştur ve en sık görülen gram negatif *Haemophilus influenza* olmuştur [1]. Muthumalai. ve ark, 0-16 yaş arasında KNLKT'li hastalardan lakrimal keseye basıyla çıkan akıntıdan sürüntü alarak mikrobiyolojik inceleme yapmıştır. Örneklerin %82.8'inin kültürü pozitif gelmiş ve en sık gram pozitif (%84.24) organizmanın ürediğini saptamıştır. En yaygın gram pozitif izolat *Staphylococcus epidermidis* (%30.9) ve en yaygın gram negatif izolat *Haemophilus influenza* (%5.5) olarak bulunmuştur [118]. Zheng ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise bir yaş altı tek taraflı KNLKT'si olan Çinli bebeklerde lakrimal keseden reflü olan akıntıyı kültüre etmiş ve örneklerin %87.5'inde pozitif kültür tanımlamıştır. Örneklerin %57.1'inde sadece gram pozitif bakteri ve içerisinde en sık *Streptococcus pneumoniae* (%23.7) olarak bulunmuştur. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) %6.3 bebekte saptanmıştır. Gram negatif organizmaların (%39.5) içerisinde en sık *Haemophilus türleri* (%21.1) (*Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus haemolyticus*) yaygın olarak izole edilmiştir. Tüm bu veriler sonucunda bu çalışmada bir yaş altı KNLKT olan bebeklerde gram pozitif olarak Streptokok; gram negatif olarak *Haemophilus* baskın olarak bulunmuştur. [99].

Yukarıda bahsedilen bu çalışmalarda, hastaların yaş grupları ve klinik özelliklerinin farklı olması nedeniyle elde edilen kültür pozitiflik oranları ve izole edilebilen ajanlar birbirinden farklılık göstermektedir. Ancak, genel olarak bakıldığında, *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae* gibi gram pozitif bakteriler daha sık tespit edilmiştir. Gram negatif bakteriler içinde de en sık saptanan ajan *Haemophilus influenzae* olarak rapor edilmiştir. Çalışmamızda, bu literatür verileri dikkate alınarak, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis* ve *Serratia marcescens* gibi olası en sık ajanların irdelenmesi hedeflenmiştir. Yayınlanmış bu çalışmaların hepsi geleneksel kültür yöntemi ile yapılmıştır. Çalışmamızda uyguladığımız polimeraz zincir reaksiyonu temelli bakteri izolasyon yöntemleri kalitatif ve kantitatif olarak sonuç vermekle birlikte geleneksel kültür yöntemlerinin kontaminasyon gibi dezavantajlarından da

uzaktır. Elde ettiğimiz kalitatif sonuçlarda, oküler yüzeyden aldığımız örneklerde incelediğimiz beş bakteri türünün de KNLKT’li çocuklarda kontrol grubuna göre daha fazla olduğunu izledik. Ancak, oküler yüzey örnekleri için bu fark sadece *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* ve *Serratia marcescens* için anlamlı tespit edildi. Kantitatif analizlerde ise tüm bakteri türlerinde bakteri miktarı kat farkı KNLKT grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksekti. Bu bulgularımız, daha önce yapılmış kültür çalışmalarında en çok izole edilen bakteriyel ajanları destekler niteliktedir. Ayrıca, daha önce vurgulandığı üzere, diğer çalışmalarda mikrobiyolojik analizler mukopürülan sekresyonlardan yapılmış olup direkt olarak oküler yüzey florasını temsil etmemektedir. Çalışmamızda farklı olarak özellikle enfekte olmayan ve mukopürülan sekresyonu olmayan KNLKT’li bireylerde oküler yüzey florası incelenmiştir. KNLKT’li bireylerin kendi içinde (tıkalı taraf ve sağlam taraf) oküler florasını incelediğimizde, KNLKT bulunan tarafta yalnızca *Moraxella catarrhalis*’in daha yüksek oranda bulunduğu ve diğer bakteriler açısından tıkalı olan ve olmayan tarafın benzer olduğu görülmüştür. Bu durum, KNLKT’de oküler floradan ziyade burun florasındaki değişimin önemli olabileceğini düşündürülebilir.

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı ile ilgili bir diğer mikrobiyolojik çalışmada ise lakrimal drenaj sisteminin steril salinle irrigasyonu sonucu elde edilen sıvı kültüre edilmiştir [119]. Prokosch ve ark. 6-16 aylık KNLKT’li bebeklerde yaptıkları bu çalışmada en sık gram pozitif mikroorganizmaları izole etmişlerdir. Bunların içinde de en sık *Streptococcus pneumoniae* (%31) ve bunu takip eden oranlarda *Staphylococcus aureus* (%13) ve *Staphylococcus epidermidis* (%13) saptanmıştır. En sık saptanan gram negatif mikroorganizmalar *Branhamella* (%12) ve *Haemophilus influenza* (%11) olmuştur. Bu çalışmadaki örnekler direkt olarak burun florasından değil irrigate edilen sıvıdan alınmıştır.

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığında en sık rastlanılan anatomik problem burun içinde nazolakrimal kanalın buruna açıldığı yerde perfore/rezorbe olmamış Hasner valvinin bulunmasıdır. Alt konkanın altında bulunan bu membranöz yapının bazı çocuklarda neden kendiliğinden rezorbe olmadığı henüz bilinmemektedir. Çalışmamızın çıkış noktalarından birisi, burun içindeki değişmiş bazı bakteri düzeyleri ve bu bakterilerin metabolik fonksiyonlarının Hasner valvi rezorbsiyonu

ile ilişkisinin araştırılmak istenmesidir. Bir diğer deyişle, farklı burun flora özellikleri KNLKT etyolojisinde rol oynuyor olabilir. Literatürde, KNLKT’de burun florasını inceleyen bir çalışma henüz yoktur. Çalışmamız bu anlamda yapılmış ilk çalışmadır. Çalışmamızda incelediğimiz *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* KNLKT bulunan taraftaki burun florasında, tıkalı olmayan tarafa göre istatistiksel olarak daha yüksek oranda bulunmuştur. Ayrıca, KNLKT’li taraf burunda, beş bakteri türünün varlığı kontrol grubuna göre daha yüksek oranda tespit edilmiştir. Ancak, her iki grup arasındaki fark sadece *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Serratia marcescens* için istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir. Oküler yüzey analizlerine benzer şekilde, kantitatif değerlendirmede tüm bakteri türlerinde bakteri miktarı kat farkı KNLKT’de grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda, KNLKT’li çocuklarda hem oküler yüzey hem de burunda *Haemophilus influenzae* ve *Serratia marcescens*’ın kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha fazla izole edilmesi, KNLKT etyolojisinde bu iki bakterinin üzerinde durulmasını gerektirebilir.

Al-Faky ve ark. KNLKT olan hastalardaki farklı mikroorganizmaların nazolakrimal kanal tıkanıklığını-kanal darlığını arttırmadaki etkisi ile sondalama veya silikon entübasyon tedavi yöntemlerinden hangisinin başarısız olmasına sebep olabileceğini araştırmıştır. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan hastalarda en çok *Streptococcus pneumoniae* ve *Hemophilus influenzae* (%48.1 ve %39.2) saptanmıştır. Sert-dar KNLKT’de *Serratia marcescens* (%100) ve *Staphylococcus aureus* (%33.3) yaygın bulunmuştur. *Staphylococcus aureus* varlığında sondalama %37.5 oranında başarılı olurken silikon tüp entübasyonunun %100 başarılı olduğu saptanmıştır. Bu mikrobiyolojik çalışma *Serratia marcescens* ve *Staphylococcus aureus*’un sert NLKT ile ilişkili olduğu ve bu mikroorganizmaların saptandığı hastalarda silikon tüp entübasyonun daha başarılı sonuçlar vereceği görülmüştür [98]. Çalışmamızda, 26 olgunun sadece 3’ünde sondalama işlemi başarısız olmuştur. Sondalama işleminin başarısız olduğu bu 3 hastada bakteri yükü, ct değerlerine göre, büyük oranda orta ve yüksek seviyede skorlanmıştır. Bu sonuçlar, incelenen 5 bakterinin artmış miktarlarının sondalama başarısını da olumsuz etkileyebileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, çalışmamızda hem oküler yüzey hem de burunda, kontrol grubundan en fazla farklılık gösteren bakteri *Serratia marcescens*’tir. Al-Faky ve ark.’nın çalışmasında da sert-dar KNLKT’li olguların hepsinde *Serratia marcescens*

tespit edilmiştir. Bu nedenle, daha ileri çalışmalarda, KNLKT etyolojisinde özellikle *Serratia marcescens*'in rolünün daha fazla araştırılması önemli olabilir.

Yukarıda bahsedilen çalışmaların büyük çoğunluğunda mukopürülan sekresyonlardan, yani enfekte gözlerden bakteri izolasyonu yapılmıştır. Çalışmamızda ise KNLKT grubunda özellikle aktif enfeksiyon bulgusu olmayan çocuklar incelenmiştir. Buradaki amacımız, enfeksiyon durumundaki mikrobiyolojik ajanların karakterizasyonundan çok tıkanıklık etyolojisinde rol alabilecek ajanların tespit edilmesidir.

Curragh ve ark. erişkin NLKT'li hastalarda lakrimal kese ve sinonazal mikrobiyomu PZR yöntemi ile değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda, daha önce kültür yöntemi ile yapılan çalışmalarda belirlenemeyen *Corinebacterium*'un NLKT'li hasta grubunda kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu saptamıştır. Bu çalışmanın sonucunda değişen mikrobiyomun NLKT için bir risk faktörü veya NLKT'nin bir sonucu olabileceği düşünülmüştür[102]. Literatüre bakıldığında KNLKT'li hastalarda PZR yöntemi ile yapılmış herhangi bir mikrobiyom çalışması bulunmamaktadır. Daha sonraki çalışmalarda, KNLKT'de de PZR yöntemi ile yapılacak daha geniş mikrobiyom analizleri farklı bakterilerin tespitini sağlayabilir.

Çalışmamızda KNLKT grubunda anlamlı yüksek bulduğumuz *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Serratia marcescens* ve *Moraxella catarrhalis* bakterilerinin metabolit analizleri sonrasında, betaine, L-carnitine, L-leucine ve L-alanine metabolitlerinin bu bakterilerin varlığında negatif olarak regüle edildiği gördük. Yani bu sonuç, KNLKT'li hastalarda bu metabolitlerin azalmış olma ihtimalini düşündürdü. Çalışmamız KNLKT'de metabolik analizlerin yapıldığı ilk çalışma olduğu için diğer çalışmalarla bir kıyaslama yapamamaktayız. Ancak, bu metabolitlerin diğer göz hastalıklarında önemini gösteren çalışmalar mevcuttur. Örneğin, KNLKT'li hastalarda mikrobiyom değişikliği ile ilişkili olarak daha az bulduğumuz metabolitlerden L-carnitine'nin diyabetik retinopatinin ilerleyişine ve oküler iskemik sendromun etkilerine karşı koruma sağladığı, tek veya çift taraflı arter tıkanıklığı olan hastalarda retina hasarını ve görme keskinliğini önemli ölçüde iyileştirdiği gösterilmiştir [120]. Yine, yaşa bağlı makula dejenerasyonu olan hastalarda L-carnitine'nin görme alanı ortalama kusuru, görme

keskinliği, fovea duyarlılığı ve oküler fundus değişiklikleri gibi görme işlev parametrelerini iyileştirdiği gösterilmiştir [121]. Bu nedenle, göz ve görme gelişiminin en yoğun olarak devam ettiği pediatrik yaş grubunda, bu metabolitlerin düzeyindeki olumsuz değişiklikler görsel gelişimi de olumsuz etkiliyor olabilir.

Yapılan başka çalışmalarda L-carnitine ve betaine'nin inflamatuvar yanıtları baskılayan osmoprotektanlar olarak görev yaptığı kuru göz hastalığının tedavisinde potansiyel terapötik etkinliğe sahip olabileceği gösterilmiştir [122]. Oküler yüzeydeki bu metabolik değişiklikler, oküler yüzey gelişim ve fonksiyonunu olumsuz etkiliyor olabilir.

Çalışmamızda hasta sayısının az olması sebebiyle daha farklı demografik özellikler ve mikrobiyom ilişkisi değerlendirilememiş olup bir kısıtlılık olarak ifade edilebilir. Ayrıca, daha önce kullanılmış topikal ilaçların oküler yüzey sonuçlarını ne kadar etkilediğini tam olarak belirlemek mümkün görünmemektedir.

Yine gelecek çalışmalarda, farklı bakteri türlerinin de varlığı ve nisbi oranlarının tayini için 16s rDNA dizilemesi ile bütün bakteri türlerinin tespiti yapılması hastalık patogenezi için daha detaylı bilgiler elde edilmesini sağlayabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde KNLKT ile ilgili mikrobiyolojik çalışmalar incelendiğinde sıklıkla *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae* ile daha düşük sıklıkla da *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* ile karşılaşılmıştır. Ancak bu çalışmaların birçoğu mukopürülan sekresyondan yapılan çalışmalardır. Bu bakterilerin oküler yüzey ve burundaki karakterizasyonu spesifik olarak henüz hiç çalışılmamıştır. Daha önemlisi diğer tüm çalışmalar geleneksel kültür yöntemiyle yapılmış olup, bu yöntemin kontaminasyon veya bakteriyel ajanın üretilmemesi gibi olası risklerine sahiptir. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan hastalarda, kültür bağımsız yöntemler olan ve bakterilerin üretilmesine gerek olmadan, genetik materyallerinin kullanıldığı PZR ve qPZR yöntemleriyle yapılmış herhangi bir mikrobiyolojik analiz ve metabolit çalışması bulunmamaktadır.

Çalışmamızda, *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis*, KNLKT'li hastalarda oküler yüzeyde ve burunda sağlam çocuklara göre tespit edilebilirlik ve miktar açısından daha fazla bulunmuştur. Bu farkın dikkat çekici şekilde en belirgin olduğu bakteri *Serratia marcescens*'tir. Benzer şekilde *Hemophilus influenzae* da KNLKT'li çocuklarda hem oküler yüzey hem de burunda daha fazla tespit edilmiştir. *Streptococcus pneumonia*'nın varlığı ve miktarı, KNLKT'li bireylerde kontrol grubuna göre burunda daha anlamlı olacak şekilde fazla tespit edilmiştir. *Staphylococcus aureus* ise KNLKT'li bireylerin oküler yüzeyinde daha fazla saptanmıştır. Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan çocukların tıkalı ve sağlam tarafları karşılaştırıldığında ise oküler yüzeyde sadece *Moraxella catarrhalis*; burunda ise *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Moraxella catarrhalis* istatistiksel olarak tıkalı tarafta daha fazla tespit edilmiştir.

Doğum şekili dikkate alındığında ise sezaryen ile doğan KNLKT'li çocukların en fazla bakteri yüküne sahip olduğu görülmüştür. Yine vajinal yolla doğan KNLKT'li çocukların, kontrol grubunda vajinal yolla doğan çocuklara göre bakteri yükü daha fazla tespit edilmiştir.

Konjenital nazolakrimal kanal tıkanıklığı olan bebeklerde azalmış betaine, L-carnitine, L-leucine ve L-alanine görsel gelişime olumsuz etki edebilir. Ancak bunun için daha ileri araştırmalara gereksinim vardır.

Sonuç olarak, KNLKT, çocukluk çağında karşımıza çıkan, düzelene kadar tekrarlayan medikal tedaviler hatta cerrahi girişimler gerektirebilen, bu nedenle hem aile hem bebek üzerinde strese neden olan bir hastalıktır. Etiyolojisini henüz tam bilemediğimiz bu durumun aydınlatılması oküler yüzey, görme fonksiyonu nazal sistemin sağlıklı gelişimi için önemlidir.

Bu çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlar ile KNLKT’de oküler yüzey ve burun florasındaki bakteriler ve bunların miktarlarında, metabolik faaliyetlerinde belirgin değişiklikler olduğunu gördük. Ancak, bu değişikliklerin bir sonuç mu yoksa risk faktörü mü olduğunu kesin olarak söyleyememekle birlikte daha ileri çalışmaların bu konuya ışık tutacağını düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Usha K, Smitha S, Shah N, Lalitha P, Kelkar R. Spectrum and the susceptibilities of microbial isolates in cases of congenital nasolacrimal duct obstruction, *J AAPOS*, 2006, 10(5): 469-72.
2. Ducker L, Rivera YR. *Anatomy, Head and Neck, Eye Lacrimal Duct*, Treasure Island (FL):StatPearls, 2022.
3. Dantas RAR. Lacrimal drainage system obstruction, *Semin Ophthalmol*, 2010, 25(3): p. 98-103.
4. Burkat CN, Lucarelli MJ. Anatomy of the Lacrimal System. In: Cohen, A.J., Mercandetti, M., Brazzo, B.G. (eds). *The Lacrimal System*, Springer, New York, NY. 2006: 1-14.
5. Willcox MDP. Characterization of the normal microbiota of ocular surface, *Experimental Eye Research*, 2013, 117: 99-105
6. Danishyar A, Sergent RS. *Orbital cellulitis*, Treasure Island (FL):StatPearls, 2022.
7. Pascale A, Marchesi N, Marelli C, Coppola A, Luzi L, Govoni S, Giustina A, Gazzaruso C. Microbiota and metabolic diseases, *Endocrine*, 2018, 61(3):357-371.
8. Skonieczna-Zydecka K, Janda K, Kaczmarczyk M, Marlicz W, Łoniewski I, Łoniewska B. The Effect of Probiotics on Symptoms, Gut Microbiota and Inflammatory Markers in Infantile Colic: A Systematic Review, Meta-Analysis and Meta-Regression of Randomized Controlled Trials, *J Clin Med*, 2020, 9(4).
9. Belizário JE, Faintuch J, Garay-Malpartida M. Gut Microbiome Dysbiosis and Immunometabolism: New Frontiers for Treatment of Metabolic Diseases, *Mediators of Inflammation*, 2018.

10. Cevher S, Keskek NS, Kayıklık A, Keskek SO. Microorganisms and antibiotic sensitivity in infection of congenital nasolacrimal duct obstruction, *The Journal of Kartal Training and Research Hospital*, 2014, 25(2): p. 107-111.
11. Machiele R, Lopez MJ, Czyz CN. *Anatomy, Head and Neck, Eye Lacrimal Gland*, Treasure Island (FL): StatPearls, 2022.
12. Obata H. Anatomy and histopathology of the human lacrimal gland, *Cornea*, 2006, 25(10 Suppl 1): 82-9
13. Remington LA, Goodwin D. *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System (Third edition)*, Butterworth-Heinemann, 2012
14. Cochran, ML, Aslam, S, Czyz NC. *Anatomy, Head and Neck, Eye Nasolacrimal*, Treasure Island (FL): StatPearls, 2022.
15. Ali MJ, Paulsen F. Human Lacrimal Drainage System Reconstruction, Recanalization, and Regeneration, *Curr Eye Res*, 2020, 45(3): 241-252.
16. Sancak B, Cumhuriyet M. *Fonksiyonel anatomi: Baş-Boyun ve İç Organlar* 4.baskı, ODTÜ Yayıncılık, 2008.
17. You ZH, Bell WH, Finn RA. Location of the nasolacrimal canal in relation to the high Le Fort I osteotomy, *J Oral Maxillofac Surg*, 1992, 50(10): 1075-80..
18. Lemke BN, Lucarelli M. Anatomy of the ocular adnexa, orbit and related facial structures. In: Black EH, Nesi AF, Calvano JC, Gladstone GJ, Levinein MR (eds). *Smith's ophthalmic plastic and reconstructive surgery*, 2nd ed. New York, NY, Springer, 2012: 3-58..
19. Cantor LB, Rapuano CJ, Cioffi GA. *Orbit, Eyelids, and Lacrimal System, Basic and Clinical Science Course, American Academy of Ophthalmology*, 2017.

20. Kushner BJ. The management of nasolacrimal duct obstruction in children between 18 months and 4 years old, *J AAPOS*, 1998, 2(1):57-60
21. Ayub M, Thale AB, Hedderich J, Tillmann BN, Paulsen FP. The Cavernous Body of the Human Efferent Tear Ducts Contributes to Regulation of Tear Outflow, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2003, 44:4900-4907.
22. Rosengren B Kugelberg I. Über die aktive Funktion der Tranenwege beim Lidschlag, *Klin Monstbl Augenheilkd*, 1935. 95: 764-785.
23. Rosengren, B. On lacrimal drainage, *Ophthalmologica*, 1972. 164(6): 409-21.
24. Frieberg T. Über die Mechanik der Tranenableitung mit besonderer Hinsicht auf die Ergebnisse der neueren Tränensackoperationen, *Z Augenheilkd*, 1917, 37: 42-66.
25. Frieberg T. Einige physiologische Probleme der Menschlichen Tränenabflusswege, *Z Augenheilkd*, 1929. 67: 1-20.
26. Fernandez-Valencia R, Gomez Pellico L. Functional anatomy of the human saccus lacrimalis, *Acta Anat (Basel)*, 1990, 139(1): 54-9.
27. Brienens, JA, Snell CA. The mechanism of the lacrimal flow, *Ophthalmologica*, 1969, 159(1): 223-32.
28. Jones, LT. Anatomy of the tear system, *Int Ophthalmol Clin*, 1973, 13(1): 3-22.
29. Jones, LT. Epiphora II. Its relation to the anatomic structures and surgery of the medial canthal region, *Am J Ophthalmol*, 1957, 43(2): 203-12.
30. Paulsen F, Thale A, Kohla G, Schauer R, Rochels R, Tillmann B. Morphological studies on the lining epithelium of human nasolacrimal ducts, *Verh Anat Ges Suppl Anat Anz*, 1997, 180: 227.

31. Rohen JW. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bargman W (Eds), Springer, Berlin, 1964, 448-451.
32. Hurwitz JJ. The lacrimal system, in *Lippincott-Raven*, Hurwitz JJ (Eds), Philadelphia, 1996.
33. Paulsen FP, Schaudig U, Thale AB. Drainage of tears: impact on the ocular surface and lacrimal system, *Ocul Surf.*, 2003, 1(4): 80-91
34. Thale A, Paulsen F, Rochels R, Tillmannet B. Functional anatomy of the human efferent tear ducts: a new theory of tear outflow mechanism, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 1998, 236(9):674-8.
35. Paulsen FP, Corfield AP, Hinz M, Hoffmann W, Schaudig U, Thale AB, Berry M. Characterization of Mucins in Human Lacrimal Sac and Nasolacrimal Duct, *Investigative Ophthalmology&Visual Science*, 2003, 44:1807-1813.
36. Vagge A, Desideri LF, Nucci P, Serafino M, Giannaccare G, Lembo A, Traverso CE. Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction (CNLDO): A Review, *Diseases*, 2018, 6(49):96.
37. Lorena SH, Silva JA, Scarpi MJ. Congenital nasolacrimal duct obstruction in premature children, *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2013, 50(4): 239-44.
38. MacEwen CJ, Young JD. Epiphora during the first year of life, *Eye (Lond)*, 1991, 5(Pt5): 596-600.
39. Aldahash FD, Al-Mubarak MF, Alenezi SH, Al-Faky YH. Risk factors for developing congenital nasolacrimal duct obstruction, *Saudi J Ophthalmol.*, 2014, 28(1): 58-60.

40. Alakus MF, Dag U, Balsak S, Erdem S, Oncul H, Akgol S, Diri H. Is there an association between congenital nasolacrimal duct obstruction and cesarean delivery?, *Eur J Ophthalmol*., 2020, 30(6):1228-1231.
41. Kapadia MK, Freitag SK, Woog JJ. Evaluation and management of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Otolaryngol Clin North Am.*, 2006, 39(5): 959-77, vii.
42. Sathiamoorthi S, Frank RD, Mohnney BG. Incidence and clinical characteristics of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Br J Ophthalmol.*, 2019, 103(4): 527-529..
43. Örgü FH, Boente CS. The Lacrimal System, *Pediatr Clin North Am.*, 2014, 61(3):529-539
44. Ogawa GS, Gonnering RS. Congenital nasolacrimal duct obstruction, *J Pediatr*, 1991, 119(1 Pt 1): 12-7.
45. Takahashi Y, Kakizaki H, Chan WO, Selva D. Management of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Acta Ophthalmol.*, 2010, 88(5): 506-13.
46. Kipp MA, Allen RC. *Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction (CNLDO)*, <https://www.aao.org/education/oculoplastics-center/congenital-nasolacrimal-duct-obstruction-nldo>, 20 Mart 2023.
47. Kushner, BJ. Congenital nasolacrimal system obstruction, *Arch Ophthalmol*, 1982, 100(4): 597-600.
48. Stolovitch C, Michaeli A. Hydrostatic pressure as an office procedure for congenital nasolacrimal duct obstruction, *J AAPOS*, 2006, 10(3): 269-72.
49. Pediatric Eye Disease Investigator Group, A randomized trial comparing the cost-effectiveness of 2 approaches for treating unilateral nasolacrimal duct obstruction, *Arch Ophthalmol*, 2012, 130(12): 1525-33.

50. Kakizaki H, Takahashi Y, Kinoshita S, Shiraki K, Iwaki M. The rate of symptomatic improvement of congenital nasolacrimal duct obstruction in Japanese infants treated with conservative management during the 1st year of age, *Clin Ophthalmol.*, 2008, 2(2):291-4.
51. Karti O, Karahan E, Acan D, Kusbeci T. The natural process of congenital nasolacrimal duct obstruction and effect of lacrimal sac massage, *Int Ophthalmol*, 2016, 36(6): 845-849.
52. Avram E. Insights in the treatment of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Rom J Ophthalmol.*, 2017, 61(2):101-106.
53. Alagoz, G, Serin D, Celebi S, Kükner S, Elçioğlu M, Güngel H. Treatment of congenital nasolacrimal duct obstruction with high-pressure irrigation under topical anesthesia, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2005, 21(6): 423-6.
54. Isaza G, Arora S. Probing without irrigation in children with congenital nasolacrimal duct obstruction, *Clin Invest Med*, 2013, 36(3): E158-62.
55. Kashkouli MB, Karimi N, Khademi B. Surgical management of congenital nasolacrimal duct obstruction; one procedure for all versus all procedures for one, *Curr Opin Ophthalmol*, 2019, 30(5): 364-371.
56. Napier ML, Armstrong DJ, McLoone SF, McLoone EM. Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction: Comparison of Two Different Treatment Algorithms, *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2016, 53(5): 285-91.
57. Young JD, MacEwen CJ, Ogston SA. Congenital nasolacrimal duct obstruction in the second year of life: a multicentre trial of management, *Eye (Lond)*, 1996, 10 (Pt 4): 485-91.
58. Wallace EJ, Cox A, White P, Macewen CJ. Endoscopic-assisted probing for congenital nasolacrimal duct obstruction, *Eye (Lond)*, 2006, 20(9): 998-1003.

59. Katowitz JA, Welsh MG. Timing of initial probing and irrigation in congenital nasolacrimal duct obstruction, *Ophthalmology*, 1987, 94(6): 698-705.
60. Pediatric Eye Disease Investigator Group, Repeat probing for treatment of persistent nasolacrimal duct obstruction, *J AAPOS*, 2009. 13(3): 306-7.
61. Mauffray RO, Hassan AS, Elner VM. Double silicone intubation as treatment for persistent congenital nasolacrimal duct obstruction, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2004, 20(1): 44-9.
62. Kominek P, Cervenka S, Matousek P. Does the length of intubation affect the success of treatment for congenital nasolacrimal duct obstruction?, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2010. 26(2): 103-5.
63. Andalib D, Mansoori H. A comparison between monocanalicular and pushed monocanalicular silicone intubation in the treatment of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Int J Ophthalmol*, 2014, 7(6): 1039-42.
64. Rajabi, M.T, Zavarzadeh N, Mahmoudi A, Johari MK, Hosseini SS, Abrishami Y, Rajabi MB. Bicanalicular versus monocanalicular intubation after failed probing in congenital nasolacrimal duct obstruction, *Int J Ophthalmol*, 2016, 9(10): 1466-1470.
65. Attarzadeh, A, Sajjadi M, Owji N, Talebnejad MR, Farvardin M, Attarzadeh A. Inferior turbinate fracture and congenital nasolacrimal duct obstruction. *Eur J Ophthalmol*, 2006, 16(4): 520-4.
66. Havins WE, Wilkins RB. A useful alternative to silicone intubation in congenital nasolacrimal duct obstructions, *Ophthalmic Surg*, 1983, 14(8): 666-70.
67. Hu, M, Wu Q, Fan YW, Cao WW, Lin Q, Yu G. Comparison of balloon catheter dilatation and silicon intubation as the secondary treatment for

congenital nasolacrimal duct obstruction after failed primary probing, *Zhonghua Yan Ke Za Zhi*, 2016, 52(2): 123-8.

68. Tao S, Meyer DR, Simon JW, Zobal-Ratner J. Success of balloon catheter dilatation as a primary or secondary procedure for congenital nasolacrimal duct obstruction, *Ophthalmology*, 2002, 109(11): 2108-11.
69. Yuksel D, Ceylan K, Erden O, Kiliç R, Duman S. Balloon dilatation for treatment of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Eur J Ophthalmol*, 2005, 15(2): 179-85.
70. Choung HK, Khwarg SI. Selective non-intubation of a silicone tube in external dacryocystorhinostomy, *Acta Ophthalmol Scand*, 2007, 85(3): 329-32.
71. Pakdel F. Silicone Intubation Does not Improve the Success of Dacryocystorhinostomy in Primary Acquired Nasolacrimal Duct Obstruction, *J Ophthalmic Vis Res*, 2012, 7(3): 271-2.
72. Zilelioğlu G. Edinsel Yaşarma Tedavisi. *İçinde: Gelişken Ö. (editör). Okuloplasti, Gözyaşı sistemi, Göz kapağı, Orbita*, 1.baskı. Ankara Türk Oftalmoloji Derneği Yayınları, 2003: 269-271.
73. Welham RA, Hughes SM. Lacrimal surgery in children, *Am J Ophthalmol*, 1985, 99(1): 27-34.
74. Nowinski TS, Flanagan JC, Mauriello J. Pediatric dacryocystorhinostomy, *Arch Ophthalmol*, 1985, 103(8): 1226-8.
75. Hakin KN, Sullivan TJ, Sharma A, Welham RA. Paediatric dacryocystorhinostomy, *Aust N Z J Ophthalmol*, 1994, 22(4): 231-5.
76. Barnes EA, Abou-Rayyah Y, Rose GE. Pediatric dacryocystorhinostomy for nasolacrimal duct obstructio, *Ophthalmology*, 2001, 108(9): 1562-4.

77. Cunningham MJ, Woog JJ. Endonasal endoscopic dacryocystorhinostomy in children, *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 1998, 124(3): 328-33.
78. Wong JF, Woog JJ, Cunningham MJ, Rubin PA, Curtin HD, Carter BL. A multidisciplinary approach to atypical lacrimal obstruction in childhood, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 1999, 15(4): 293-8.
79. Vanderveen DK, Jones DT, Tan H, Petersen RA. Endoscopic dacryocystorhinostomy in children, *J AAPOS*, 2001, 5(3): 143-7.
80. Kominek P, Cervenka S. Pediatric endonasal dacryocystorhinostomy: a report of 34 cases, *Laryngoscope*, 2005. 115(10): 1800-3.
81. Aragona P, Baudouin C, Del Castillo JSB, Messmer E, Barabino S, Merayo-Llodes J, Brignole-Baudouin F, Invernizzi L, Rolando M, Mencucci R, Rescigno M, Bonini S, Labetoulle M. The ocular microbiome and microbiota and their effects on ocular surface pathophysiology and disorders, *Surv Ophthalmol*, 2021, 66(6):907-925.
82. De Luca F, Shoenfeld Y. The microbiome in autoimmune diseases, *Clin Exp Immunol*, 2019, 195(1):74-85.
83. Mika M, Korten I, Qi W, Regamey N, Frey U, Casaulta C, Latzin P, Hilty M. The nasal microbiota in infants with cystic fibrosis in the first year of life: a prospective cohort study, *Lancet Respir Med.*, 2016, 4(8):627-635.
84. Wang J, Qian T, Jiang J, Yang Y, Shen Z, Huang Y, Chen G, Zheng S, Dong R. Gut microbial profile in biliary atresia: a case-control study, *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(2):334-342.
85. Paller AS, Kong HH, Seed P, Naik S, Scharschmidt TC, Gallo RL, Luger T, Irvine AD. The microbiome in patients with atopic dermatitis, *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(1):26-35.

86. Pothmann A, Illing T, Wiegand C , Hartmann AA, Elsner P. The Microbiome and Atopic Dermatitis: A Review, *Am J Clin Dermatol.*, 2019, 20(6): 749-761.
87. Barth RL, Weinstein MP, Petti CA. Detection and Identification of Microorganisms by Gene Amplification and Sequencing, *Clinical Infectious Diseases*, 2007, 44(8):1108-1114.
88. Stewart CJ, Hasegawa K, Wong MC, Ajami NJ, Petrosino JF, Piedra AP, Espinola JA, Tierney CN, Camargo CA , Mansbach JM. Respiratory Syncytial Virus and Rhinovirus Bronchiolitis Are Associated With Distinct Metabolic Pathways, *J Infect Dis*, 2018, 217(7):1160-1169.
89. Spichak S, Spichak S, Bastiaanssen TFS, Berding K, Vlckova K, Clarke G, Dinan TG, Cryan JF. Mining microbes for mental health: Determining the role of microbial metabolic pathways in human brain health and disease, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 2021, 125:698-761.
90. Tavakoli M, Osigian CJ, Saksiriwutto P, Reyes-Capo DP, Choi CJ, Vanner EA, Cavuoto KM , Wester ST. Association between congenital nasolacrimal duct obstruction and mode of delivery at birth, *J AAPOS*, 2018, 22(5): 381-385.
91. Coelho GDP, Ayres LFA, Barreto DS, Henriques BD, Prado MRMC, Passos CMD. Acquisition of microbiota according to the type of birth: an integrative review, *Rev Lat Am Enfermagem*, 2021, 29: e3446.
92. Cavuoto KM, Banerjee S, Miller D, Galor A. Composition and Comparison of the Ocular Surface Microbiome in Infants and Older Children, *Transl Vis Sci Technol.*, 2018, 7(6): 16.
93. Bomar L, Brugger SD, Lemon KP. Bacterial microbiota of the nasal passages across the span of human life, *Curr Opin Microbiol.*, 2018, 41: 8-14.

94. DeAngelis D, Hurwitz J, Mazzulli T. The role of bacteriologic infection in the etiology of nasolacrimal duct obstruction, *Can J Ophthalmol*, 2001, 36(3):134-9.
95. Pornpanich K, Luemsamran P, Leelaporn A, Santisuk J, Tesavibul N, Lertsuwanroj B, Vangveeravong S, Microbiology of primary acquired nasolacrimal duct obstruction: simple epiphora, acute dacryocystitis, and chronic dacryocystitis, *Clin Ophthalmol.*, 2016, 10: 337-42.
96. Kuchar A, Lukas J, Steinkogler FJ. Bacteriology and antibiotic therapy in congenital nasolacrimal duct obstruction, *Acta Ophthalmol Scand*, 2000, 78(6): 694-8.
97. Piyush Madan, Daigavane S. Congenital nasolacrimal duct obstruction: Clinical, microbiological and management in a tertiary health care centre in central India- A descriptive study, *Indian Journal of Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2018. 4(2): 217-220.
98. Al-Faky YH, Naeem T, Al-Sobaie N, Al-Huthail R, Al-Odan H, Osman EA, Mousaa A. Value of microbiology study in congenital nasolacrimal duct obstruction, *Saudi J Ophthalmol*, 2012, 26(2): 223-8.
99. Zheng, XY, Choy BNK, Zhou MM, Shi C, Zhao Z. Lacrimal sac bacteriology and susceptibility pattern in infants with congenital nasolacrimal duct obstruction in the 1st year of life: a cross-sectional study, *BMC Pediatr*, 2020, 20(1): 465.
100. Hilton SK, Castro-Nallar E, Pérez-Losada M, Toma I, McCaffrey TA, Hoffman EP, Siegel MO, Simon GL, Johnson WE, Crandall KA. Metataxonomic and Metagenomic Approaches vs. Culture-Based Techniques for Clinical Pathology, *Front Microbiol.*, 2016, 7: 484.
101. Abayasekara LM, Perera J, Chandrasekharan V, Gnanam VS, Udunuwara NA, Liyanage DS, Bulathsinhala NE, Adikary S, Aluthmuhandiram JVS, Thanaseelan CS, Tharmakulasingam DP, Karunakaran T, Ilango J. Detection

of bacterial pathogens from clinical specimens using conventional microbial culture and 16S metagenomics: a comparative study, *BMC Infectious Diseases*, 2017, 17.

102. Curragh DS, Bassiouni A, Macias-Valle L, Vreugde S, Wormald PJ, Selva D, Psaltis AJ. The Microbiome of the Nasolacrimal System and Its Role in Nasolacrimal Duct Obstruction, *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2020, 36(1): 80-85.
103. Maheaswari R, Kshirsagar JT, Lavanya N. Polymerase chain reaction: A molecular diagnostic tool in periodontology, *J Indian Soc Periodontol*, 2016, 20(2): 128-35.
104. Mahanama A, Wilson-Davies E. Insight into PCR testing for surgeons, *Surgery (Oxf)*, 2021, 39(11): 759-768.
105. Eidne KA. The polymerase chain reaction and its uses in endocrinology, *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 1991, 2(5): 169-175.
106. Canene-Adams K, General PCR, *Methods Enzymol.*, 2013, 529: 291-8.
107. Whitney SE, Sudhir A, Nelson RM, Viljoen HJ. Principles of rapid polymerase chain reactions: mathematical modeling and experimental verification, *Comput Biol Chem.*, 2004, 28(3): 195-209.
108. Jian C, Luukkonen P, Yki-Järvinen H, Salonen A, Korpela K. Quantitative PCR provides a simple and accessible method for quantitative microbiota profiling, *PLoS One*, 2020, 15(1): e0227285.
109. Chong J, Liu P, Zhou G, Xia J. Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical, functional, and meta-analysis of microbiome data, *Nat Protoc*, 2020, 15(3): 799-821.
110. Bige DA. Mode of delivery, birth weight and the incidence of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(7): 1134-1138.

111. Kuhli-Hattenbach C, Lüchtenberg M, Hofmann C, Kohnen T. Increased prevalence of congenital dacryostenosis following cesarean section, *Ophthalmologe*, 2016, 113(8): 675-83.
112. Spaniol K, Stupp T, Melcher C, Beheiri N, Eter N, Prokosch V. Association between congenital nasolacrimal duct obstruction and delivery by cesarean section, *Am J Perinatol*, 2015. 32(3): 271-6.
113. Palo M, Gupta S, Naik MN, Ali MJ. Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction and Its Association With the Mode of Birth, *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2018, 55(4):266-268.
114. Natarajan K, Kasturi N, Sistla S. Assessment of Perinatal Clinical Characteristics, Perinatal Risk Factors, and Microbial Profile in Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction in a Tertiary Care Center: A Descriptive Study, *Korean J Ophthalmol.*, 2022, 36(4): 366-373.
115. Taner P, Kaygusuz S, Akarsu C, Ergin A, Ayaşlıoğlu E. Bacteriology and antibiotic sensitivity in patients with congenital nasolacrimal duct obstruction, *MN Oftalmoloji*, 2004. 11(1): 92-94.
116. Göncü T, Söker ÇS. The antibiotic susceptibility of microbial pathogens in cases of congenital nasolacrimal duct obstruction, *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol*, 2011. 20(3): 131-134.
117. Bareja U, Ghose S. Clinicobacteriological correlates of congenital dacryocystitis, *Indian J Ophthalmol*, 1990, 38(2): 66-9.
118. Muthumalai M, Alam MS, Shrirao N, Mahalakshmi B, Mukherjee B. A Case-Control Study to Determine the Microbiological Spectrum and Antibiotic Sensitivity Patterns in Congenital Nasolacrimal Duct Obstruction, *J Curr Ophthalmol.*, 2022, 34(2): 251-256.

119. Prokosch V, Prokosch JE, Promesberger J, Thanos S, Stupp T. Bacteriology of occluded nasolacrimal ducts in infants, *Klin Monbl Augenheilkd*, 2010, 227(7): 585-8.
120. Pescosolido N, Imperatrice B, Karavitis P. Ocular disorders secondary to systemic disease and the potential role of carnitines, *Drugs R D*, 2008, 9 (1): 15-22.
121. Pescosolido N, Imperatrice B, Karavitis P. The aging eye and the role of L-carnitine and its derivatives, *Drugs R D*, 2008, 9 (1): 3-14.
122. Hua X, Su Z, Deng R, Lin J, Li D, Pflugfelder SC. Effects of L-carnitine, erythritol and betaine on pro-inflammatory markers in primary human corneal epithelial cells exposed to hyperosmotic stress, *Curr Eye Res*, 2015. 40(7): 657-67.
123. Gerkowicz, M, Koziół-Montewka M, Pietraś-Trzpiel M, Kosior-Jarecka E, Szczepanik A, Latańska M. Identification of bacterial flora of conjunctival sac in congenital nasolacrimal duct obstruction in children, *Klin Oczna*, 2005, 107(1-3): 83-5.
124. MacEwen CJ, Phillips MG, Young JD. Value of bacterial culturing in the course of congenital nasolacrimal duct (NLD) obstruction, *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 1994, 31(4): 246-50.
125. Kim YS, Moon SC, Yoo KW. Congenital nasolacrimal duct obstruction: irrigation or probing?, *Korean J Ophthalmol*, 2000, 14(2): 90-6.

8. EKLER

EK-1

Tablo 2.2.Literatürde KNLKT’da tespit edilen patojenlerin karşılaştırılması [10]

Çalışma	n	Pozitif kültür oranı (%)	Gram (+) %	Gram (-) %	Sık görülen patojenler
Kuchar ve ark.[96]	50	30	49.3	50.7	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%35.4) <i>Haemophilus nfluenzae</i> (%19.6)
Usha ve ark.[1]	238	17	57	43	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%32.7) <i>Haemophilus influenzae</i> (%31.3)
Gerkowicz ve ark.[123]	81	25	70	28.8	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (%28) <i>Staphylococcus aureus</i> (%22)
MacEwen ve ark.[124]	151	79	35	65	<i>Haemophilus infuenzae</i> (%55) <i>Staphylococcus aureus</i> (%35)
Bareja ve Ghose[117]	114	32.5	85.7	14.3	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%28.9) <i>Staphylococcus aureus</i> (%13.2)
Kim ve ark.[125]	50	36	56.2	43.8	<i>Staphylococcus aureus</i> (%25) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (%15.6)

Tablo 2.2. Literatürde KNLKT’da tespit edilen patojenlerin karşılaştırılması
(devam) [10]

Al-Faky ve ark.[98]	181	12.1	49.1	50.9	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%48.1) <i>Haemophilus influenzae</i> (%39.2)
Taner ve ark.[115]	29	75.8	79	21	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%37.5) <i>Staphylococcus epidermidis</i> (%16.6)
Göncü ve ark.[116]	25	24	83.3	16.6	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%83.3) <i>Escherichia coli</i> (%16.6)
Cevher ve ark.[10]	40	65	85.2	14.8	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (%29.6) <i>Staphylococcus aureus</i> (%11.1)

