



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP
FAKÜLTESİ
GÖZ HASTALIKLARI ANA
BİLİM DALI**

**KORNEAL ÇAPRAZ BAĞLAMA TEDAVİSİ VE
ANTİFUNGAL AJANLARIN İN VİTRO OLARAK
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Zeynep KUNT

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Meltem YAĞMUR**

ADANA, 2018

TEŞEKKÜR

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakóltesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bilimsel ve cerrahi eğitimimde emeği geçen bütün saygıdeğer hocalarıma; bilgi ve tecrübelerinden her zaman faydalandığım, tezimin gerçekleşmesi süresince benden bilgi, deneyim ve sabrını esirgemeyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. Meltem YAĞMUR'a; tezimin hazırlanması aşamasında yardımlarını esirgemeyen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. M. Macit İLKİT, Dr.Hazal BORAL ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ayőe KALKANCI'ya; birlikte çalıőmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma ve kliniğimizin sevgili hemőire ve personellerine teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan ve tıp eğitimim süresinde beni her koşulda sınırsız destekleyen annem ve babama; hayatımı paylaőtıđım ve asistanlık eğitimim boyunca bütün zorlukları aşmamda bana güç veren sevgili eőim Mevlüt ve canım kızım Ada'ya sonsuz teşekkür ederim.

Dr.Zeynep KUNT

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ.....	IV
ŞEKİL LİSTESİ.....	V
KISALTMA LİSTESİ	VI
ÖZET	VII
ABSTRACT.....	VIII
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.Kornea Enfeksiyonları	2
2.1.1. Korneanın Enfeksiyonlara Karşı Direnç Mekanizmaları	2
2.1.2. Kornea Yara İyileşmesi	3
2.1.3. Kornea Hastalıklarında Klinik Değerlendirme.....	4
2.2. Fungal Keratit.....	5
2.2.1. Predispozan faktörler.....	8
2.2.2. Klinik.....	8
2.2.3 Laboratuvar tanı.....	9
2.2.4. Tedavi	11
2.2.4.1. Medikal Tedavi	11
2.2.4.2. Cerrahi Tedavi	14
2.2.4.3. Fungal Keratit Tedavisinde Korneal Çapraz Bağlama Tedavisinin Yeri	16
2.2.5. Prognoz.....	18
3.GEREÇ ve YÖNTEM	19
3.1. İzolatların Hazırlanması	23
3.2. Korneal Çapraz Bağlama Tedavi Uygulaması	24
3.3. Antifungal İlaçların Etkinliğinin Değerlendirilmesi	26
3.4. Mikolojik İnceleme	26
3.5. İstatiksel Değerlendirme	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	43

KAYNAKLAR	44
ÖZGEÇMİŞ	56



TABLO LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1: Keratit Nedenleri	2
Tablo 2: İnsanda keratite yol açan fungal etkenler ^{44,45}	7
Tablo 3: Çalışmada incelenen küf mantarı izolatlarına karşı antifungal ilaçların MIC düzeyleri (µg/mL)	28
Tablo 4: Çalışmada incelenen küf mantarlarında tedavi gruplarının çok değişkenli analizi.	30
Tablo 5: Küf mantarlarının konsantrasyon sayımları üzerinde KKÇB, vorikonazol ve amfoterisin B tedavilerinin ikili alt grup analizi sonuçları	31

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: <i>A. Terreus</i> CBS 135845 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	21
Şekil 2: <i>A. Fumigatus</i> CBS 143374 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	21
Şekil 3: <i>A. Flavus</i> CBS 143253 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	22
Şekil 4: <i>F. Solani</i> CBS 143372 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	22
Şekil 5: <i>F. Falciforme</i> CBS 143254 A: İzolatın PDA besiyerinde 28°C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	23
Şekil 6: <i>F. Proliferatum</i> CBS 143256 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C’de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100).....	23
Şekil 7: Mikroplakların düzenlenmesinde kullanılan şablon. Boş kuyucuklar amidoschwarz boyası ile dolduruldu. MO: Mikroorganizma, RBF: Riboflavin, UVA: Ultraviyole A.....	25
Şekil 8: Çalışma planına göre hazırlanmış mikroplağa UVA uygulanması sırasındaki görüntüsü, UVA: Ultraviyole A	26
Şekil 9: <i>A. Terreus</i> CBS 135845 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	32
Şekil 10: <i>A. Flavus</i> CBS 143253 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	32
Şekil 11: <i>A. Fumigatus</i> CBS 143374 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	33
Şekil 12: <i>F. Solani</i> CBS 143372 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	33
Şekil 13: <i>F. Proliferatum</i> CBS 143256 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	34
Şekil 14: <i>F. Falciforme</i> CBS 143254 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.	34
Şekil 15: Çalışmaya alınan altı küf mantarı izolatlarının yalnız antifungal ilaç uygulanan gruplarda (Grup E) tedavi öncesi koloni sayımlarının gösterilmesi.....	36
Şekil 16: Çalışmaya alınan altı küf mantarı izolatlarının yalnız antifungal ilaç uygulanan gruplarda (Grup E) tedavi sonrası koloni sayımlarının gösterilmesi.	36

KISALTMA LİSTESİ

AZT	: Amniyotik Zar Transplantasyonu
CFU/ml	: Colony Forming Unit/mililiters – mililitrede koloni oluşturan birim
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
GMS	: Grocott Methenamin Gümüş tekniği
KKÇB	: Korneal Kollajen Çapraz Bağlama
KOH	: Potasyum Hidroksit
MIC	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
OKT	: Optik Koherens Tomografi
ÖS-OKT	: Ön Segment Optik Koherens Tomografi
PACK-CXL	: Keratit İçin Işık İle Aktive Edilmiş Kromofor” (Photoactivated Chromophore for Infectious Keratitis -Corneal Collagen Cross-linking)
PBS	: Phosphate-Buffered Saline
PDA	: Patates Dekstroz Agar
PK	: Penetran Keratoplasti
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RBF	: Riboflavin
SGA	: Sabouraud Glikoz Agar
UVA	: Ultraviyole-A

ÖZET

Korneal Çapraz Bağlama Tedavisi ve Antifungal Ajanların İn Vitro Olarak Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Amaç: Fungal mikroorganizmalar üzerinde in vitro olarak antifungal ajanların ve korneal kollajen çapraz bağlama uygulamasının hem tek başına hem de kombine tedaviler ile etkinliğinin değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, kliniğimizde mantar keratiti sebebi ile takip edilen hastalardan alınan korneal kazıntı örneklerinden, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda izole edilen ve calmodulin gen bölgesinin çoğaltılması ile tanımlanan *Aspergillus terreus* CBS 135845, *Aspergillus flavus* CBS 143253, *Aspergillus fumigatus* CBS 143374 ile elongasyon faktör 1-alfa (*tef1-α*) gen bölgesinin çoğaltılması ile tanımlanan *Fusarium falciforme* CBS 143254, *Fusarium proliferatum* CBS 143256, *Fusarium solani* CBS 143372 kökenleri dahil edildi.

Her mikroorganizma kendi içerisinde beş gruba ayrıldı. Yalnız korneal çapraz bağlama tedavisinin, yalnız antifungal ilaçların ve korneal çapraz bağlama tedavisi ile birlikte antifungal ilaçların kullanıldığı gruplarda tedavi etkinlikleri değerlendirildi.

Bulgular: Çalışmada *Aspergillus terreus* CBS 135845, *Aspergillus flavus* CBS 143253, *Aspergillus fumigatus* CBS 143374 ve *Fusarium falciforme* CBS 143254, *Fusarium proliferatum* CBS 143256, *Fusarium solani* CBS 143372 cinslerinde, hazırlanan dört farklı konsantrasyon için; grup A (KKÇB), grup B (KKÇB+vorikonazol), grup C (KKÇB+amfoterisin B), grup D (KKÇB+%0.02 klorheksidin), grup E1 (vorikonazol), grup E2 (amfoterisin B) ve grup E3 (%0.02 klorheksidin)'de tedavi sonrası mikroorganizma üremesi görülen gruplar istatistiksel olarak incelendi. Tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayıları değerlendirildiğinde grup B, grup C, grup D ve grup E3'de tedavi sonrası mikroorganizma üremesi görülmez iken, diğer tedavi gruplarında tedavi sonrası mikroorganizma sayısında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma olsa dahi mikroorganizma üremesi mevcut idi.

Grup E'de tek başına vorikonazol, amfoterisin B ve klorheksidinin etkinlikleri değerlendirildi. Küf mantarlarında %0.02 klorheksidin kullanımı sonrası hiç üreme görülmez iken, vorikonazol ve amfoterisin B kullanımı sonrasında ise mikroorganizma sayısında önemli derecede azalma olsa dahi mikroorganizma üremesi mevcut idi . Bu sonuç ile %0.02 klorheksidin kullanımı sonucunda, küf mantarı izolatları üzerinde vorikonazol ve amfoterisin B kullanımı sonucu ile elde edilen fungisidal etkiye benzer sonuç alınabileceği gösterildi.

Sonuç: %0.1 riboflavin ile yapılan KKÇB ve antifungal ilaçlar küf mantarı keratitlerinde gerek tek başına gerekse birlikte uygulandığında yeterli fungal öldürme gücüne sahiptir. Aynı zamanda antiseptik olarak kullanılan %0.02 klorheksidinin küf mantarı keratitlerinde yeterli fungal öldürme gücü olduğu görülmüştür. KKÇB tedavisi ile % 0.02 klorheksidin tedavisinin tek başına veya antifungal ilaçlar ile birlikte fungal keratit tanısı konmuş olguların tedavi algoritmaları içine girmesinin uygun olduğu düşünülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Fungal keratit, korneal kollajen çapraz bağlama, %0.02 klorheksidin, PACK-CXL

ABSTRACT

Evaluation of In Vitro Efficiency of Antifungal Agents and Corneal Cross-Linking Therapy

Purpose: To evaluate the in vitro efficiency of antifungal agents and corneal collagen cross-linking on fungal microorganisms both alone and in combined therapies.

Material and Methods: The study group consisted of cases who were followed up with diagnosis of fungal keratitis at CU Faculty of Medicine Ophthalmology Department. *Aspergillus terreus* CBS 135845, *Aspergillus flavus* CBS 143253, *Aspergillus fumigatus* CBS 143374 defined by amplification of the calmodulin gene region and *Fusarium falciforme* CBS 143254, *Fusarium proliferatum* CBS 143256, *Fusarium solani* CBS 143372 defined by amplification of the elongation factor 1-alpha (*tef1-a*) gene region is isolated from corneal scraping samples at CU Faculty of Medicine Microbiology Department Science Laboratory.

Each microorganism was divided into five groups. Therapeutic efficiency of corneal cross-linking therapy, antifungal agents, and antifungal agents together with corneal cross-linking therapy were evaluated.

Findings: In this study, group A (PACK-CXL), group B (PACK-CXL+vorikonazol), group C (PACK-CXL+amfoterisin B), group D (PACK-CXL+clorhexidine) and group E (only vorikonazol, amfoterisin B and clorhexidine) on four different fungal inoculum concentrations of *Aspergillus terreus* CBS 135845, *Aspergillus flavus* CBS 143253, *Aspergillus fumigatus* CBS 143374 ve *Fusarium falciforme* CBS 143254, *Fusarium proliferatum* CBS 143256, *Fusarium solani* CBS 143372 is examined statistically.

We did not observe cultured microorganisms in group B, C, D, E3. Although there was a statistically significant decrease in number of microorganisms, we detected microorganism recurrence in groups A, E1 and E2.

In group E, the activities of voriconazole, amphotericin B and chlorhexidine alone were evaluated. There was no growth after the use of 0.02% chlorhexidine in mold fungi, whereas there was a decrease in the number of microorganisms after voriconazole and amphotericin B application. These findings indicate %0.02 chlorhexidine, voriconazole and amphotericin B have similar fungicidal effect on mold isolates.

Conclusions: Corneal collagen cross-linking with %0.1 riboflavin and antifungal agents either alone or combine has enough fungal killing rate in filamentous fungal keratitis. It was also found that 0.02% chlorhexidine used as an antiseptic had enough fungal killing rate in filamentous fungal keratitis. It is appropriate to add corneal collagen cross-linking and %0.02 clorhexidine either alone or combined with antifungal agents in fungal keratitis treatment algorithm.

Key words: Fungal keratitis, corneal cross-linking, %0.02 clorhexidine, PACK-CXL

1.GİRİŞ

Kornea hastalıkları, katarakttan sonra görme kaybının en önemli nedenlerinden biridir. Tüm dünyada, tek taraflı körlüğün en sık sebebi enfeksiyöz keratitlerdir.¹ Kornea ülserlerinde hastalığın klinik özellikleri diğer enfeksiyöz keratitleri taklit edebildiği için, etkenin ne olduğu başlangıçta saptanamayabilir. Buna bağlı olarak yanlış tanı ve yetersiz tedavi sık karşılaşılan sorunlardır.²

Son 40 yıl süresince hastalığın sıklığında artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Gelişmekte olan ülkelerde yüksek insidans, tedaviye alınan zayıf ya da yeterli etkinlikte antifungal ilaçların olmaması ve tanının gecikmesi nedeniyle fungal keratitler ağır seyretmekte, endoftalmiye kadar ilerleyebilmekte ve buna bağlı olarak görme kaybının önde gelen nedenleri arasında yer almaktadır.^{2,3,4} Geniş spektrumlu antibiyotik ve streoitlerin yaygın kullanımı, kontakt lens kullanımı, oküler yüzey hastalıkları fungal keratit gelişimine katkıda bulunan faktörlerden bazılarıdır.⁵⁻⁸ Fungal keratit gelişimi için en önemli risk faktörü organik maddeler ile olan travmalardır. Bu nedenle fungal keratitli hastaların yönetiminde; risk faktörleri, tanı yöntemleri ve tedavi seçenekleri hakkında ayrıntılı bilgi sahibi olmak gerekmektedir.

Bazı fungal keratit hastalarının uygun tedaviye rağmen prognozu kötü seyretmektedir. Bu nedenle fungal keratit olgularında yeni tedavi seçenekleri gündeme gelmiştir.⁹ Örneğin; riboflavin ve ultraviyole-A (UVA) (365 nm) ile fotokimyasal korneal kollajen çapraz bağlama (KKÇB) tedavisinin kombine edilmesi ile sıvı veya dokuda dezenfektan etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Riboflavin ve UVA kombinasyonunun korneal enfeksiyonlardaki etkisi ilk kez Iseli ve ark. tarafından 2008 yılında gösterilmiştir.¹⁰ Dublin’ de yapılan 9. Yıllık Uluslararası Korneal Çapraz Bağlama Kongresi’nde “Keratit İçin Işık İle Aktivite Edilmiş Kromofor (PACK-CXL)” terminolojisi önerilmiş ve kabul edilmiştir.¹¹

Çalışmamızda fungal keratit nedeniyle takip ettiğimiz hastalardan alınan korneal kazıntı örneklerinden üretilen fungal mikroorganizmalar üzerinde in vitro olarak antifungal ajanların ve korneal kollajen çapraz bağlama uygulamasının hem tek başına hem de kombine tedaviler ile etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Kornea Enfeksiyonları

Keratit, korneanın inflamasyonuna verilen isimdir. Bu durum enfeksiyöz veya inflamatuvar nedenlerle gelişebilmektedir (Tablo 1)¹². Keratitler gözde batma, ağrı, bulanık görme, fotofobi, sulanma, göz kızarıklığı gibi şikayetlere sebep olurlar. Enfeksiyöz keratit gelişmesinde; travma, kontakt lens kullanımı, topikal kortikosteroid kullanımı, geçirilmiş oküler cerrahi, kronik oküler yüzey hastalıkları, kapak patolojileri ve çeşitli sistemik hastalıklar rol oynamaktadır.^{13,14,15} Keratit tanısı biyomikroskop ile klinik olarak konulmaktadır. Keratitlerin tedavisi ise etiyojisine göre değişmektedir.

Tablo 1: Keratit Nedenleri

Enfeksiyöz keratit	Non-enfeksiyöz keratit
1. Bakteriyel keratit	1. Marjinal keratit
2. Viral keratit	2. Alerjik keratit
3. Fungal keratit	3. Otoimmün keratit
4. Protozoal keratit	4. Ekspozur keratit
	5. Nörotrofik keratit
	6. Diffüz lameller keratit
	7. Thygeson'un yüzeysel keratiti

2.1.1. Korneanın Enfeksiyonlara Karşı Direnç Mekanizmaları

Keratit, oküler yüzeyin savunma mekanizmalarının bozulması sonucunda oluşmaktadır.¹⁶ Bu doğal savunma mekanizmaları; göz kapağı, gözyaşı tabakası, kornea epiteli ve oküler floradan oluşmaktadır.¹⁶ Göz kapakları gözü dışardan gelen zararlı etkenlere karşı korumaktadır. Göz kapağı normal pozisyonda ve fonksiyonda iken oküler yüzeyin kurummasını önler, göz kırpması hareketi ile gözyaşını yüzeye dağıtarak organizmaların yıkanmasını sağlar. Göz kapağında, travma ya da diğer sebeplerle kapanma kusuru geliştiğinde ya da göz kırpması hareketinin dakikadaki sayısının azaldığı yaşlı, düşkün kişilerde veya Bell refleksinin yetersiz olduğu şuru kapalı hastalarda korneanın açık kalması keratit için risk faktörleri olmaktadır.¹⁷

Bazal gözyaşı üretimi normal şartlarda dakikada 1-2 µl iken, irritasyon varlığında artar ve her 15 saniyede 1-2 µl'ye çıkar.¹⁸ Gözyaşı miktarının artması oküler yüzeyin yıkanmasını sağlayarak koruyucu etki yapmaktadır.¹⁸ Gözyaşının komponentleri olan sekretuar immünglobulinler, komplemanlar, lizozim, laktoferrin, betalizin ve seruloplazmin gibi değişik enzimler antibakteriyel etkilidir.^{18,19} Gözyaşını oluşturan komponentlerde, gözyaşı miktarında ve drenaj sisteminde oluşan anormallikler, oküler yüzeyi riske atan ana nedenlerdendir.¹⁶

Diğer önemli bir savunma mekanizması da intakt kornea epitelidir. Epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlar, mikroorganizmaların korneaya girmesini engelleyen bir bariyerdir. Sağlam kornea epiteli, enfeksiyonlara karşı çok dirençlidir. Kontakt lens kullanımı, oküler travma ve cerrahi gibi epitel bütünlüğünü bozan etkenler, mikroorganizma geçişine izin vererek keratite yol açabilir. Buna karşın *Neisseria gonorrhoeae*, *Cornynebacterium diphtheriae*, *Listeria* ve *Haemophilus* gibi mikroorganizmalar intakt kornea epitelini invaze ederek korneada enfeksiyon oluşturabilirler.²⁰

2.1.2. Kornea Yara İyileşmesi

Dokunun yaralanmaya cevabı; yaralanmanın türü, derecesi ve yaralanan dokunun özelliklerine bağlıdır.²¹ Kornea hasarı doku rejenerasyonu ile değil, doku tamiri ile iyileşir. Yani iyileşmiş doku, hasarlanmamış kornea dokusuna histolojik ve fizyolojik olarak benzemez ve hiçbir zaman onun saydamlığına ve gerilim kuvvetine erişemez. Hasarlanma sadece kornea epitelinde gelişmişse iyileşme sonunda korneada leke kalmaz, ancak hasarlanma stromaya inerse iyileşme sonrasında korneada lökom oluşur.²²

Korneada yara iyileşme cevabı; epitel hücreleri, stromal keratositler, kornea sınırları, lakrimal bezler, göz yaşı tabakası ve immün sistem hücreleri arasındaki sitokin aracılı etkileşimi kapsayan karmaşık bir dögüdür.^{21,23-27}

2.1.3. Kornea Hastalıklarında Klinik Değerlendirme

Kornea hastalıklarının değerlendirilmesinde çeşitli muayene yöntemleri kullanılır. Keratitli hastaları değerlendirmede kullanılanlar; biyomikroskopi, esteziometri, korneanın boyanarak muayenesi, konfokal mikroskopi ve ön segment optik koherens tomografisi gibi muayene yöntemleridir.²²

1.Biyomikroskopik muayene; Kornea muayenesinde kullanılan başlıca alettir. Kornea ve ön segmente ait diğer yapıların binoküler olarak incelenmesine yarar. Farklı büyütme ile değişik kalınlıktaki ışık demetleri değişik açılardan gönderilerek farklı açılardan görüntülemeler ile korneanın tüm katları değerlendirilebilir.²⁸

2. Esteziometri: 5. kranial sinirin oftalmik dalının bir fonksiyonu olan korneal duyarlılığın ölçümüdür. Primer olarak nörotrofik keratopatinin değerlendirilmesinde kullanılır. Kornea duyarlılığı en kolay normal olan, diğer gözle karşılaştırılarak değerlendirilir. Korneal enfeksiyonlarda korneal duyarlılıkta azalma görülebilmektedir.^{29, 30}

3. Tanısal boya solusyonları ile korneanın boyanarak muayenesi: Fluoresein gibi hidroksisanten boyalar yüzyıldan fazla bir süredir klinikte kullanılmaktadır.³¹ Bu boyalar korneal epitelyal lezyonları saptamak, aplanasyon tonometresine yardımcı olmak, lakrimal drenaj ve yetersiz gözyaşı akışını değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik uygulamada, fluoresein hücrelerarası bağlantıların bozulmasını saptarken, rose bengal ve lissamin yeşili boyaları da anormal epitelyal hücrelerin ve yetersiz gözyaşı filmi korumasıyla ilişkili olan oküler yüzey değişikliklerinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.³² Floresein ve rose bengal boyaları kornea ve konjonktivayı değerlendirmede kullanılırken, lissamin yeşili ile sadece konjonktiva değerlendirilmektedir. Klinik olarak lissamin yeşili boyası rose bengal boyasına benzer boyanma profili gösterir. Lissamin yeşili in vitro sağlıklı ve normal hücreleri boyamazken, membran hasarı olan epitelyal hücreleri boyar ve rose bengal gibi müsin ile bloke olmaz.³³

a. **Rose Bengal** (Bengal pembesi); ölü veya mukus tabakasını kaybetmiş devitalize epitelyum hücrelerine afinitesi olan bir boyadır. %1'lik rose bengal solüsyonu veya rose bengal emdirilmiş nemli şeritler kullanılabilir.

b. Floresein; Korneayı boyayan ve epitel yüzeyinin her çeşit düzensizliğini belirginleştiren özel bir boyadır. Floresein emdirilmiş kağıt şeritler veya prezervan içermeyen %2'lik damla şeklinde kullanılabilir. Boyanma, kobalt mavisi bir filtre ile kolayca saptanır. Normal korneayı uniform bir boya filmi kaplamalıdır. Eğer kornea yüzeyi anormal ise, etkilenen alanda aşırı miktarda boya emilir veya birikir. Bazı keratitli hastalarda stromal tutulum bölgesinin üstündeki epitel iyileşerek boya tutmayabilir.²²

4. Konfokal Mikroskopi: Kornea yapılarının hücresel seviyede, gerçek zamanlı görüntülemesini sağlayan, noninvaziv görüntüleme yöntemidir.³⁴⁻³⁶ İn vivo olarak tüm kornea katları, keratosit, epitel ve endotel hücrelerinin yapıları ve sinir tabakasını değerlendirilebilir. Konfokal mikroskopi ile superior limbik keratokonjonktivit, enfeksiyöz kristalin keratopati, fungal keratit ve amibik keratit tespit edilebilir.³⁷

5. Ön Segment Optik Koherens Tomografisi (ÖS-OKT): Retinanın incelenmesinde kullanılan optik koherens tomografi (OKT), ön segmentin görüntülemesini sağlayan bir modül sayesinde gözyaşı menisküsü, korneanın kalınlığı ve kesitsel değerlendirilmesi ile birlikte açı yapılarını da incelenebilir hale getirmiştir.²⁰ Son zamanlarda mikrobiyal keratitlerdeki stromal infiltrasyonun derinliğini ve korneal incelenin değerlendirmesinde kullanılmaya başlanmıştır.^{38,39} Konstantopoulus ve ark.'nın yayınladığı çalışmada; ÖS-OKT ile korneadaki infiltrasyon stromada hiperreflektif alan olarak görüntülenmiş ve infiltrat çapı, kornea kalınlığı ve ön kamaradaki inflamatuvar hücrelerin objektif olarak değerlendirilebileceğini belirtmişler.⁴⁰

2.2. Fungal Keratit

Enfeksiyöz keratitler, tüm dünyada tek taraflı körlüğün en sık sebebidir.¹ Fungal keratitler ilk olarak Leber tarafından 1879 yılında tanımlanmıştır.⁴¹ Hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir körlük nedenidir. Fungal keratitlerin tedavisinin zor ve pahalı olmasının yanı sıra, uygun tedaviye rağmen korneal perforasyon ve endoftalminin önlenemediği olgularda mevcuttur.⁴

Fungal keratitlerin insidansı, risk faktörleri, etkenin tipi ve etyolojik ajanları, coğrafi bölgelere ve iklime göre değişmektedir. Tropik iklime sahip Hindistan'daki

enfeksiyöz keratitlerin % 51,9'unu, daha ılıman bir iklime sahip olan Amerika Birleşik Devletleri' ndeki enfeksiyöz keratitlerin % 8'ini fungal keratitler oluşturmaktadır.^{42,43}

Klinik çalışmalar en sık fungal keratite yol açan küf mantarlarının *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Cladosporium*; maya mantarının ise *Candida* olduğunu göstermektedir. İnsan korneası için patojenik sayılan 70'ten fazla mantar türü vardır (Tablo 2).^{44,45}

Tablo 2: İnsanda keratite yol açan fungal etkenler^{44,45}

Maya mantarları	Filamentöz mantarlar	Dimorfik mantarlar	
Candida türleri C. albicans, C. famata, C. glabrata, C. guilliermondii, C. krusei, C. parapsilosis, C. Tropicalis	Nonpigmente (hyalin) filamentöz mantarlar	Pigmente filamentöz mantarlar	Blastomyces B.dermatitidis
Cryptococcus türleri C. laurentii, C. Neoformans	Fusarium türleri F. solani, F. falciforme, F. proliferatum, F.aquaeductum, F.dimerum,F.oxysporum, F.verticilloides, F.nivaleb,F.subglutinans, F.ventricosum	Alternaria türleri A. alternata, A. infectoria, Alternaria spp	Coccidioides türleri C. immitis
Geotrichum türleri G. candidum	Scedosporium türleri S. apiospermum	Curvularia türleri C.brachyspora, C. geniculata, C. lunata, C. pallescens,C. senegalensis, C. Verruculosa	Paracoccidioides türleri P. brasiliensis
Malassezia türleri M. furfur	Aspergillus türleri A.terreus, A. Fumigatus, A. flavus, A. clavatus, A.fischerianus, A. flavipes, A glaucus, A. janus, A. niger, A. nidulans,A. oryzae, A. Wentii	Cladosporium türleri C.cladosporioides	Sporothrix türleri S. schenckii
Rhodotorula türleri R. glutinis,R. rubrab, Rhodotorula species	Acremonium türleri A. atrogriseum, A. curvum, A. kiliense, A. potronii, A. recifeib, A. species	Exophilala türleri E. jeanselmei var. dermatitidis, E. jeanselmei var. Jeanselmei	
Rhodosporidium türleri R. toruloides	Beauveria türleri B bassiana	Dichotomophthoropsis türleri	
	Epidermophyton türleri	Phialophora türleri	
	Tritirachium türleri	Aureobasidium türleri	
	Verticillium türleri	Bipolaris türleri	
	Sarcopodium türleri	Lasiodiplodia threobromae	
	Cylindrocarpon türleri	Colletotrichum türleri	
	Paecilomyces türleri	Exserohilum türleri	

2.2.1. Predispozan faktörler

Fungal keratit gelişimini kolaylaştıran faktörler içinde; özellikle organik bitki yaralanmaları sonucu gelişen oküler travmalar, kontakt lens kullanımı, uzun süre topikal steroid kullanımı, kronik oküler yüzey hastalıkları, geçirilmiş göz cerrahisi, çevresel faktörler, immün yetersizlik ve diyabetes mellitus hastalığı sayılmaktadır.^{2,29,46-50}

2.2.2. Klinik

Fungal keratitlerde klinik görünüm keratit etkenine ve hastalığın evresine göre değişiklik gösterir. Keratit kliniği genellikle yavaş ve sinsi ilerleyicidir. Ancak bazı mantar türlerinin neden olduğu keratitlerde hızlı ilerleme görülebilmektedir. *Aspergillus* türlerine bağlı keratitler genellikle daha az şiddetli ve yavaş seyirli olmaktadır, inflamasyon daha az görülür ve sıklıkla halka şeklinde infiltrat görülmektedir. *Fusarium* keratitleri genellikle daha inflame ve ağır seyirlidir. Hızlı ilerleyerek kısa zaman içerisinde derin stromaya infiltrasyon ve korneal perforasyonuna neden olabilirler. *Candida albicans* ile gelişen keratitler ise genellikle bakteriyel keratitlere benzerlik gösterirler.² Fungal keratitlere ait en geniş serisi olan Gopinathan ve ark.'nın 1352 olguluk serisinde, erkekler kadınlardan 2.5 kat fazla ve hastaların %64.4'ünde 16-49 yaşları arasında bulunmuştur.⁴⁸

Hastalar genellikle yabancı cisim hissi ve artan ağrı şikayetleri ile başvurmaktadır. Kapak ödemi genellikle görülmemektedir.^{44,51} Sıklıkla gri-beyaz renkte, kuru görümlü ve düzensiz uzantıları veya filamentöz kenarları olan infiltrasyon görülmektedir. Bazen infiltratlar multifokal olabilirler veya satellit lezyonlar gözlenebilir.⁵² Klinik olarak diğer keratit nedenlerinde de görülebilen konjonktival enjeksiyon minimal izlenebilmektedir. Bazı olgularda intrastromal infiltrat üzerinde epitelin iyileştiği ve inflamasyonun çok az olduğu görülmektedir. Buna karşın inflamasyonun çok yoğun olduğu olgularda mevcuttur. Keratit ilerledikçe yoğun süpürasyon gelişir ve bakteriyel keratite benzemeye başlar. Bu aşamada hipopiyon ve endotelial plak gelişebilir.⁵² Fungal enfeksiyonun ön kamaraya ilerlemesiyle yoğun ön kamaraya reaksiyonu, limbusa doğru ilerlemesi sonucunda skleral tutulum izlenebilir. Enfeksiyon daha derin dokulara da ilerleyebilmektedir. Nadiren iris ve arka kamaraya

yayımlı olur ve buna bağılı pupil bloğu gelişebilir.²² çok nadir de olsa herpetik keratitlerde görmeye alışık olduğumuz dendritik ülser şeklinde karşımıza gelebilmektedir.^{47,53}

2.2.3 Laboratuvar tanı

Mantarların izolasyon ve identifikasyonlarında kültür temelli ve kültüre dayalı olmayan (serolojik, moleküler) yöntemler kullanılmaktadır.⁴⁵

Korneal kazıntı, göze topikal anestezi uygulama sonrasında biyomikroskop eşliğinde steril bistüri ya da platin spatül yardımıyla ülserin hem tabanından, hem de kenarlarından ve mümkünse birden çok örnek alınarak yapılmalıdır.⁵⁴ Alınan rnekler boyama için önceden %95'lik metanol ile fikse edilmiş lam üzerine yayılır, kültür için besiyeri ortamına ekilir.⁵⁵

Kültür sonuçlarının uzun sürede belirlenmesi nedeniyle, direkt mikroskopik inceleme büyük önem taşımaktadır. Mikroskopik değerlendirme ile hızlı bir inceleme yapılarak mantar saptanabilir, mantarın maya veya kf olup olmadığı hakkında bilgi edinilebilir. Gram ve Giemsa boyaları mantarın erken tanısında en sık kullanılan boyalardır.⁵⁵ Fungal keratitlerden alınan korneal kazıntı örneklerinin bu boya ile boyanarak kf mantarlarının hiplerinin fragmanları, blastosporlar ve maya mantarlarının psdohifleri %78 oranında saptanabilmektedir.⁵⁵ Fungal keratit şüphesi bulunan olgularda kazıntı örneklerini incelemeye kullanılan diğer boya ise potasyum hidroksit (KOH), akridin oranj boyası, Grocott Methenamin Gümüş tekniği (GMS), laktofenol pamuk mavisi ve kalkoflor beyazıdır.⁵⁶⁻⁵⁹

Direkt incelemenin amacı hızlı bir ön tanı elde etmektir. Kesin tanıya ulaşmakta kültür halen en önemli yöntemdir.^{2,46,60,61}

Fungal keratitlerde sıklıkla kullanılan besiyerleri sabouraud glikoz agar (SGA), kanlı agar, patates dekstroza agar (PDA), ikolata agar, cystine tryptone agar, beyin kalp- infüzyon et suyu ve thioglycolate et suyudur. Katı besiyerlerine yapılan ekimler "C" şeklinde yapılır ve sadece bu "C" izgişi üzerindeki üremeler anlamlı kabul edilir.^{2,46,61} Sıvı besiyerlerinde ise materyalin alındığı spatül, lup veya pamuklu çubuk sıvı içerisinde hızla döndürülmelidir.⁴⁶ Mantar keratitinde kültürde pozitiflik oranı %90'dır. Önerilen bekleme süresi 4-6 haftadır. Kültürdeki reme klinikle uyumluysa, aynı

mantar en az 2 ayrı katı besi yerinde üremişse, katı besiyerinin ekim alanında kısmen birleşik bir üreme söz konusuysa veya sıvı besiyerindeki üreme mikroskopisi ile uyumluysa kültürdeki üreme anlamlı kabul edilir.⁴⁵

Derin stromal yerleşimli olgularda korneal biyopsi materyali, kazıntıya göre daha iyi sonuç verir.² Korneal biyopsi örneğinden direkt bakı, kültür ve histopatolojik inceleme yapılmalıdır. Bazen kültürün negatif olduğu olgularda bile pozitif sonuç verebilir.

Moleküler tanı yöntemleri, giderek popüler olmakla birlikte her klinik laboratuvarında rutin olarak uygulanmaması ve standardizasyonun olmaması nedeni ile yaygın değildir.⁴⁵ Enfeksiyon etkeni olan mantarların saptanması ve tanımlanmasında nükleik asit amplifikasyon ve hibridizasyon problemlerinin kullanıldığı sinyal amplifikasyon yöntemlerinden yararlanır. Nükleik asit amplifikasyon teknolojilerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) veya benzeri yöntemler kullanılır.⁴⁵ Mantar yükünün çok az olduğu, kültür ve serolojik tanının henüz yetersiz olduğu evrede PZR temelli tanı yöntemleri çok daha etkili olabilir.⁴⁵ PZR, doku örneklerinde patojenin DNA'sını saptayan hassas bir yöntemdir. Bunun için gerekli olan materyal miktarı da çok azdır. Örneğin; 1-10 µl kadar korneal kazıntı materyali, humör aköz, vitreus veya gözyaşı olması yeterli olabilmektedir. Bu yöntem daha çok fungal endoftalmilerin tanısında kullanılmaktadır.⁴⁶

Non-invazif görüntüleme yöntemi olan, hastalıklı ve sağlıklı korneanın değerlendirildiği konfokal mikroskopisi; Avunduk ve ark. tarafından tavşanlarda deneysel *Aspergillus fumigatus* keratitinde kullanılmış, 14 ve 22. günlerde kültürden daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır.⁶² Konfokal mikroskopisi ile mantar hiflerinin gösterildiği az sayıda olgu bildirimleri mevcutsa da, yaygın klinik kullanımı yoktur.⁴⁵ Florakis ve ark. kültürde tanısı konulmuş iki *Aspergillus keratiti* olgusunda, konfokal mikroskopisi ile hifleri 6 µm çaplı, 60-400 µm uzunlukta filamanlar olarak görüntülemişlerdir.⁶³

2.2.4. Tedavi

Fungal keratitlerin tedavisi medikal ve cerrahi olarak ikiye ayrılabilir.

2.2.4.1. Medikal Tedavi

Tedavide, spesifik antifungal ajanların yanında nonspesifik önlemler ve antiseptikler de kullanılabilir. ⁶⁴ Günümüzde kullanılan antifungal ajanların etkinliği sınırlı olup, rölatif olarak medikal tedavide başarısızlık söz konusudur. Medikal tedavide en sık kullanılan ajanlar polyenler ve azollerdir. ^{64,65}

Fungal enfeksiyonların tedavisinde kullanılan ilaçlar: ^{2,45,46,66}

1. **Polyenler:**

- Natamisin,
- Amfoterisin-B

2. **Azoller:**

a) İmidazoller

Klotrimazol

Econazol

Ketokonazol

Mikonazol

b) Triazoller

Flukonazol

Itrakonazol

Vorikonazol

Posakonazol

3. **Pirimidine:**

- 5-Fluorositosin (Flusitozin)

4. **Ekinokandinler:**

- Mikafungin,
- Kaspofungin,
- Anidulafungin

5. Diğerleri:

- Povidon iyot
- Poliheksametilen biguanid
- Klorheksidin
- Gümüş sülfadiazin

Polyenler fungal hücre duvarındaki ergosterole bağlanarak hücrelerde bozulmaya neden olmaktadır.² Polyenler hem maya hem de küf mantarlarına karşı etkilidir. Amfoterisin B daha çok maya mantarlarına karşı etkilidir.² Natamisin ise maya mantarlarına karşı etkili olup küf mantarlarına karşı da geniş spektrumlu aktiviteye sahiptir.² Yapılan bir çalışmada fungal keratit tedavisinde vorikonazol ile karşılaştırıldığında natamisin ile tedavi sonrası daha iyi görme düzeyi elde edilmiştir.⁶⁷ Polyenlerin en büyük dezavantajı sağlam kornea epitelinden geçememeleridir.⁶⁸ Bu nedenle tedavi sırasında düzenli korneal debridman yapılarak tedavinin etkinliğinin artırılması amaçlanmaktadır.⁶⁹

Azoller hücre duvarında ergosterol sentezini inhibe ederek etki göstermektedirler. Genellikle maya mantarlarına karşı iyi etkinlik gösterirken, küf mantarlarına karşı etkileri değişkendir. Azoller içerisinde topikal olarak en çok vorikonazol, oral olarak ise ketokonazol ve itrakonazol kullanılmaktadır. Vorikonazolün topikal verildiğinde kornea penetrasyonunun ve oral verildiğinde göz içi konsantrasyonunun iyi olduğu bildirilmiştir.⁷⁰ Vorikonazolün topikal ve oral uygulaması dışında intrastromal uygulaması da mevcuttur.⁷¹ Posakonazol hakkında sınırlı sayıda çalışma vardır. Buna karşılık tedaviye yanıt vermeyen olgularda kurtarma tedavisi şeklinde oral olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.^{72,73,74} Altun ve ark.'nın yayınladığı çalışmada diğer antifungal ajanlara yanıtız iki olguda topikal ve oral posakonazol tedavisi ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.⁷⁵ Yayımlanan bir olgu sunumunda ise; natamisin ve amfoterisin B tedavisine yanıtız *Fusarium solani* keratitinde topikal posakonazol tedavisi ile iyileşme sağlanmış.⁷⁶ Tu ve ark.'nın yayınladığı *Fusarium solani* keratiti olan ve vorikonazol tedavisine yanıtız üç olguda, oral posakonazol tedavisi ile başarı sağlanmış.⁷³

Bir pirimidin olan flusitozin, timidin sentezini bloke ederek etki göstermektedir. Oral ve topikal formları mevcuttur.^{77,78} Fakat hızlı direnç gelişimi nedeniyle tek başına kullanımı pek tercih edilmemektedir.^{2,46}

Ekinokandinler mantar hücre duvarında beta-glukan sentezini bloke ederek etki göstermektedirler.⁵⁴

Klinik olarak yüzeysel filamentöz fungal keratitlerde ilk tercih olarak natamisin %5 önerilmektedir, fakat Türkiye’de ticari olarak bulunmamaktadır. *Candida* ve *Aspergillus* keratitlerinde natamisin yerine topikal amfoterisin B %0,15 önerilmektedir. *Fusarium* keratitinde ise oral veya topikal azol grubu ilaçlar tek başına veya kombine olarak kullanılmaktadır.

Sistemik tedavi; enfeksiyon derinse, topikal tedaviye yanıt yok ise, sklera tutulumunda veya endoftalmide kullanılmaktadır. Pek çok klinik ve deneysel çalışmada fungal keratitin sistemik tedavisinde ketokonazol, itrakonazol, mikonazol, flukonazol, vorikonazol ve posakonazol ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.^{72,79-84} Başlangıçta oral ketakonazol ağır filamentöz fungal keratitlerde ve oral flukonazol ağır maya keratitlerinde adjuvan tedavi olarak düşünülebilir. Vorikonazolun mükemmel intraoküler geçişi ve geniş spektrumlu olması ve yan etkisi diğer azol gruplarına göre daha az olmasından dolayı diğer oral antifungallerin yerini almaktadır.^{85,86} Vorikonazol hepatotoksisite yapabilmektedir. Bu nedenle tedavi süresince belirli aralıklarla karaciğer fonksiyon testlerine bakılmalıdır.⁷⁰

Antifungal ajanlar subkonjonktival, intrakamaral veya intrastromal olarak da uygulanmaktadır. Subkonjonktival enjeksiyon uygulama olarak kolay olsa da, toksik etkisi ve ağrı indüklemesi nedeniyle çok fazla kullanılmamaktadır.⁸⁷ İntrakamaral olarak 7,5-10 µm/0,1 ml dozda amfoterisin B ve 100 µg/0.1 ml dozda vorikonazol uygulanabilmektedir.^{88,89,90} Yapılan bir çalışmada oral itrakonazol ve topikal natamisin, amfoterisin B tedavisine yanıtı olmayan *Aspergillus flavus* keratiti olan 3 olguya intrakamaral amfoterisin B tedavisi ile başarılı sonuç elde edilmiştir.⁸⁸ İntrastromal olarak 50 µg/0.1 ml dozda vorikonazol kullanımı ile ilgili yayınlar mevcuttur.^{71,91} Prakash ve ark.’nın yaptığı çalışmada topikal antifungal tedaviye yanıtız 3 olguda tekrarlayan intrastromal vorikonazol enjeksiyonları ile korneal infiltrasyonun küçülmeye başladığı ve 3 hafta sonunda ülserasyonun tamamen kapandığı bildirilmiştir.⁹¹ Namrata ve ark.’nın yayınladığı çalışmada ise fungal keratitli 12 olguda topikal ve sistemik antifungal tedaviye ek olarak intrastromal vorikonazol enjeksiyonu yapılmış, olguların %83,3’ünde başarılı sonuçlar elde edilmiş.⁷¹

Fungal keratitlerin tedavisinde kortikosteroid kullanımı konusunda farklı görüşler vardır. Hastalık için önemli bir predispozan faktör kabul edilen kortikosteroid kullanımı, bazılarınca kesin bir kontrendikasyon oluştururken, Schreiber ve ark. ları deneysel *Candida albicans* keratitinde flukonazolle birlikte kortikosteroid kullanımını denemişler ve geç dönemde başladığı takdirde faydalı olduğunu savunmuşlardır.^{92,93} Antifungal ajanlar içerisinde amfoterisin B dışındaki ajanlar fungistatiktir. Mantarın yok edilmesi ise hastanın savunma mekanizmaları ile olmaktadır. Bundan dolayı klinik olarak enfeksiyonun kontrol altına alındığı düşünüldüğünde ve antifungal ajanların en az 2 hafta kullanımı sonrası topikal kortikosteroidler başlanabilir.⁹³

2.2.4.2. Cerrahi Tedavi

Maksimum topikal ve sistemik tedaviye rağmen ilerleme gösteren olgularda, perforasyon tehdidi bulunan veya perfore olmuş kornealarda cerrahi tedaviye geçilmektedir.⁹⁴ Bununla birlikte fungal keratit, dünyanın pek çok yerinde medikal tedavinin gecikmesi veya antifungal ilaçları temin etmedeki güçlükler nedeniyle cerrahi olarak tedavi edilen bir hastalık olmuştur.⁶⁴ Spatül veya bıçak ile topikal anestezi altında korneal debridman dünyada en çok yapılan cerrahi müdahaledir. Korneal debridman ile çoğalan mantarları ve nekrotik dokuyu uzaklaştırmak ve topikal antifungal ilaçların penetrasyonunu arttırmak amaçlanmıştır. Bu tedavi her 24-48 saatte bir yapılmalıdır.⁶⁸

Korneal incelme veya 2 mm çapından küçük perforasyonlarda doku yapıştırıcıları ve bandaj kontakt lensler kullanılabilir.⁹⁵ N-butyl siyanoakrilat doku yapıştırıcıları ve üzerine bandaj kontakt lensler bu tür küçük perforasyonları ve incelmeleri kapatmak amacıyla kullanılmaktadır. Doku yapıştırıcısını uygulamadan önce nekrotik doku, epitel ve doku artıklarının korneal debridman yapılarak uzaklaştırılması gerekmektedir.^{2,46} Yetmiş üç hastanın dahil edildiği bir çalışmada 66 gözün 42'sine doku yapıştırıcısı ve bandaj kontakt lens uygulaması yapılmış, uygulama sonrası hastalarda infiltrat boyutunun gerilediği, glob bütünlüğünün korunduğu ve 8 gözde bu uygulama ile penetran keratoplasti (PK)'nin ertelenmesinin sağlandığı görülmüştür.⁹⁵

Fungal keratit tedavisinde kullanılabilecek diğer cerrahi seçenekler konjonktival flep, konjonktival flep ile birlikte keratektomidir.⁹⁶ Bu tedaviler sıklıkla antifungal ilaçların temininde sıkıntı olan ve PK yapılamayan durumlarda uygulanmaktadır.

Diğer cerrahi tekniklere göre daha nadir olarak kullanılan konjonktival flep ve doku yapıştırıcılarının temel amacı enfeksiyonu kontrol altına almak ve glob bütünlüğünü korumaktır.^{97,98}

Kullanılan diğer cerrahi yöntem ise amniyotik zar transplantasyonudur (AZT). AZT özellikle yara iyileşmesinin yavaş olduğu ve korneal incelmeye olan olgularda uygulanmaktadır.⁹⁹ AZT yara iyileşmesini hızlandırırken, inflamasyonu, anjiyogenezisi ve fibrozisi azaltmaktadır.¹⁰⁰ Fungal keratit olgularında epitelizasyonu arttırmak ve kornea perforasyonunu önlemek amacıyla akut dönemde AZT uygulamasını öneren yayınlar mevcuttur.¹⁰¹

Yayınlanan cerrahi tedavilerin pek çoğu terapötik PK'yı içermektedir.^{102,103} Chen ve ark.'nın yayınladığı çalışmada; terapötik PK gerektiren enfeksiyöz keratitli olguların yarısının fungal kaynaklı olduğu gösterilmiştir.¹⁰²

Daha ciddi ülserlerde, 2 mm çapından büyük perforasyonlarda ve medikal tedaviye rağmen ilerleme saptandığında PK uygulanmaktadır. PK'nin zamanlaması çok önemlidir. Pek çok retrospektif seride antifungal tedaviye yanıtız olgularda 4 hafta içerisinde keratoplasti yapılması vurgulanmıştır.^{97,104,105}

PK tekniği diğer mikrobiyal keratitlerle benzer şekildedir. Trepanizasyon boyutu 1-1,5 mm saydam ve enfekte olmamış kornea alanı bırakacak şekilde olması fungal mikroorganizmalarının alıcı yatakta rezidü olarak kalma ihtimalini azaltmaktadır.^{106,107} Enfekte olmuş lens, iris ve vitreus gibi yapılar mevcutsa cerrahi sırasında çıkarılmalıdır.¹⁰⁸ Ancak lens enfekte değilse enfeksiyonun arka segmente yayılımını engellemek amacıyla mümkün olan olgularda lens yerinde bırakılmalıdır.⁴⁶ Çıkarılan dokular hem mikrobiyolojik hem de patolojik incelemeye gönderilmelidir.¹⁰⁸ Enfekte dokular çıkarıldıktan sonra donör kornea sütüre edilmeden önce cerrahi enstrümanların değiştirilmesi donör korneanın kontaminasyon riskini azaltmaktadır. Endoftalmi riski mevcut olan olgularda göz içi antifungal enjeksiyonu yapılmalıdır.¹⁰⁸

PK sonrası enfeksiyonun tekrarlama riskini önlemek amacıyla topikal antifungal ajanlar devam edilmelidir. Ayrıca topikal damlalara ek olarak sistemik antifungal ilaçlarda verilmelidir.¹⁰⁹

Keratoplasti öncesi olduğu gibi ameliyat sonrasında topikal kortikosteroid kullanımı tartışmalı ve dikkatli olunması gereken bir konudur. Burada PK yapılmasında birincil amacın hastalığı durdurmak ve glob bütünlüğünü korumak olduğu unutulmamalıdır. Rejeksiyon görülse bile ikincil optik PK daha sonra yapılabilir. Kortikosteroid kullanılmadığı durumlarda topikal siklosporin A kullanımının faydalı olabileceğini gösteren yayınlar mevcuttur.^{110,111}

2.2.4.3. Fungal Keratit Tedavisinde Korneal Çapraz Bağlama Tedavisinin Yeri

Riboflavin ve UVA (365 nm) ile fotokimyasal korneal kollajen çapraz bağlama Spoerl ve Seiler tarafından Dresden Üniversitesi'nde, 1997 yılında geliştirilmiştir.^{112,113} Standart Dresden protokolü; korneal debridmanı sonrasında %0,1 riboflavin uygulamasını takiben 365 nm dalga boyunda 3 mw/cm² gücünde 30 dk boyunca UVA uygulaması olarak tanımlanmıştır.¹¹⁴ Bu prosedür ile UVA'yı absorbe eden riboflavin bu fotosensitizasyon ile doğal lizil oksidaz yolağını aktive eden serbest radikallerin ortaya çıkmasını sağlayarak kollajenin fiziksel çapraz bağlamasını indüklemektedir.^{115,116} Açığa çıkan serbest radikaller kollajen ve proteoglikan molekülleri ile etkileşime girerek kovalent bağlar oluşturmakta ve böylece korneanın biyomekanik direncini güçlendirmektedir.¹¹⁴ Korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile korneanın ektatik hastalıklarından özellikle keratokonusun progresyonunun durdurulması ve kornea stabilizasyonunun sağlanması amaçlanmıştır.¹¹⁴

2008 yılında Iseli ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada; korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile antimikrobiyal tedaviye dirençli keratit hastalarında korneal erimenin durduğunu yayınlaması ile bu tedavinin korneanın ektatik hastalıkları dışında keratitlerde de etkili olabileceği gündeme gelmiştir.³ Bu yayınla birlikte ilaçların sterilizasyonunda kullanılan UVA ile sensitize edilmiş riboflavinin keratitlerde başarılı olabileceği düşüncesi oluşmuştur.¹¹⁷ 2013 yılında Dublin'de yapılan 9. Yıllık Uluslararası Korneal Çapraz Bağlama Kongresi'nde “ Keratit İçin Işık İle Aktive Edilmiş Kromofor” (Photo Activated Chromophore for Keratitis- Corneal Collagen Cross-linking/PACK-CXL) tanımlaması yapılmıştır.⁴

PACK-CXL'nin 3 mekanizma üzerinden etkili olduğu düşünülmektedir:⁴

1. Kromoforun patojenin nükleik asitlerine interkalasyonu ile replikasyonun önlenmesi.
2. Tedavi sırasında gelişen serbest radikallerin patojenin hücre duvarını bozması.
3. Korneada bulunan kollajenin yapısında değişikliğe yol açarak patojenin kollojenazına direnç gelişmesi.

Iseli ve ark.'nın yayınladığı çalışmadan sonra bu konuda pek çok in vitro, in vivo hayvan çalışması ve olgu raporları yayınlanmıştır.¹¹⁸⁻¹²² Literatürde fungal keratitlerde uygulanan KKÇB tedavisinin çelişkili sonuçları vardır.¹¹⁸

Bamdad ve ark.; bakteriyel keratitli olgularda KKÇB tedavisinin korneal epitelizasyon süresini kısaltmaya yardımcı olduğunu ve infiltrasyon alanındaki iyileşmeyi hızlandırdığını göstermişlerdir.¹¹⁹ Makdoui ve ark.'nın yayınladığı prospektif, randomize olmayan klinik çalışmada; bakteriyel keratitli 16 hastaya sadece KKÇB tedavisi uygulanmış, 15 hastada kornea epitelinin tamamen kapandığı ve inflamatuvar yanıtın azaldığı gösterilmiştir.¹²⁰

Bilgihan ve ark. yaptığı in vitro bir çalışmada hem %0,1 riboflavin hem de %0,25 riboflavin kullanılarak yapılan KKÇB'nin yüksek fungal konsantrasyonlarda bile fungisidal etkili olduğu gösterilmiştir.¹²¹ Galperin ve ark. yayınladığı in vivo hayvan çalışmasında ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KKÇB'nin *Fusarium* keratitinde etkili olduğu gösterilmiştir.¹²²

Kasetuwan ve ark.'nın orta ve ciddi enfeksiyöz keratitli hastalarda yaptığı bir çalışmada; tek başına KKÇB tedavisinin standart antifungal ajanlar ile yapılan tedaviye üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir (123). Bu konuda yapılan başka bir klinik prospektif randomize çalışmada ise KKÇB'nin iyileşme süresinde değişiklik oluşturmamasına karşın antifungal tedavi ile karşılaştırıldığında komplikasyonların belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir.¹²⁴ Buna karşın 12 olgu serisinin değerlendirildiği bir meta-analizde KKÇB'nin bakteriyel keratitlerde daha etkili olduğu, fungal, *Acanthamoeba* ve kültür negatif keratitlerde etkisiz olduğu belirlenmiştir.¹²⁵ Price ve ark. ise, KKÇB'nin bakteriyel keratitler ile karşılaştırıldığında fungal keratitlerde daha az etkili olduğunu yayınlamıştır.¹²⁶

2.2.5. Prognoz

Fungal keratitler tanı ve tedavi alanındaki gelişmelere rağmen halen kötü prognozlu seyretmektedir. Tanure ve ark.'nın serisinde gözlerin sadece %54'ü 20/100 veya daha iyi görmeye sahip olabilmişlerdir.⁶¹ Hastalığın prognozu lezyonun büyüklüğüne, derinliğine, etkenin tipine, hastanın inflamatuvar yanıtına ve predispozan faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Erdem ve ark.'nın *Scedosporium apiospermum* saptadıkları bir olgu duyarlılık testi ile belirlenen uygun ajanla tedavi edilmesine rağmen korneal erime gerçekleşmiş ve PK uygulanmıştır.¹²⁷ Yüzeysel, küçük lezyonlarda topikal damlalar ile iyi yanıt alınırken, derin stromal lezyonlarda ve skleraya yayılmış enfeksiyonlarda tedavi daha zor olmaktadır.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmada, kliniğimizde mantar keratiti sebebi ile takip edilen altı farklı hastadan elde edilen korneal kazıntı örneklerinden, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Bilim Dalı Laboratuvarı'nda izole edilen ve tür tanısı yapılan toplam altı küf mantarı izolatu incelendi. Bu izolatların üçü *Aspergillus* cinsi, diğer üçü ise *Fusarium* cinsi idi. Tür tanısında, internal transcribed spacer (ITS) bölgesinin incelemesi yanısıra calmodulin gen bölgesinin çoğaltılması ile *Aspergillus terreus* (*A. Terreus*) CBS 135845, *Aspergillus flavus* (*A. Favus*) CBS 143253, *Aspergillus fumigatus* (*A. Fumigatus*) CBS 143374 tanımlandı, ayrıca elongasyon faktör 1-alfa (*tef1-α*) gen bölgesinin çoğaltılması ile *Fusarium falciforme* (*F. Falciforme*) CBS 143254, *Fusarium proliferatum* (*F. Proliferatum*) CBS 143256, *Fusarium solani* (*F. Solani*) CBS 143372 identifiye edildi (Şekil 1-6).^{128,129} Çalışmada incelenen izolatlar Westerdijk Fungal Biodiversity Enstitüsü Utrecht, Hollanda'da doğrulandı ve Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS) kayıt numarası ile stoklandı.

Çalışma öncesi Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı.

Çalışmaya dahil edilen her mikroorganizma kendi içerisinde beş gruba ayrıldı:

Grup A (KKÇB): Yalnız korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi uygulandı.

Grup B (KKÇB+Vorikonazol): Korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte vorikonazol (Vfend IV, Fareva Aboise, Fransa) (10 mg/ml, 7 defa) tedavisi uygulandı.

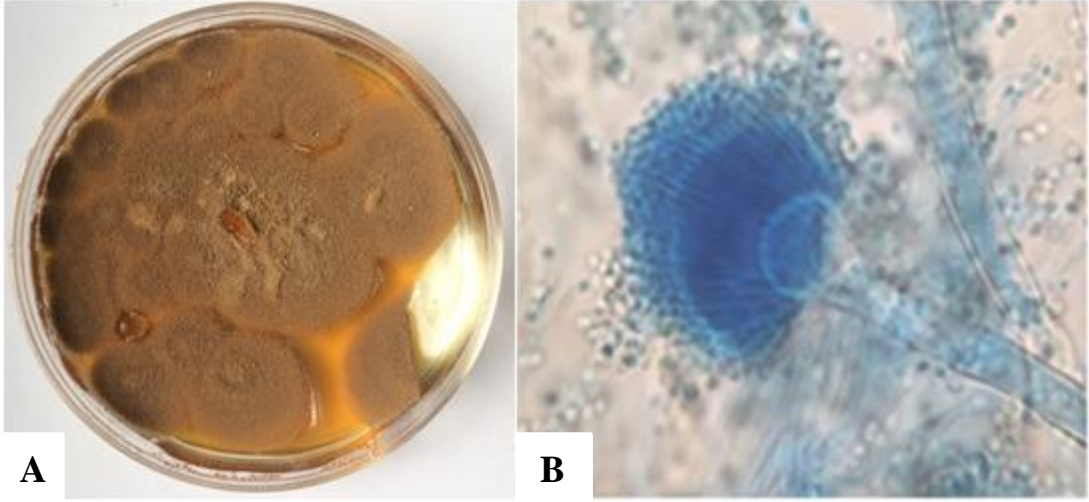
Grup C (KKÇB+Amfoterisin B): Korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte amfoterisin B (AmBisome, Gilead, İrlanda) (1,5 mg/ml, 7 defa) tedavisi uygulandı.

Grup D (KKÇB+ Klorheksidin): Korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte %0.02 klorheksidin (7 defa) tedavisi uygulandı.

Grup E: Yalnız antifungal ilaçların mikroorganizmalar üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyon düzeyi ve mikroorganizmaların canlılık azalma aktiviteleri değerlendirildi. . Bu grup kendi içerisinde üç alt gruba ayrıldı:

- Grup E1: Yalnız vorikonazol tedavisi uygulandı.
- Grup E2: Yalnız amfoterisin B tedavisi uygulandı.
- Grup E3: Yalnız klorheksidin tedavisi uygulandı.

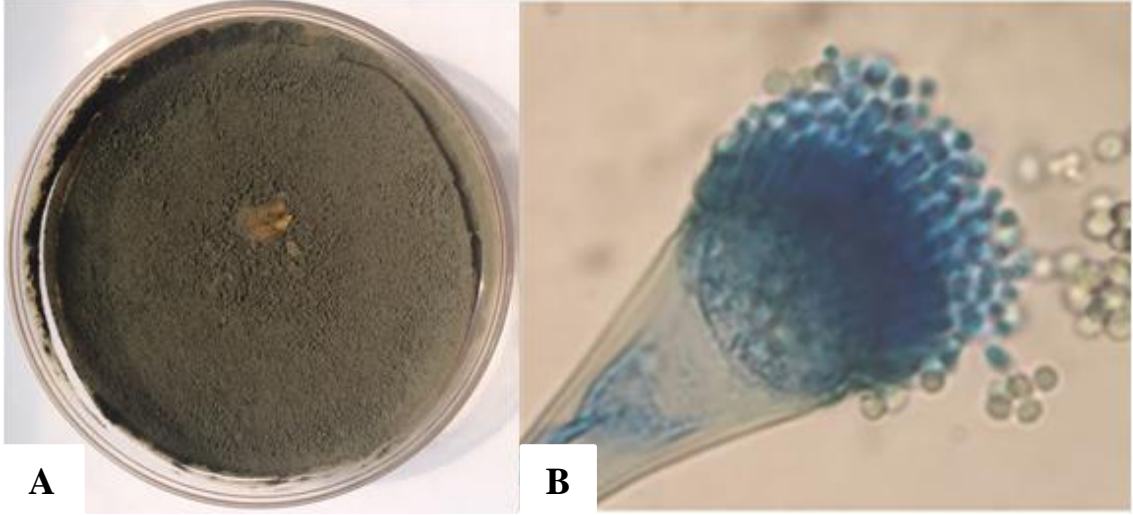




A

B

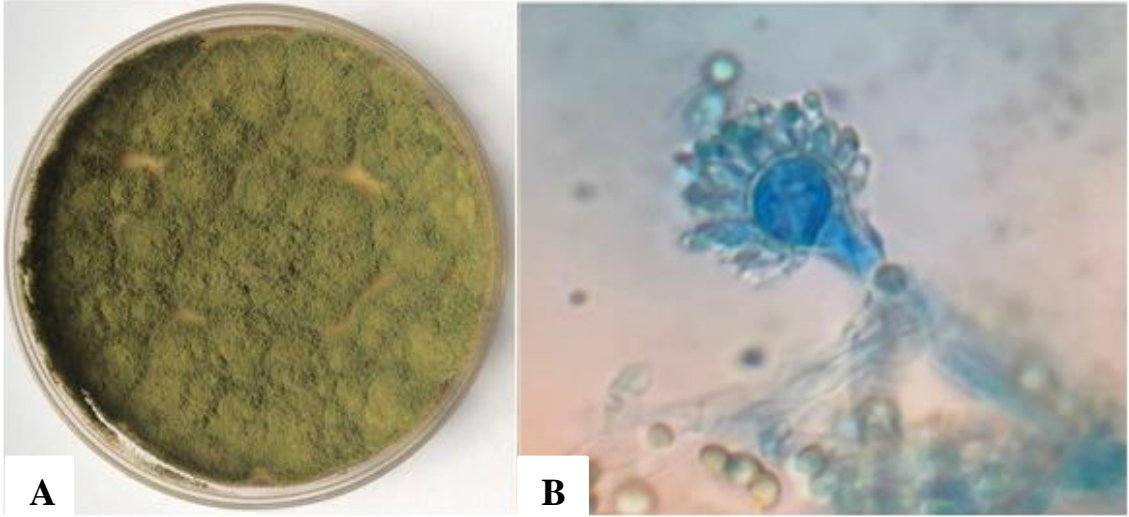
Şekil 1: *A. Terreus* CBS 135845 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)



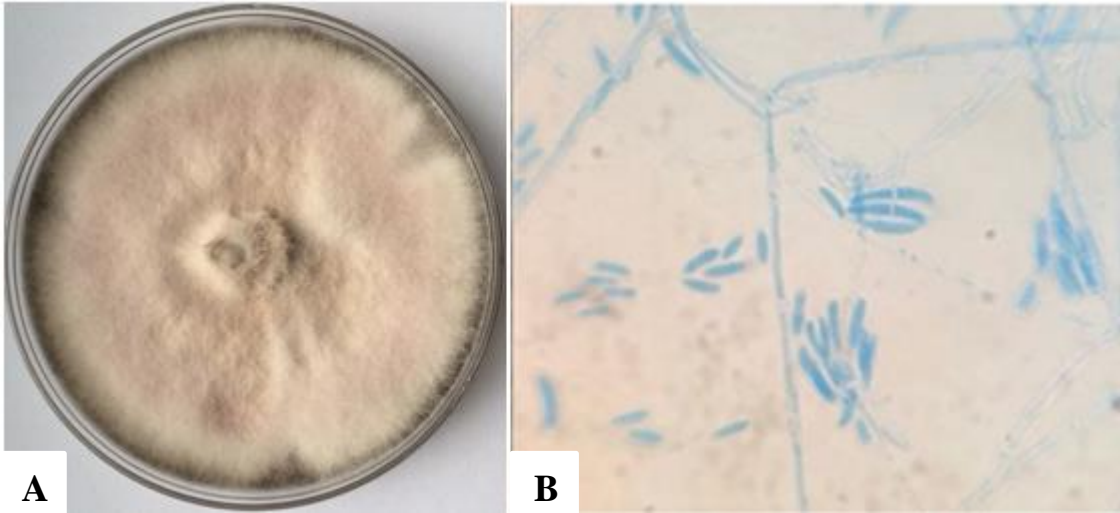
A

B

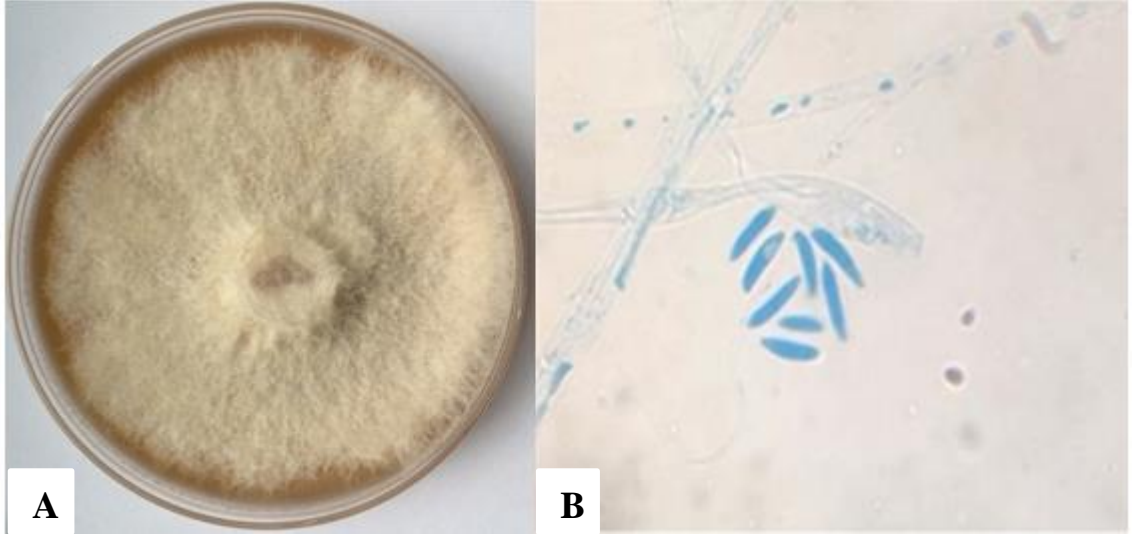
Şekil 2: *A. Fumigatus* CBS 143374 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)



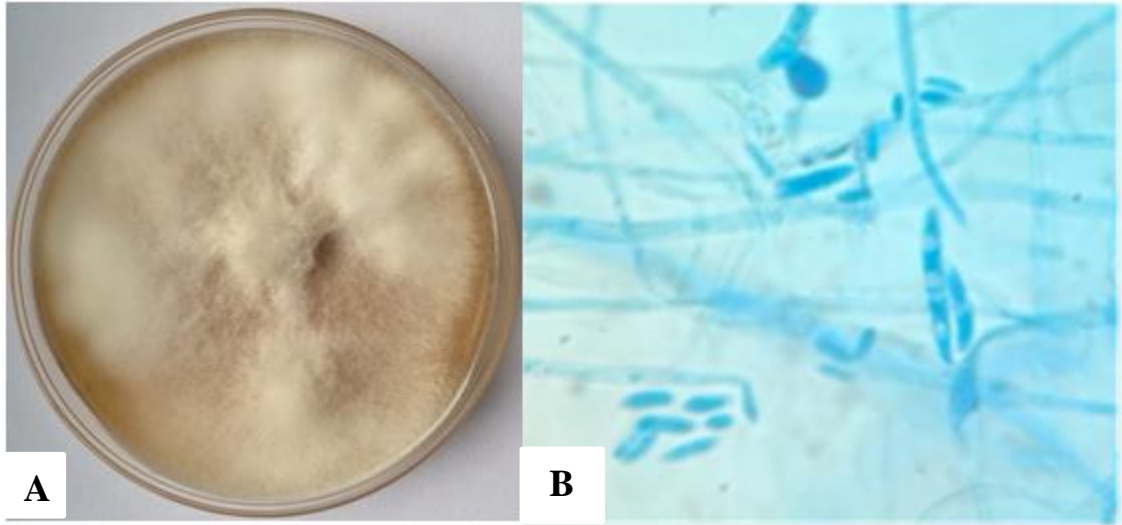
Şekil 3: A. *Flavus* CBS 143253 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)



Şekil 4: *F. Solani* CBS 143372 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)



Şekil 5: *F. Falciforme* CBS 143254 A: İzolatın PDA besiyerinde 28°C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)



Şekil 6: *F. Proliferatum* CBS 143256 A: İzolatın PDA besiyerinde 28 °C'de 7 günlük inkübasyonu sonrası görüntüsü, B: Laktofenol pamuk mavisi boyası ile direkt mikroskop inceleme görüntüsü (×100)

3.1. İzolatların Hazırlanması

Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Mikoloji Laboratuvarı'nda keratit etkeni olarak izole edilen mantarlar PDA (Acumedia, Baltimore, MD, ABD)'da +4°C'de saklandı ve çalışma öncesinde her biri PDA ve kloramfenikol içeren

Sabouraud glikoz agara (SGA; Merck, Darmstadt, Almanya) inoküle edildi. Bir hafta süre ile 28°C’de inkübe edilen örnekler steril distile su içerisinde son konsantrasyon 10⁵ CFU/ml olacak şekilde hazırlandı ve ½ seri dilüsyon yapılarak mikroorganizmaların 10⁴, 10³, 10², 10 CFU/mL olması sağlandı.

3.2. Korneal Çapraz Bağlama Tedavi Uygulaması

Korneal çapraz bağlama uygulaması, Bilgihan ve ark.¹²¹ tarafından tanımlanan “black plate” yöntemi ile U tabanlı 96 kuyucuklu mikropklarda uygulandı. Mikropklarda mikroorganizmaların koyulduğu kuyucukların tabanı, UVA’nın yansımalarını ve diğer kuyucuklar arası ışımaya etkileşimini önlemek için siyah yağlı boya ile boyandı. Mikroorganizma içermeyen kuyucuklara 200 µL amidoschwarz 10B boyası (Merck, Darmstadt, Almanya) aynı amaçla eklendi. Korneal çapraz bağlama uygulanacak olan tabanı boyanmış çalışma kuyucuklarının tümüne 100 µL phosphate-buffered saline (PBS) ve dört farklı konsantrasyonda hazırlanan mikroorganizmalardan 10 µL, çalışma planındaki gruplandırmaya uygun olacak şekilde eklendi (Şekil 7). Son olarak, 33 µL %0,1 riboflavin (MedioCross TE; Peschke Meditrade, Zug, Switzerland) damlatıldı ve takiben çalışma kuyucuklarına 9mw/cm² gücünde, 365nm dalga boyunda 10 dakika UVA (Peschke Meditrade GmbH, Zürich, Switzerland) uygulandı (Şekil 8). Ek olarak, plaklarda tüm mikroorganizmalar için sadece UVA’nın ve sadece %0,1 riboflavinin etkisini değerlendirmek amacıyla kontrol grupları oluşturuldu.

Antifungal ajanlar ile korneal çapraz bağlama tedavisinin birlikte uygulandığı gruplarda ise, UVA ve riboflavin uygulaması öncesinde antifungal ajanlar her defasında 5 µL olacak şekilde 30 dakika ara ile yedi kez çalışma kuyucuklarına damlatıldı.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	10 ⁴ CFU/mL MO. %0,1 RBF UVA				10 ⁴ CFU/mL MO. %0,1 RBF UVA				10 ⁴ CFU/mL MO UVA			
B												10 ² CFU/mL MO UVA
C			10 ² CFU/mL MO %0,1 RBF UVA				10 ² CFU/mL MO %0,1 RBF UVA					
D												
E					10 ³ CFU/mL MO. %0,1 RBF UVA				10 ³ CFU/mL MO. UVA			10 CFU/mL MO UVA
F	10 ³ CFU/mL MO. %0,1 RBF UVA											
G										10 ⁴ CFU/mL MO %0,1 RBF		10 ² CFU/mL MO %0,1 RBF
H			10 CFU/mL MO %0,1 RBF UVA				10 CFU/mL MO %0,1 RBF UVA			10 ³ CFU/mL MO %0,1 RBF		10CFU/mL MO %0,1 RBF

Şekil 7: Mikroplakların düzenlenmesinde kullanılan şablon. Boş kuyucuklar amidoschwarz boyası ile dolduruldu. MO: Mikroorganizma, RBF: Riboflavin, UVA: Ultraviyole A



Şekil 8: Çalışma planına göre hazırlanmış mikroplağa UVA uygulanması sırasındaki görüntüsü, UVA: Ultraviyole A

3.3. Antifungal İlaçların Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Vorikonazol, amfoterisin B ve klorheksidinin minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) değerleri, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M38-A2 rehberi doğrultusunda belirlendi ve ek olarak mikroorganizmalarda görülen canlılık azalma aktiviteleri değerlendirildi.

3.4. Mikolojik İnceleme

Tüm plaklardaki çalışma kuyucuklarının her birinden 50 μ L örnek alınıp Mueller Hinton agar plaklarına (Merck, Darmstadt, Almanya) inoküle edildi ve plaklar en az yedi gün süre ile 28°C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mikroorganizmaların koloni sayıları kaydedilerek; tedavi uygulamadan önce ve sonra koloni sayısında meydana gelen değişiklikler belirlendi.

3.5. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi IBM SPSS 20 paket programı ile (IBM SPSS Statistics 20 Inc., Chicago. ABD) yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler veri seti kategorik değişkenlerden oluştuğu için denek sayısı (n), yüzde (%) ve mean rank ile ifade edildi. Bağımsız iki grup karşılaştırmalarında Independent Samples Mann-Whitney U testi, üç ve daha fazla grup karşılaştırmalarında ise Benferoni düzeltmeli Independent Samples Kruskal-Wallis H testi ile gruplar arasındaki farklılıklar belirlendi. Eşleştirilmiş iki grup karşılaştırmaların da Related Samples Wilcoxon Signed Rank Test, üç ve daha fazla grup karşılaştırmaların da ise Related Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks kullanıldı. Sonuçlar tablo ve grafik olarak özetlendi. Anlamlılık seviyesi olarak 0,05 kullanılmış olup $p < 0,05$ olması durumunda anlamlı farklılığın olduğu, $p > 0,05$ olması durumunda ise anlamlı farklılığın olmadığı belirtildi.

4. BULGULAR

Çalışmada, kliniğimizde mantar keratiti sebebi ile takip edilen altı farklı hastadan elde edilen korneal kazıntı örneklerinden izole edilen ve tür tanısı yapılan toplam altı küf mantarı izolatu incelendi.

Her bir küf mantarı için; yalnız korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi uygulananlara grup A, korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte vorikonazol tedavisi uygulananlara grup B, korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte amfoterisin B tedavisi uygulananlara grup C, korneal kollajen çapraz bağlama tedavisi ile birlikte %0.02 klorheksidin tedavisi uygulananlara grup D, yalnız vorikonazol tedavisi uygulananlara grup E1, yalnız amfoterisin B tedavisi uygulananlara grup E2, yalnız %0.02 klorheksidin uygulananlara grup E3 olacak şekilde tedavi grupları oluşturuldu. Bütün küf mantarları kendi içerisinde değerlendirilerek tedavi öncesi ve tedavi sonrası koloni sayılarında oluşan değişiklikler değerlendirildi. Aynı zamanda çalışmaya dahil edilen küf mantarı izolatlarında antifungal ilaçların MIC değerleri incelendi.

Çalışmaya alınan altı küf mantarı izolatu üzerinde antifungal ilaçların minimum inhibitör konsantrasyon düzeyleri Tablo 3’de gösterildi.

Tablo 3: Çalışmada incelenen küf mantarı izolatlarına karşı antifungal ilaçların MIC düzeyleri (µg/mL).

	Amfoterisin B	Flukanazol	Vorikonazol	İtrakonazol	Klorheksidin
<i>A.Terreus</i> CBC 135845	0.5	16	4	0.5	0.00125
<i>A.Fumigatus</i> CBC 143374	0.25	32	0.5	0.03	0.00125
<i>A.Flavus</i> CBC 143253	2	16	8	0.25	0.00125
<i>F.Solani</i> CBC 143372	2	2	2	2	0.00125
<i>F.Proliferatum</i> CBC 143256	4	32	16	4	0.00125
<i>F.Falciforme</i> CBC 143254	0.25	16	0.125	0.03	0.00125

MIC: Minimum inhibitör konsantrasyon

Çalışmada, *A. Terreus* CBS 135845, *A. Flavus* CBS 143253, *A. Fumigatus* CBS 143374 ve *F.Falciforme* CBS 143254, *F. Proliferatum* CBS 143256 ve *F. Solani* CBS 143372 incelendi. Hazırlanan dört farklı konsantrasyon için; grup A (KKÇB), grup B (KKÇB+vorikonazol), grup C (KKÇB+amfoterisin B), grup D (KKÇB+%0.02 klorheksidin), grup E1 (vorikonazol), grup E2 (amfoterisin B) ve grup E3 (%0.02 klorheksidin)'de tedavi sonrası mikroorganizma üremesi görülen gruplar istatistiksel olarak incelendi.

Grup B (KKÇB+vorikonazol), grup C (KKÇB+amfoterisin B), grup D (KKÇB+%0.02 klorheksidin) ve grup E3 (%0.02 klorheksidin)'de tedavi sonrası mikroorganizma üremesine rastlanmadı. Bu gruplarda daha yüksek oranda fungisidal etki görülmesine rağmen uygulanan tedaviler sonucunda üreyen mikroorganizma olmadığı için istatistiksel değerlendirme yapılmadı.

Grup A (KKÇB) ($\chi^2:13,3;p:0,02<0,05$), grupE1 (vorikonazol) ve grup E2 (amfoterisin B)'nin birlikte değerlendirilmesi ($\chi^2:10,7;p:0,04<0,05$) ile tedavi sonrası mikroorganizma üremesi bakımından çok yönlü istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı derecede fungisidal etki olduğu görüldü. Bulunan anlamlı farklılığın ikili karşılaştırmalar sonucunda;

•Grup A (KKÇB) için: *F.Solani* CBC 143372 ve *F.Falciforme* CBC 143254 cinslerine göre; *F.Proliferatum* CBC 143256 ($U_1:1,2$, $U_2:1,3$; $Z_1:0,04<0,05$, $Z_2:0,042<0,05$), *A.Flavus* CBC 143253 ($U_1:2$, $U_2:1,7$; $Z_1:0,046<0,05$, $Z_2:0,041<0,05$), *A.Terreus* CBC 135845 ($U_1:1,6$, $U_2:1,7$; $Z_1:0,021<0,05$, $Z_2:0,02<0,05$), *A.Fumigatus* CBC 143374 ($U_1:2$, $U_2:1,7$; $Z_1:0,043<0,05$, $Z_2:0,048<0,05$) cinslerinde fungisidal etkinin daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.

•Grup E1 (vorikonazol) ve grup E2 (amfoterisin B) birlikteliği için: *F.Solani* CBC 143372 ve *A.Fumigatus* CBC 143374 cinslerine göre; *F.Falciforme* CBC 143254 ($U_1:2,3$, $U_2:2,2$; $Z_1:0,029<0,05$, $Z_2:0,037<0,05$), *F.Proliferatum* CBC 143256 ($U_1:2$, $U_2:1,9$; $Z_1:0,04<0,05$, $Z_2:0,037<0,05$), *A.Flavus* CBC 143253 ($U_1:2$, $U_2:1,9$; $Z_1:0,043<0,05$, $Z_2:0,037<0,05$), *A.Terreus* CBC 135845 ($U_1:2,7$, $U_2:2,5$; $Z_1:0,042<0,05$, $Z_2:0,041<0,05$) cinslerinde fungisidal etkinin daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu.

Çalışmaya alınan her bir küf mantarı cinsi, birbirleri ile ilişkili küf mantarı cinslerinin konsantrasyon sayımlarına göre çok yönlü analiz ile karşılaştırıldığında A.

terreus CBS 135845 (χ^2 :11,2;p:0,02<0,05), *A. fumigatus* CBS 143374 (χ^2 :11,4;p:0,02<0,05), *A. flavus* CBS 143253 (χ^2 :10,5;p:0,03<0,05), *F. solani* CBS 143372 (χ^2 :9,2;p:0,04<0,05) cinslerinde istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4). Tedavi gruplarında tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayılarının az olması nedeniyle mikroorganizma konsantrasyon sayımları için ikili olarak alt karşılaştırılma yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu nedenle çalışmamızda tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayılarındaki değişiklikler de incelendi.

Tablo 4: Çalışmada incelenen küf mantarlarında tedavi gruplarının çok değişkenli analizi.

Küf mantarları	Küf Mantarlarının Konsantrasyon Sayımları*					Multivariate A.	
	Tedavi Öncesi	10 ⁴ CFU/mL	10 ³ CFU/mL	10 ² CFU/mL	10 CFU/mL	χ^2	P
<i>A. Terreus</i> CBS 135845	5.0	4.0	2.7	2.2	1.2	11,2	0,02
<i>A. Fumigatus</i> CBS 143374	5.0	3.5	3.5	1.4	1.7	11,4	0,02
<i>A. Flavus</i> CBS 143253	5.0	4.0	1.9	2.0	2.2	10,5	0,03
<i>F. solani</i> CBS 143372	5.0	3.2	2.3	1.4	3.2	9,2	0,04
<i>F. falciforme</i> CBS 143254	5.0	2.4	2.0	2.7	3.0	7,1	NS
<i>F. proliferatum</i> CBS 143256	5.0	3.3	2.3	1.7	2.7	8,3	NS

*Mean Rank, Related Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks.

Her bir tedavi için, birbirleri ile ilişkili küf mantarlarının konsantrasyon sayımlarına göre çok yönlü analiz ile karşılaştırıldığında KKÇB (χ^2 :16,4;p:0,003<0,05), amfoterisin B (χ^2 :16,9;p:0,002<0,05), vorikonazol (χ^2 :17,1;p:0,002<0,05) istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı bulundu. KKÇB için tedavi öncesi ve diğer konsantrasyon sayımları (Z:2,201;p:0,028<0,05) ile 10⁴-10³ ; 10⁴-10² (Z:1,992;p:0,046<0,05), amfoterisin B için tedavi öncesi ve diğer konsantrasyon sayımları (Z:2,201;p:0,028<0,05) ile 10⁴-10² (Z:1,890;p:0,049<0,05), vorikonazol için tedavi öncesi ve diğer konsantrasyon sayımları (Z:2,201;p:0,028<0,05) ile 10⁴-10² (Z:2,207;p:0,027<0,05) olarak ikili alt karşılaştırılma yapıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 5). Yani bu tedavi uygulamaları küf mantarlarının hazırlanan bütün konsantrasyonlarında etkili oldu.

Tablo 5: Küf mantarlarının konsantrasyon sayımları üzerinde KKÇB, vorikonazol ve amfoterisin B tedavilerinin ikili alt grup analizi sonuçları.

Uygulanan Tedavi	Küf Mantarlarının Konsantrasyon Sayımları*					Multivariate A.		Univariate A.	
	Tedavi Öncesi	10 ⁴ CFU/mL	10 ³ CFU/mL	10 ² CFU/mL	10 ¹ CFU/mL	χ^2	P	Z	p
KKÇB	5.0	3.3	2.4	1.5	2.8	16,4	0,003	2,201 ^α 1,992 ^μ	0,028 0,046
Amfoterisin B	5.0	3.2	2.7	1.8	2.5	16,9	0,002	2,201 ^α 1,890 [£]	0,028 0,049
Vorikonazol	5.0	3.7	2.3	2.4	1.8	17,1	0,002	2,201 ^α 2,207 [□]	0,028 0,027

*Mean Rank, Related Samples Friedman's Two-Way Analysis of Variance by Ranks.

α: Tedavi Öncesi-10⁴ ; Tedavi Öncesi-10³; Tedavi Öncesi-10²; Tedavi Öncesi-10,

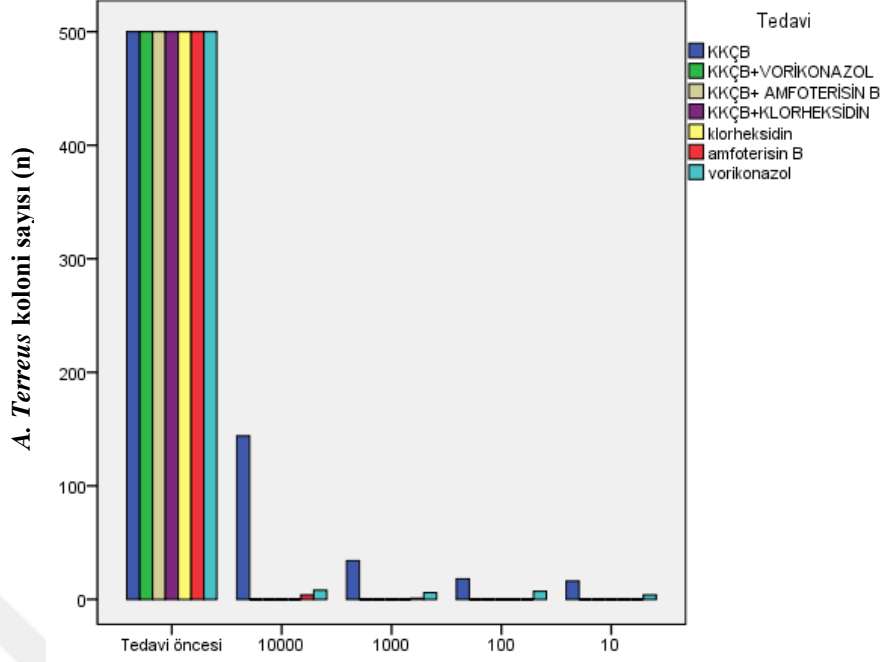
μ: 10⁴-10³; 10⁴-10²,

£: 10⁴-10²,

□: 10⁴-10², Related Samples Wilcoxon Signed Rank Test.

Tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayıları değerlendirildiğinde grup B, grup C, grup D ve grup E3'de tedavi sonrası mikroorganizma üremesi görülmez iken, diğer tedavi gruplarında mikroorganizma sayısında önemli derecede azalma olsa dahi mikroorganizma üremesi mevcut idi (Şekil 9-14). Bu durum, KKÇB ve antifungal ilaçların tek başına kullanıldığında yeterli fungisidal etkisi olduğunu gösterirken, birlikte uygulandığında daha yüksek fungisidal etki geliştiğini istatistiksel olarak gösterdi.

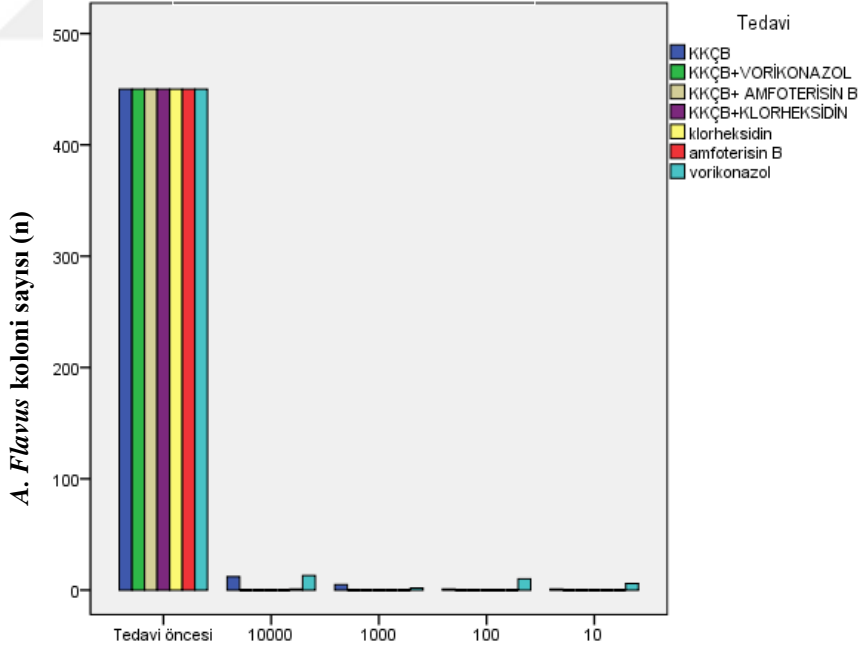
A. *Terreus* CBS 135845



A. *Terreus* konsantrasyon sayımları

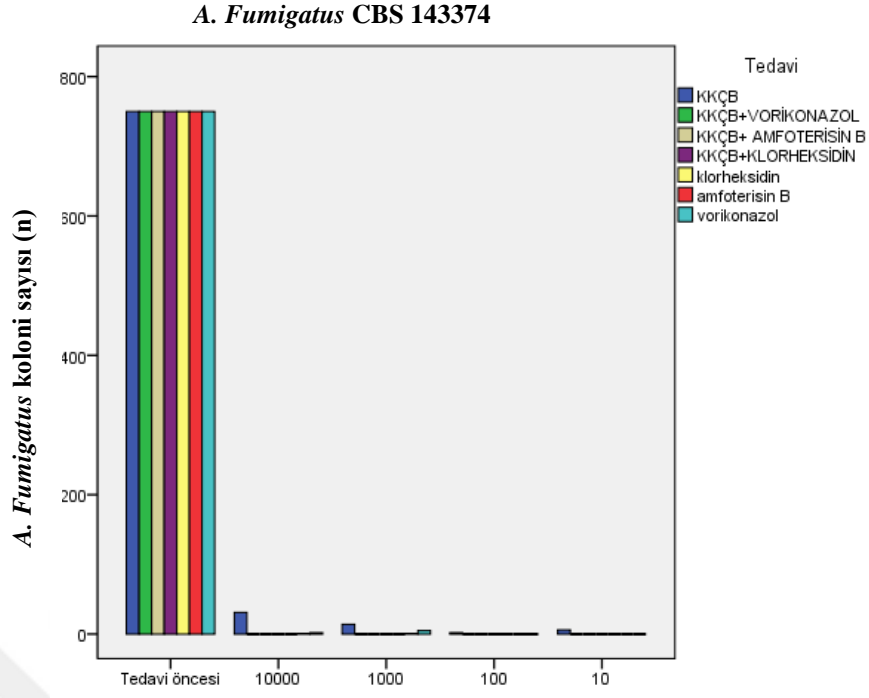
Şekil 9: A. *Terreus* CBS 135845 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.

A. *Flavus* CBS 143253



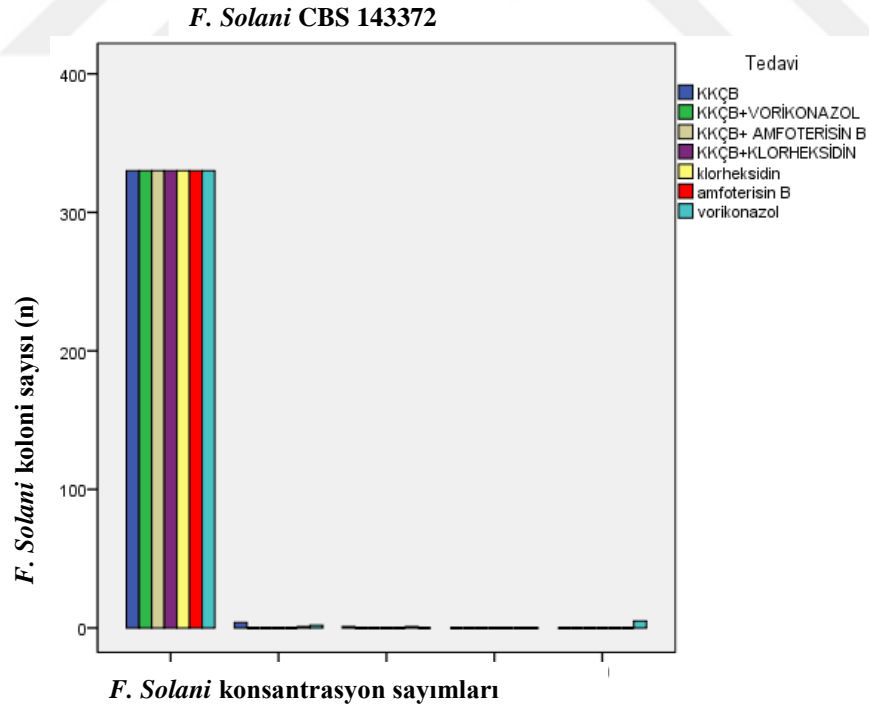
A. *Flavus* konsantrasyon sayımları

Şekil 10: A. *Flavus* CBS 143253 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.



A. *Fumigatus* konsantrasyon sayımları

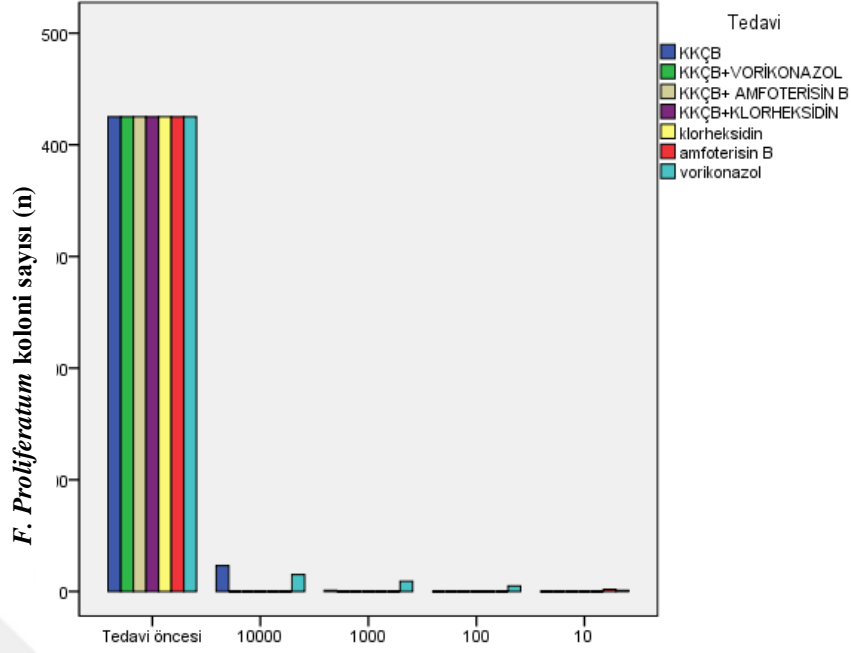
Şekil 11: A. *Fumigatus* CBS 143374 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.



F. *Solani* konsantrasyon sayımları

Şekil 12: F. *Solani* CBS 143372 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.

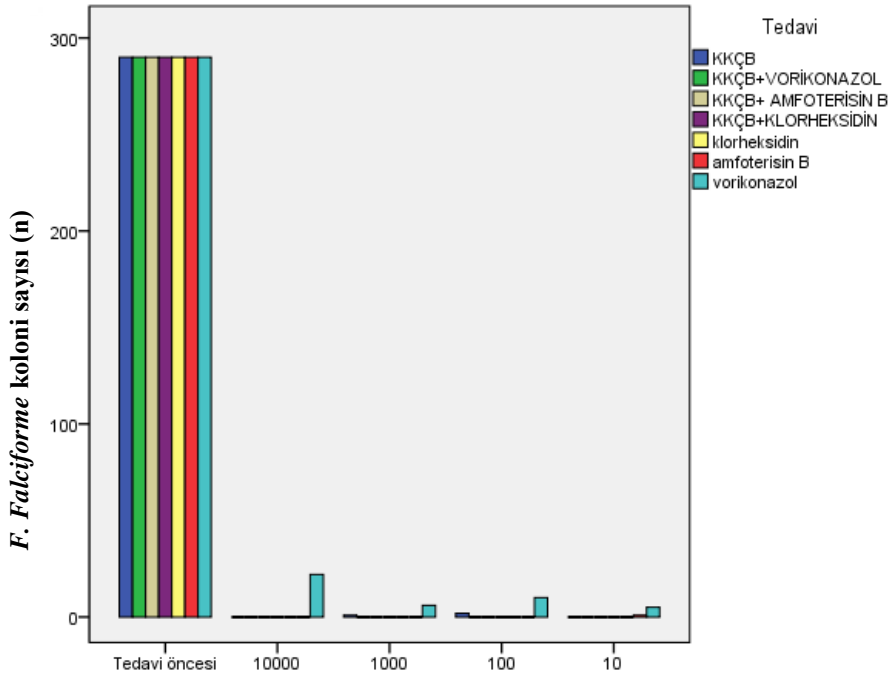
F. Proliferatum CBS 143256



F. Proliferatum konsantrasyon sayımları

Şekil 13: *F. Proliferatum* CBS 143256 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.

F. Falciforme CBS 143254



F. Falciforme konsantrasyon sayımları

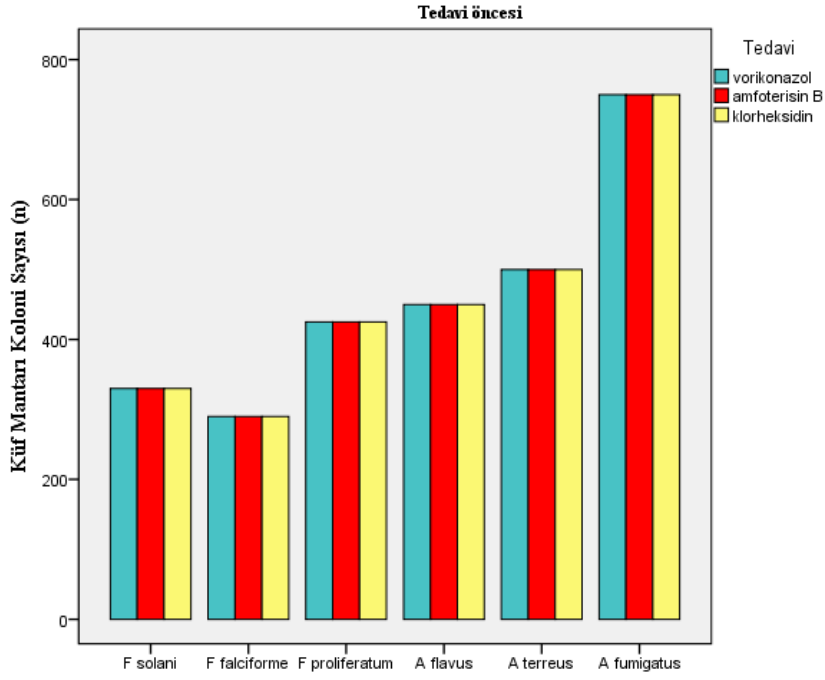
Şekil 14: *F. Falciforme* CBS 143254 için tedavi grupları arasında tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayılarında görülen değişikliğin gösterilmesi.

Çalışmaya alınan küf mantarı izolatları için; Grup E'de tek başına vorikonazol, amfoterisin B ve klorheksidinin etkinlikleri değerlendirildi. Anılan üç ilacın antifungal etkinlikleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ancak tedavi öncesine (Şekil 15) göre tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayılarındaki azalma incelendiğinde aşağıdaki farklılıklar saptandı (Şekil 16):

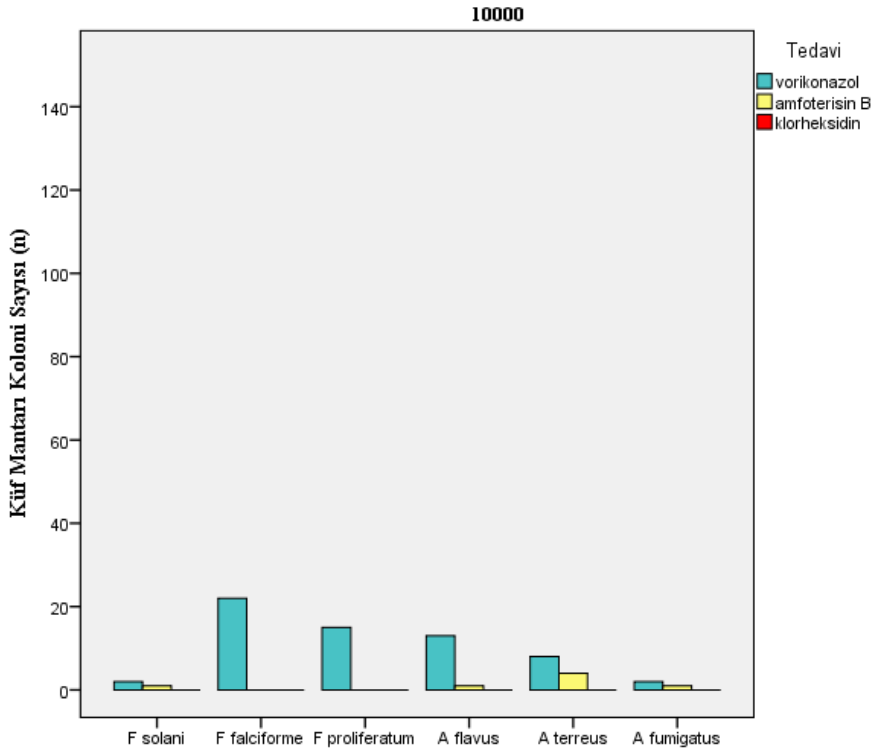
- *A. terreus* CBS 135845, *A. fumigatus* CBS 143374, *F. solani* CBS 143372 ve *F. proliferatum* CBS 143256 için; tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayıları incelendiğinde klorheksidin uygulaması ile amfoterisin B ve vorikonazole göre daha az mikroorganizma üremesi görüldü.

- *A. flavus* CBS 143253 ve *F. falciforme* CBS 143254 için; tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayıları incelendiğinde klorheksidin ve amfoterisin B uygulamaları sonrası vorikonazole göre daha az mikroorganizma üremesi görüldü.

Sonuç olarak küf mantarlarında %0.02 klorheksidin kullanımı sonrası hiç üreme görülmez iken, vorikonazol ve amfoterisin B kullanımı sonrasında ise mikroorganizma sayısında önemli derecede azalma olsa dahi mikroorganizma üremesi mevcut idi.



Şekil 15: Çalışmaya alınan altı küf mantarı izolatlarının yalnız antifungal ilaç uygulanan gruplarda (Grup E) tedavi öncesi koloni sayımlarının gösterilmesi.



Şekil 16: Çalışmaya alınan altı küf mantarı izolatlarının yalnız antifungal ilaç uygulanan gruplarda (Grup E) tedavi sonrası koloni sayımlarının gösterilmesi.

5. TARTIŞMA

Fungal etkenler; en sık görülen keratit nedenleri arasında olmasalarda tanı ve tedavisindeki zorluklar, uygun antifungal ajanın teminindeki sıkıntılar nedeniyle ciddi görme kaybına neden olmaktadır. Fungal keratitler ilk olarak Leber tarafından 1879 yılında tanımlanmıştır.⁴¹ Hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde önemli bir körlük nedenidir. Fungal keratitlerin görülme sıklığı, risk faktörleri ve sebep olan etkenler, coğrafi bölgelere ve iklime göre değişiklik göstermektedir.

Klinik çalışmalar en sık fungal keratite yol açan küf mantarlarının *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria* ve *Cladosporium*; maya mantarının ise *Candida* olduğunu göstermektedir. Bu nedenle çalışmamızda en sık küf mantarı etkenleri içinde olan *Fusarium* ve *Aspergillus* cinsleri üzerinde in vitro olarak tedavi grupları karşılaştırılmıştır.

Fungal keratitlerin medikal tedavisinde en sık kullanılan ajanlar polyenler ve azollerdir.^{64,65} Günümüzde kullanılan antifungal ajanların etkinliği sınırlı olup, rölatif olarak medikal tedavide başarısızlık söz konusudur. Antifungal ilaçların yüksek maliyeti, ilaç teminindeki zorluklar, ilaç direnci ve bazı olgularda uygun tedaviye rağmen kliniğin kötüleşmesi gibi nedenlerle yeni tedavi seçenekleri gündeme gelmiştir.⁹

Özellikle spesifik antifungal tedavi ajanlarını elde etmenin güç olduğu gelişmekte olan ülkelerde, çeşitli antiseptiklerin fungal keratit tedavisindeki etkinlikleri araştırılmıştır. Bu amaçla povidon iyot ve klorheksidin gibi antiseptik ajanlar kullanılabilir. ^{64,130-133} Bu ajanların başarılı bir şekilde kullanılacağı doğrultusunda sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.¹³⁰⁻¹³³ Rahman ve ark. kültür pozitifliği saptanan 60 fungal keratitli olguda %5 natamisin ile 3 farklı konsantrasyondaki topikal klorheksidinin (%0.05, %0.1, %0.2) etkinliğini karşılaştırmışlardır.¹³² %0.2 konsantrasyonundaki klorheksidinin diğer konsantrasyonlara göre daha etkili olduğu ve antifungal tedavi başlanmamış olgularda %5 natamisine karşı istatistiksel olarak anlamlı bir üstünlüğü olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da in vitro olarak küf mantarı izolatları üzerinde yalnız %0.02 klorheksidinin ve KKÇB uygulaması ile birlikte %0.02 klorheksidinin etkinlikleri değerlendirilmiştir. %0.02 klorheksidinin çalışmaya dahil edilen küf mantarı izolatları üzerinde çok düşük konsantrasyonda bile fungisidal etkili

olduğu, KKÇB uygulaması ile birlikte veya tek başına uygulandığında incelenen altı küf mantarında tedavi sonrası mikroorganizma üremesinin hiç olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda vorikonazol ve amfoterisin B gibi mantar keratitlerinde güncel olarak kullanılan antifungal ilaçlar ile fungisidal etkisi karşılaştırıldığında, bu üç ilaç arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir. Fakat tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayıları incelendiğinde; %0.02 klorheksidin uygulaması sonrası mikroorganizma üremesi gözlenmez iken, vorikonazol ve amfoterisin B uygulamaları sonrasında mikroorganizma sayısında belirgin azalma görülmesine rağmen az da olsa mikroorganizma üremesi olduğu görülmüştür. Bu nedenle %0.02 klorheksidin tedavisinin fungal keratitlerin tedavisinde tek başına veya diğer tedavi yöntemleri ile kombine edilerek kullanılabilceği düşünülmüştür.

Mikrobiyal keratit tedavisinde KKÇB tedavisiyle ilgili çalışmaların sonuçları umut vericidir. KKÇB'nin antimikrobiyal etkisinin, UVA ile riboflavin fotosensitizasyonu sonucu gelişen oksidatif hasara bağlı olduğu düşünülmektedir.

Riboflavin, korneanın yapısında hücre düzeyinde bulunan ve antimikrobiyal etkisi olduğu düşünülen bir fotokromofordur.¹³⁴ Riboflavin'in fotoaktivasyonu, kimyasal endüstride, sıvılarda mikrobik yükü azaltmak için yıllardır kullanılmaktadır. Bu amaçla kan transfüzyonu için taze dondurulmuş plazmadaki mikrobiyal yükü azaltmak, hem bakteri hem de virüsleri öldürmek için kullanılmaktadır.¹³⁵⁻¹³⁸ 2003 yılında İsviçre Federal Endüstri Enstitüsü, polietilen tereftalat şişeleri içerisindeki kontamine suya riboflavin ilave etmiş ve ardından yoğun doğal güneş ışığına maruz bırakmışlar. Sonuçta bakteri, mantar, virüs ve acantomoebea kistleri dahil bütün mikroorganizmaların yok olduğu gösterilmiş ve bu teknik güneş dezenfeksiyonu (Solar disinfection/SODIS) olarak tanımlanmıştır. Riboflavinin korneada az miktarda bulunması ve gün ışığında yapısının bozulması nedeniyle keratit olgularında etkisi görülmemektedir.¹³⁴ Bu nedenle riboflavinin KKÇB ile birlikte uygulanmasıyla etkinliğin daha fazla olacağı düşünülmüştür.

Riboflavin ve ultraviyole-A (UVA) (365 nm) ile fotokimyasal KKÇB tedavisinin kombine edilmesi ile sıvı veya dokuda dezenfektan etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir. Riboflavin+UVA'nın sterilize edici etkisi medikal olarak pek çok alanda kullanılmıştır.^{117,139,140} Riboflavin ve UVA kombinasyonunun korneal enfeksiyonlardaki etkisi ilk kez Iseli ve ark. tarafından 2008 yılında gösterilmiştir.¹⁰ Bu çalışmada, korneal

erimesi olan, bakteriyel ve fungal keratit tanısı konulan 5 olguda KKÇB tedavi uygulanmış, KKÇB ile keratitli olgularda korneal erimenin durdurulabileceği ve PK'ya gidişin engellendiği bildirilmiştir.¹⁰ Bu çalışmadan sonra KKÇB ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır.^{121,134,141,142}

Makdoui ve ark.'nın yayınladığı çalışmada; yaygın olarak keratit nedeni olan bakteri türlerinde (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*) riboflavin ile UVA'nın in vitro olarak antibakteriyel etkinlikleri değerlendirilmiştir.¹⁴¹ Çalışmada tüm bakteri türlerine riboflavin uygulandıktan sonra 5.4 J/cm² gücünde 30 dakika süresince UVA(365 nm) uygulanmış ve tedavi sonrası koloni sayısındaki değişiklikler kaydedildikten sonra toplam güç 10.8 J/cm² olacak şekilde ikinci defa 30 dakika daha UVA uygulanmıştır. Sonuç olarak çalışmaya dahil edilen tüm bakteri türlerinde 30 dakika sonrasında hafif bir bakteri azalması görülürken, UVA dozunun artırılmasıyla bakteri azalmasında belirgin derecede artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca UVA ve riboflavinin birlikte uygulanmasının, ayrı ayrı uygulanmalarına karşı daha etkili olduğunu vurgulamışlardır.¹⁴¹

Martins ve ark.'nın çalışmasında; bakteri ve fungal mikroorganizmalar üzerinde riboflavin, UVA ve riboflavin+UVA'nın etkinlikleri in vitro olarak değerlendirilmiş ve riboflavin+UVA uygulamasıyla bakterisidal etki görülürken, fungal mikroorganizmalarda riboflavin+UVA uygulamasının etkili olmadığını göstermişlerdir.¹³⁴ Aynı zamanda UVA ile riboflavinin birlikte uygulandığı gruplarda, ayrı ayrı uygulanmalarına göre tedavi sonrası mikroorganizma sayılarında daha fazla azalma olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda da UVA, riboflavin ve UVA+riboflavinin küf mantarı izolatları üzerindeki etkinlikleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, Martins ve ark.'nın çalışmasından farklı olarak küf mantarı izolatlarında UVA+riboflavin uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı derecede fungisidal etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca UVA, riboflavin ve UVA+riboflavinin etkinlikleri değerlendirilmiş olup, literatür ile benzer olarak UVA ve riboflavinin birlikte uygulandığı gruplarda tedavi sonrası üreyen mikroorganizma sayılarında daha fazla azalma görülmüştür.

Literatürde KKÇB tedavisinin fungal keratitlerde bakteriyel keratitlere göre çok etkili olmadığını gösteren çalışmalar mevcuttur.^{125,126,134,143} Buna karşı Bilgihan ve ark.'nın yaptığı in vitro bir çalışmada; mantar keratit etkenleri üzerinde iki farklı

konsantrasyonda (%0.1 ve %0.25) riboflavin ile yapılan korneal çapraz bağlama uygulamasının etkinliği değerlendirilmiştir.¹²¹ Her iki konsantrasyondaki riboflavin ile yapılan korneal çapraz bağlama uygulaması ile yeterli fungisidal etki görülmesine rağmen, %0.25 riboflavin ile yapılan korneal çapraz bağlama uygulamasının %0.1 riboflavin ile yapıldığına göre daha yüksek fungisidal etkisi olduğu gösterilmiştir.¹²¹ Bir diğer in vitro çalışmada ise, Kirby-Bauer diskleri kullanılarak *Candida albicans*, *Fusarium solani* ve *Aspergillus fumigatus* mantarlarında amfoterisin B, riboflavin+UVA ve bu iki tedavinin kombine edilmiş hali karşılaştırılmış olup kombine tedavide mikroorganizmalar üzerindeki büyüme inhibisyonunun diğer iki gruba göre daha fazla olduğu görülmüştür.¹⁴²

Bizim çalışmamızda ise; en sık küf mantarı nedenleri arasında görülen *A. terreus* CBS 135845, *A. flavus* CBS 143253, *A. fumigatus* CBS 143374 ve *F. falciforme* CBS 143254, *F. proliferatum* CBS 143256, *F. solani* CBS 143372 kökenleri üzerinde yalnız KKÇB (Grup A), yalnız vorikonazol (Grup E1), yalnız amfoterisin B (Grup E2), yalnız %0.02 klorheksidin (Grup E3), KKÇB+vorikonazol (Grup B), KKÇB+amfoterisin B (Grup C) ve KKÇB+%0.02 klorheksidin (Grup D) uygulamalarının etkinlikleri değerlendirildi. Mikroorganizmalar dört farklı konsantrasyonda (10^4 , 10^3 , 10^2 ve 10 CFU/ml) olacak şekilde hazırlanıp, tedavi öncesi ve sonrasında koloni sayıları hesaplanarak meydana gelen değişiklikler kaydedildi. Sonuçta çalışmaya dahil edilen altı küf mantarı izolatına karşı, grup B, grup C, grup D ve grup E3’de tedavi sonrası mikroorganizma üremesi görülmez iken, grup A, grup E1 ve grup E2’de tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede mikroorganizma sayılarında azalma görülmüştür. Bu durum KKÇB ve kullanılan antifungal ilaçların mantar keratit etkenleri üzerinde in vitro olarak tek başına yeterli fungisidal etkisi olduğunu gösterdi. Aynı zamanda KKÇB ile antifungal ilaçların birlikte kullanıldığı gruplarda tedavi sonrası mikroorganizma üremesi hiç görülmemesi nedeniyle daha yüksek fungisidal etki ortaya çıktığı düşünüldü.

Literatürde KKÇB tedavisinin fungal keratitlere karşı etkinliğini değerlendiren çok sayıda klinik çalışma ve olgu serileri de bulunmaktadır.^{124,143-146} Vajpayee ve ark.’nın retrospektif olarak 41 mantar keratitli olgunun dahil edildiği çalışmasında; yalnız antifungal tedaviyle antifungal tedavi ile birlikte KKÇB’nin etkinliği değerlendirilmiş, KKÇB tedavisinin mantar keratitli olgularda fayda sağlamadığını

bildirmişlerdir.¹⁴³ Yirmi beş çalışmanın sistematik incelendiği meta-analiz çalışmasında; bakteriyel, fungal, Acanthamoeba veya Herpes simpleks virüs kaynaklı keratiti olan toplam 175 göze KKÇB tedavisi uygulanmış ve KKÇB ile %87.2 oranında iyileşme görülmüştür.¹⁴⁴ Sadece fungal keratitli olgular incelendiğinde ise 32 olgunun 25'inde iyileşme görülmüştür.¹⁴⁴

Shetty ve ark. antimikrobiale tedaviye en az 2 hafta yanıt vermeyen 9 bakteriyel, 6 fungal keratit hastasına KKÇB tedavisi uygulamış ve bakteriyel keratitli hastaların 6'sında, fungal keratitli hastaların 3'ünde iyileşme olduğunu bildirmişlerdir.⁹ İyileşme olmayan olgular incelendiğinde derin stromal ülser veya endotelial plak olduğu görülmüştür.⁹ Bu konuda yapılmış başka prospektif klinik bir çalışmada ise; ileri evre bakteriyel, fungal, acanthamoeba ve miks etkenli keratiti olan kırk hasta dahil edilmiş ve KKÇB ile antimikrobiyal tedavinin etkileri karşılaştırılmış.¹²⁴ Sonuçta her iki tedavi grubunda ortalama iyileşme süreleri benzer saptanırken, KKÇB uygulanan grupta daha az komplikasyon görülmüştür.¹²⁴ Bu çalışmada KKÇB uygulanan grupta komplikasyon oranlarını azaltan en önemli etken erken dönemde enfeksiyonun topikal tedaviye cevap vermesini beklemeden KKÇB işleminin yapılması gösterilmiştir.¹²⁴

Uddaraju ve ark.'nın yayınladığı randomize klinik çalışmasında, KKÇB'nin inatçı, derin stromal mantar keratiti olgularında sonucu iyileştirmedeğini ve KKÇB sonrasında perforasyon riskinin daha yüksek olduğunu bildirmiştir.¹⁴⁵ Aynı zamanda KKÇB tedavisinin *Fusarium* keratitlerinde *Aspergillus* keratitlerine göre daha etkili olduğunu göstermiştir.¹⁴⁵ Bizim çalışmamızda ise KKÇB ile altı küf mantarı izolatında da yeterli fungisidal etki görülmesine rağmen, *F. solani* CBC143372 ve *F. Falciforme* CBC 143254'de diğer küf mantarı izolatlarına göre istatistiksel olarak daha az fungisidal etki görülmüştür.

Erdem ve ark.'nın çalışmasında ise; retrospektif olarak fungal keratitli 13 olguda topikal vorikonazol tedavisine ek olarak uygulanan KKÇB'nin etkinliğini değerlendirmiş ve %54 oranında başarı sağlanmıştır.¹⁴⁶ Aynı zamanda olguların ağrı skoru dereceleri de değerlendirilmiş ve KKÇB sonrasında ağrı skorlarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma görülmüştür.¹⁴⁶ Sonuçta KKÇB'nin küçük ve yüzeysel fungal keratitli olgularda etkili ve güvenli olduğunu, acil keratoplasti için zaman kazandırabileceği için yoğun tıbbi tedaviye yanıtız olgularda kullanılabileceğini bildirmişlerdir.¹⁴⁶ Benzer olarak Tabibian ve ark. ise *Aureobasidium pullulans*'ın neden

olduğu erken mantar keratitli olguda antifungal tedaviye gerek kalmadan sadece KKÇB ile üç günde klinik düzelme olduğunu göstermişlerdir.¹⁴⁷

Fungal keratite neden olan mikroorganizmaların korneanın daha derin katlarına penetre olabildiği ve KKÇB'nin etkili olduğu tedavi derinliğinin dışına çıkabildiği gösterilmiştir.¹⁴⁸ Literatürde enfeksiyöz keratitlerde KKÇB tedavisi öncesi ÖS-OKT ile infiltratın boyutu ve derinliğinin değerlendirilebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur.³⁸⁻⁴⁰ ÖS-OKT ile özellikle fungal keratitlerde KKÇB tedavisinin postoperatif sonuçlarının öngörülebileceği düşünölmüştür.¹⁴⁹ Bu nedenle fungal keratit tanısı kesinleşen olgulara KKÇB tedavisinin erken dönemde yapılması ile daha fazla etki sağlayacağı düşünölmektedir.

Sonuç olarak çalışmamız literatürde KKÇB uygulamasının fungal keratitlerde etkisiz olduğunu gösteren çalışmaların aksine, KKÇB ile yeterli fungisidal etki oluşturulabileceğini in vitro olarak göstermektedir. Ayrıca KKÇB ile antifungal ajanların birlikte kullanılmasıyla fungisidal etkinin daha da yüksek olduğunu göstermiştir. Aynı zamanda %0.02 klorheksidinin küf mantarı izolatları üzerinde yeterli fungisidal etkisi olduğu da gösterilmiştir. Çalışmamız rutinde antiseptik olarak kullanılan %0.02 klorheksidinin fungal keratit etkenlerinde etkili olduğunu gösteren ilk in vitro çalışma olması nedeniyle de önemlidir. Özetle fungal keratit tedavisinde karşılaşılan antifungal ilaçlara direnç ve ilaçların yüksek maliyeti, uygun antifungal ilaç kullanılmasına rağmen istenilen yanıtın alınamaması veya klinik kötüleşme görölebilmesi gibi zorluklar karşısında kullanılabilir yeni tedavi yöntemi olarak KKÇB ve %0.02 klorheksidinin kullanılabilirliğini göstermiştir. KKÇB ve %0.02 klorheksidin tedavilerinin fungal keratitler üzerindeki etkisini değerlendiren daha fazla prospektif randomize klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Tedavi grupları içerisinde %0.02 klorheksidinin tek başına uygulandığı ve KKÇB ile birlikte antifungal ilaçların uygulandığı gruplarda tedavi sonrası küf mantarlarında hiç üreme görülmedi.

2. Tek başına KKÇB ve çalışmamızda kullanılan antifungal ilaçların uygulanması ile yeterli fungisidal etki görülmesine rağmen, KKÇB ile antifungal ilaçların birlikte kullanılmasıyla fungisidal etkinin arttığı gösterildi.

3. %0.02 klorheksidinin tek başına veya KKÇB ile birlikte uygulandığında tedavi sonrası küf mantarlarında hiç üreme görülmedi.

4. Çalışmada kullanılan antifungal ilaçların etkinliği birbiriyle değerlendirildiğinde; %0.02 klorheksidin uygulaması sonucunda mikroorganizma üremesi hiç görülmez iken, vorikonazol ve amfoterisin B uygulamaları sonrasında mikroorganizma sayısında önemli derecede azalma olsa dahi mikroorganizma üremesi mevcut idi.

5. Bu çalışmanın %0.02 klorheksidinin küf mantarlarına karşı etkinliğini gösteren ilk in vitro çalışma olması nedeniyle önemli ve bu konuda yapılacak prospektif klinik çalışmalara yol gösterici olduğu düşünülmektedir.

6. Çalışmamız KKÇB ve antifungal ilaçların tek başına veya birlikte kullanılmasıyla mantar keratiti üzerinde yeterli fungisidal etki gösterebileceğini düşündürmektedir.

7. KKÇB ve %0.02 klorheksidinin mantar keratit olgularındaki etkinliğini değerlendiren daha fazla prospektif randomize klinik çalışmaya ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. **Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP.** Corneal blindness: a global perspective. *Bull World Health Organ* **2001**; 79: 214–221.
2. **Thomas PA.** Fungal infections of the cornea. *Eye* **2003**; 17:852-62.
3. **Dursun D, Fernandez V, Miller D, Alfonso EC.** Advanced Fusarium keratitis progressing to endophthalmitis. *Cornea* **2003**; 22(4) :300-303.
4. **Richoz O, Kling S, Hoogewoud F, Hammer A, Tabibian D, Francois P, et al.** Antibacterial efficacy of accelerated photoactivated chromophore for keratitis-corneal collagen cross-linking (PACK-CXL). *J Refract Surg.* **2014**;30(12):850-4.
5. **Alfonso E, Mandelbaum S, Fox MJ, Forster RK.** Ulcerative keratitis associated with contact lens wear. *Am J Ophthalmol.* **1986**;101(4):429-33.
6. **Bharathi MJ, Ramakrishnan R, Meenakshi R, Kumar CS, Padmavathy S, Mittal S.** Ulcerative keratitis associated with contact lens wear. *Indian J Ophthalmol.* **2007**;55(1):64-7.
7. **Koidou-Tsiligianni A, Alfonso E, Forster RK.** Ulcerative keratitis associated with contact lens wear. *Am J Ophthalmol.* **1989**;108(1):64-7. 71
8. **Chang DC, Grant GB, O'Donnell K, Wannemuehler KA, Noble-Wang J, Rao CY, et al.** Multistate outbreak of Fusarium keratitis associated with use of a contact lens solution. *JAMA.* **2006**;296(8):953-63.
9. **Shetty R, Nagaraja H, Jayadev C, Shivanna Y, Kugar T.** Collagen crosslinking in the management of advanced non-resolving microbial keratitis. *Br J Ophthalmol.* **2014** Aug;98(8):1033-5.
10. **Iseli HP, Thiel MA, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T.** Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea.* **2008**;27(5):590-4.
11. **Hafezi F, Randleman JB.** PACK-CXL: defining CXL for infectious keratitis. *J Refract Surg.* **2014**;30(7):438-9.
12. **Rapuan CJ, Luchs JI, Kim T.** Anterior segment. St. Louis, Mosby; **2000**

- 13. Green M, Apel A, Stapleton F.** Risk factors and causative organisms in microbial keratitis. *Cornea* **27:2008**: 22–27
- 14. Saeed A, D’Arcy F, Stack J, Collum LM, Power W, Beatty S.** Risk factors, microbiological findings, and clinical outcomes in cases of microbial keratitis admitted to a tertiary referral center in Ireland. *Cornea* **2009**; 28:285–292
- 15. Jeng BH, Gritz DC, Kumar AB, Holsclaw DS, Porco TC, Smith SD WJP, Margolis TP, Wong IG** Epidemiology of ulcerative keratitis in Northern California. *Arch Ophthalmol* **128:2010**: 1022–1028
- 16. Selinger DS, Selinger RC, Reed WP:** Resistance of infection of the external eye: the role of tears; *Surv Ophthalmol* **1980**;24: 33-38.
- 17. Arffa RC,** Grayson’s Diseases of the Cornea. 3rd Ed, St.Louis: Mosby, **1991**:39
- 18. Smolin G.** The role of tears in the prevention of infection, *Int Ophthalmol Clin* **1987**;27: 25-26.
- 19. Bourcier T, Thomas F, Borderie V et al:** Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases, *Br J Ophthalmol* **2003**;87: 834-838.
- 20. Kanski JJ:** Klinik Oftalmoloji-Sistematik yaklaşım, Nobel Kitabevi **2011**
- 21. Wilson SE, He YG, Weng J.** Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: Hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Exp Eye Res.* **1996**; 62: 325-327.
- 22. Aydın O’dwyer P, Aydın Akova Y,** Temel Göz Hastalıkları, 3. baskı, Ankara, **2015**
- 23. Helena MC, Baerveldt F, Kim WC.** Keratocyte apoptosis after corneal surgery. *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* **1998**; 39: 276-83.
- 24. Zieske JD; Guimaraes SR, Hutcheon AE.** Kinetics of keratocyte proliferation in response to epithelial debridement. *Exp Eye Res.* **2001**; 72: 33-9.
- 25. Masur SK, Dewal HS, Dinh TT, Erenburg I, Petridou S.,** Myofibroblasts differentiate from fibroblasts when plated at low density. *Proc Natl Acad Sci USA* **1996**; 30; (9): 4219-23
- 26. Jester JV, Petroll WM, Cavanagh HD.** Corneal stromal wound healing in refractive surgery: the role of myofibroblasts. *Prog Retin eyes Res.* **1999**; 93: 4219-23.
- 27. Rask R, Koch P, Ehlers JJ:** Epithelial healing in the second eye after corneal abrasion. *Acta Ophthalmol* ; **1996**, 74:232-234.

- 28. Leibowitz HM, Waring GOIII, eds.** Corneal Disorders: Clinical Diagnosis and Management. 2nd ed. Philadelphia:Saunders;1998:34-81
- 29. Faulkner WJ, Varley GA.** Corneal diagnostic techniques. In: Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ, eds. Cornea 2nd ed. Vol 1. Philadelphia: Elsevier/MOSBY; 2005:229-235
- 30. Goins KM.** New insights into the diagnosis and treatment of neurotrophic keratopathy. Ocul Surf.2005;3(2):96-110
- 31. Feenstra RP, Tseng SC.** Comparison of fluorescein and rose bengal staining. Ophthalmology 1992;99:605-17
- 32. Bron AJ, Evans VE, Smith JA.** Grading of corneal and conjunctival staining in the context of other dry eye tests. Cornea. 2003;22(7):640-650
- 33. Chodosh J, Dix RD, Howell RC, Stroop WG, Tseng SC.** Staining characteristics and antiviral activity of sulforhodamine B and lissamine green B. Invest Ophthalmol Vis Sci. 1994;35:1046-58
- 34. Lemp, M.A., Dilly, P.N., Boyde, A.** Tandem-scanning (confocal) microscopy of the full-thickness cornea. Cornea. 1985;4:205-209.
- 35. Niederer, R.L., McGhee, C.N.** Clinical in vivo confocal microscopy of the human cornea in health and disease. Prog Retin Eye Res. 2010;29:30-58.
- 36. Erie, J.C., McLaren, J.W., Patel, S.V.** Confocal microscopy in ophthalmology. Am J Ophthalmol. 2009;148:639-646.
- 37. Kojima T, Matsumoto Y, Ibrahim OMA, et al.** In vivo evaluation of superior limbic keratoconjunctivitis using laser scanning confocal microscopy and conjunctival impression cytology. Invest Ophthalmol Vis Sci 2010;51:3986-92
- 38. Soliman W, Fathalla AM, El-Sebaity DM, Al-Hussaini AK.** Spectral domain anterior segment optical coherence tomography in microbial keratitis. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2013 Feb;251(2):549-53.
- 39. Martone G, Pichierri P, Franceschini R et al.** In vivo confocal microscopy and anterior segment optical coherence tomography in a case of *Alternaria* keratitis. Cornea 2011; 30: 449-453.
- 40. Konstantopoulos A, Kuo J, Anderson D, Hossain P.** Assessment of the use of anterior segment optical coherence tomography in microbial keratitis. Am J Ophthalmol. 2008 Oct;146(4):534-542.

41. **Leber TH.** Keratomycosis aspergillina als ursache von hypopyonkeratitis. *Graefes Arch Ophthalmol* **1879**;25:285–301.
42. **Srinivasan M, Gonzales CA, George C, Cevallos V, Mascarenhas JM, Asokan B.** Epidemiology and aetiological diagnosis of corneal ulceration in Madurai, South India. *Br J Ophthalmol* **1997**; 81:965–971.
43. **Varaprasathan G, Miller K, Lietman T, Whitcher JP, Cevallos V, Okumoto M.** Trends in the etiology of infectious corneal ulcers at the F. I. Proctor Foundation. *Cornea* **2004**; 23 :360–364.
44. **Tanure MA, Cohen EJ, Sudesh S, Rapuano CJ, Laibson PR.** Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital Philadelphia, Pennsylvania. *Cornea* **2000**;19:307-12.
45. **Thomas PA, Kaliampurthy J.** Mycotic keratitis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Microbiol Infect* **2013**; 19: 210–220
46. **Thomas PA.** Current perspectives on ophthalmic mycoses. *Clin Microbiol Rev* **2003**; 16: 730-797.
47. **Srinivasan M.** Fungal keratitis. *Curr Opin Ophthalmol* **2004**;15:321-7.
48. **Gopinathan U, Garg P, Fernandes M, Sharma S, Athmanathan S, Rao GN.** The eidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: A 10-year review at a referral eye care center in South India. *Cornea* **2002**; 21:555-9.
49. **Verma S, Tuft SJ.** *Fusarium solani* keratitis following LASIK for myopia. *Br J Ophthamol* **2002**;86:1190-1.
50. **Tuli SS, Yoo SH.** *Curvularia* keratitis after laser in situ keratomileusis from a feline source. *J Cataract Refract Surg* **2003**;29:1019-21.
51. Microbial and parasitic infections of the cornea and sclera. In: American Academy of Ophthalmology. Basic and Clinical Science Course. External Disease and Cornea. Section 8. San Fransisco; 2003. p.173-5.
52. **Kaufman HE, Wood RM:** Mycotic keratitis, *Am J Ophthalmol* **1965**: 59:993-1000
53. **Yaycıoğlu RA, Turunç T, Savaş L, Yağmur M, Akova YA,** *Aspergillus* Keratitis in a Diabetic Case. *Turk J Ophthalmol.* **2005**;35:523-6.
54. **Asyalı Altınok A, Çakar Özdal P, Fırat E.** Fungal Keratitler (Epidemiyoloji, Etiyoloji, Tanı ve Tedavi). *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* **2006**;15(3):87-96.

- 55. Jones DB, Wilson L, Sexton R, Rebell G.** Early diagnosis of mycotic keratitis. *Trans Ophthalmol Soc U K.* **1970**;89:805-13.
- 56. Sharma S, Kunimoto DY, Gopinathan U, Athmanathan S, Garg P, Rao GN.** Evaluation of corneal scraping smear examination methods in the diagnosis of bacterial and fungal keratitis: a survey of eight years of laboratory experience. *Cornea.* **2002**;21(7):643-7.
- 57. Forster RK, Wirta MG, Solis M, Rebell G.** Methenamine-silver-stained corneal scrapings in keratomycosis. *Am J Ophthalmol.* **1976**;82(2):261-5.
- 58. Kanungo R, Srinivasan R, Rao RS.** Acridine orange staining in early diagnosis of mycotic keratitis. *Acta Ophthalmol (Copenh).* **1991**;69(6):750-3.
- 59. Wilson LA, Sexton RR.** Laboratory diagnosis in fungal keratitis. *Am J Ophthalmol.* **1968**;66(4):646-53.
- 60. Erdem E, Yagmur M, Boral H, Ilkit M,** *Aspergillus flavus* Keratitis: Experience of a Tertiary Eye Clinic in Turkey, *Mycopathologia.* **2017**,182:379-385
- 61. Tanure MA, Cohen EJ, Sudesh S, Rapuano CJ, Laibson PR.** Spectrum of fungal keratitis at Wills Eye Hospital Philadelphia, Pennsylvania. *Cornea* **2000**;19: 307-12.
- 62. Avunduk AM, Beuerman RW, Varnell ED, Kaufman HE.** Confocal microscopy of *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Br J Ophthalmol* **2003**; 87: 409-10.
- 63. Florakis GJ, Moazami G, Schubert H, Koester CJ, Auran JD.** Scanning slit confocal microscopy of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol.* **1997**;115(11):1461-3.
- 64. Krachmer JH, Mannis MJ, Holland EJ.** *Cornea.* St Louis Missouri: Mosby, **1997**
- 65. Yanoff M, Duker JS, Augsburger JJ.** *Ophthalmology.* Premium ed. Edinburgh: Mosby Elsevier; **2009.** xxi, 1528 p. p.
- 66. Matsumoto Y, Dogru M, Goto E, Fujishima H, Tsubota K.** Successful topical application of a new antifungal agent, micafungin, in the treatment of refractory fungal corneal ulcers: Report of three cases and literature review. *Cornea* **2005**; 24:748-53.
- 67. Prajna NV, Krishnan T, Mascarenhas J, Rajaraman R, Prajna L, Srinivasan M, et al.** The mycotic ulcer treatment trial: a randomized trial comparing natamycin vs voriconazole. *JAMA Ophthalmol.* **2013**;131(4):422-9.
- 68. O'Day DM, Head WS, Robinson RD, Clanton JA.** Corneal penetration of topical amphotericin B and natamycin. *Curr Eye Res.* **1986**;5(11):877-82.

- 69. Prajna NV, Mascarenhas J, Krishnan T, Reddy PR, Prajna L, Srinivasan M, et al.** Comparison of natamycin and voriconazole for the treatment of fungal keratitis. *Arch Ophthalmol.* **2010**;128(6):672-8.
- 70. Leonard B. Jhonson, Carol A. Kauffman,** Voriconazole:a new triazole antifungal agent, *Clinical Infectious Diseases*, **2003**;36:630-7
- 71. Namrata Sharma, Prakashchand Agarwal, Rajesh Sinha, Jeewan S Titiyal, Thirumurthy Velpandian, Rasik B Vajpayee,** Evaluation of intrastromal voriconazole injection in recalcitrant deep fungal keratitis:case series, *Br J Ophthalmol*,**2011**;95:1735-1737
- 72. Hariprasad SM, Mieler WF, Lin TK, Sponsel WE, Graybill JR.** Voriconazole in the treatment of fungal eye infections: a review of current literature. *Br J Ophthalmol.* **2008**;92(7):871-8.
- 73. Tu EY, McCartney DL, Beatty RF, Springer KL, Levy J, Edward D.** Successful treatment of resistant ocular fusariosis with posaconazole (SCH-56592). *Am J Ophthalmol.* **2007**;143(2):222-7.
- 74. Tu EY, Park AJ.** Recalcitrant *Beauveria bassiana* keratitis: confocal microscopy findings and treatment with posaconazole (Noxafil). *Cornea.* **2007**;26(8):1008-10.
- 75. Altun A, Kurna SA, Sengor T, Altun G, Olcaysu OO, Aki SF, Simsek MH.** Effectiveness of posaconazole in recalcitrant fungal keratitis resistant to conventional antifungal drugs. *Case Rep Ophthalmol Med.* **2014**;2014:701653.
- 76. Sponsel WE, Graybill JR, Nevarez HL, Dang D.** Ocular and systemic posaconazole(SCH-56592) treatment of invasive *Fusarium solani* keratitis and endophthalmitis. *Br J Ophthalmol* **2007**;143:222-7
- 77. Muallem MS, Alfonso EC, Romano AC, Miller D, Kurstin J, Marangon FB, et al.** Bilateral *Candida parapsilosis* interface keratitis after laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg.* **2003**;29(10):2022-5.
- 78. Kremer I, Goldenfeld M, Shmueli D.** Fungal keratitis associated with contact lens wear after penetrating keratoplasty. *Ann Ophthalmol.* **1991**;23(9):342-5.
- 79. Ishibashi Y, Matsumoto Y, Takei K.** The effects of intravenous miconazole on fungal keratitis. *Am J Ophthalmol.* **1984**;98(4):433-7.
- 80. Hemady RK, Chu W, Foster CS.** Intraocular penetration of ketoconazole in rabbits. *Cornea.* **1992**;11(4):329-33.
- 81. Ishibashi Y.** Oral ketoconazole therapy for keratomycosis. *Am J Ophthalmol.* **1983**;95(3):342-5.

- 82. Singh SM, Sharma S, Chatterjee PK.** Clinical and experimental mycotic keratitis caused by *Aspergillus terreus* and the effect of subconjunctival oxiconazole treatment in the animal model. *Mycopathologia*. **1990**;112(3):127-37.
- 83. Torres MA, Mohamed J, Cavazos-Adame H, Martinez LA.** Topical ketoconazole for fungal keratitis. *Am J Ophthalmol*. **1985**;100(2):293-8
- 84. O'Day DM.** Orally administered antifungal therapy for experimental keratomycosis. *Trans Am Ophthalmol Soc*. **1990**;88:685-725.
- 85. Lee SJ, Lee JJ, Kim SD.** Topical and oral voriconazole in the treatment of fungal keratitis. *Korean J Ophthalmol*. **2009** Mar;23(1):46-8.
- 86. Sharma N, Singhal D, Maharana PK, Sinha R, Agarwal T, Upadhyay AD, Velpandian T, Satpathy G, Titiyal JS.** Comparison of Oral Voriconazole Versus Oral Ketoconazole as an Adjunct to Topical Natamycin in Severe Fungal Keratitis: A Randomized Controlled Trial. *Cornea*. **2017** Dec;36(12):1521-1527.
- 87. Carrasco MA, Genesoni G.** Treatment of severe fungal keratitis with subconjunctival amphotericin B. *Cornea*. **2011** May;30(5):608-11.
- 88. Kaushik S, Ram J, Brar GS, Jain AK, Chakraborti A, Gupta A.** Intracameral amphotericin B: initial experience in severe keratomycosis. *Cornea*. **2001**;20(7):715-9.
- 89. Kuriakose T, Kothari M, Paul P, Jacob P, Thomas R.** Intracameral amphotericin B injection in the management of deep keratomycosis. *Cornea*. **2002**;21(7):653-6
- 90. . Shen YC, Wang CY, Tsai HY, et al.** Intracameral voriconazole injection in the treatment of fungal endophthalmitis resulting from keratitis. *Am J Ophthalmol*. **2010**;149:916–921.
- 91. Prakash G, Sharma N, Goel M, Titiyal JS, Vajpayee RB.** Evaluation of intrastromal injection of voriconazole as a therapeutic adjunctive for the management of deep recalcitrant fungal keratitis. *Am J Ophthalmol*. **2008**;146(1):56-9
- 92. Stern GA, Buttross M.** Use of corticosteroids in combination with antimicrobial drugs in the treatment of infectious corneal disease. *Ophthalmology* **1991**;98:847-53.
- 93. Schreiber W, Olbrisch A, Vorwerk CK, Konig W, Behrens-Baumann W.** Combined topical fluconazole and corticosteroid treatment for experimental candida albicans keratomycosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **2003**; 44:2634-43.

- 94. Prajna NV, Krishnan T, Rajaraman R, Patel S, Shah R, Srinivasan M, Das M, Ray KJ, Oldenburg CE, McLeod SD, Zegans ME, Acharya NR, Lietman TM, Rose-Nussbaumer J;** Mycotic Ulcer Treatment Trial Group. Predictors of Corneal Perforation or Need for Therapeutic Keratoplasty in Severe Fungal Keratitis: A Secondary Analysis of the Mycotic Ulcer Treatment Trial II. *JAMA Ophthalmol.* **2017** Sep 1;135(9):987-991
- 95. Garg P, Gopinathan U, Nutheti R, Rao GN.** Clinical experience with N-butyl cyanoacrylate tissue adhesive in fungal keratitis. *Cornea.* **2003**;22(5):405-8
- 96. Polack FM, Kaufman HE, Newmark E.** Keratomycosis. Medical and surgical treatment. *Arch Ophthalmol.* **1971**;85(4):410-6.
- 97. Forster RK, Rebell G.** The diagnosis and management of keratomycoses. I. Cause and diagnosis. *Arch Ophthalmol.* **1975**;93(10):975-8
- 98. Jones DB, Sexton R, Rebell G.** Mycotic keratitis in South Florida: a review of thirty-nine cases. *Trans Ophthalmol Soc UK.* **1970**;89:781-97
- 99. Ou JI, Acharya NR.** Epidemiology and treatment of fungal corneal ulcers. *Int Ophthalmol Clin.* **2007** Summer;47(3):7-16.
- 100. Lee SH, Tseng SC.** Amniotic membrane transplantation for persistent epithelial defects with ulceration. *Am J Ophthalmol.* **1997**;123:303-312
- 101. Chen HC, Tan HY, Hsiao CH, et al.** Amniotic membrane transplantation for persistent corneal ulcers and perforations in acute fungal keratitis. *Cornea.* **2006**;25:564-572.
- 102. Chen HC, Wu CY, Hu FR, et al.** Therapeutic penetrating keratoplasty for microbial keratitis in Taiwan from 1987 to 2001. *Am J Ophthalmol.* **2004**;137:736-743
- 103. Xie L, Zhai H, Shi W.** Penetrating keratoplasty for corneal perforations in fungal keratitis. *Cornea.* **2007**;26:158-162
- 104. Xie L, Dong X, Shi W.** Treatment of fungal keratitis by penetrating keratoplasty. *Br J Ophthalmol.* **2001**;85(9):1070-4
- 105. Sony P, Sharma N, Vajpayee RB, Ray M.** Therapeutic keratoplasty for infectious keratitis: a review of the literature. *CLAO J.* **2002**;28(3):111-8.
- 106. Foster CS.** Fungal keratitis. *Infect Dis Clin North Am.* **1992**;6(4):851-7.
- 107. Ishibashi Y, Hommura S, Matsumoto Y.** Direct examination vs culture of biopsy specimens for the diagnosis of keratomycosis. *Am J Ophthalmol.* **1987**;103(5):636-40.

- 108. Forster RK:** The role of excisional keratoplasty in microbial keratitis. In: Cavanagh HD (ed). *The Cornea: Transactions of the World Congress on the Cornea III*. New York: Raven Press, **1988**: 529-531.
- 109. Avunduk AM, Beuerman RW, Warnel ED, Kaufman HE, Greer D.** Comparison of efficacy of topical and oral fluconazole treatment in experimental *Aspergillus* keratitis. *Curr Eye Res.* **2003**;26(2):113-7
- 110. Bell NP, Karp CL, Alfonso EC, Schiffman J, Miller D.** Effects of methylprednisolone and cyclosporine A on fungal growth in vitro. *Cornea.* **1999**;18(3):306-13.
- 111. Perry HD, Doshi SJ, Donnenfeld ED, Bai GS.** Topical cyclosporin A in the management of therapeutic keratoplasty for mycotic keratitis. *Cornea.* **2002**;21(2):161-3
- 112. Sporn E, Huhle M, Kasper M, Seiler T.** [Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking]. *Ophthalmologe.* **1997**;94(12):902-6.
- 113. Sporn E, Huhle M, Seiler T.** Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res.* **1998**;66(1):97-103.
- 114. Tabibian D, Mazzotta C, Hafezi F.** PACK-CXL: Corneal cross-linking in infectious keratitis. *Eye Vis (Lond).* **2016** Apr 19;3:11.
- 115. Wollensak G, Sporn E, Seiler T.** Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol.* **2003**;135(5):620-7.
- 116. O'Brart DP.** Corneal collagen cross-linking: a review. *J Optom.* **2014**;7(3):113- 24.
- 117. Reddy HL, Dayan AD, Cavagnaro J, Gad S, Li J, Goodrich RP.** Toxicity testing of a novel riboflavin-based technology for pathogen reduction and white blood cell inactivation. *Transfus Med Rev.* **2008**;22(2):133-53.
- 118. Jiang LZ, Qiu SY, Li ZW, Zhang X, Tao XC, Mu GY.** Therapeutic and inducing effect of corneal crosslinking on infectious keratitis. *Int J Ophthalmol.* **2016** Dec 18;9(12):1820-1823.
- 119. Bamdad S, Malekhosseini H, Khosravi A.** Ultraviolet A/riboflavin collagen cross-linking for treatment of moderate bacterial corneal ulcers. *Cornea* **2015**;34(4):402-406.
- 120. Makdoui K, Mortensen J, Sorkhabi O, Malmvll BE, Crafoord S.** UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* **2012**;250(1):95-102

- 121. Bilgihan K, Kalkançi A, Ozdemir HB, Yazar R, Karakurt F, Yuksel E, et al.** Evaluation of Antifungal Efficacy of 0.1% and 0.25% Riboflavin with UVA: A Comparative In Vitro Study. *Curr Eye Res.* **2015**:1-7.
- 122. Galperin G, Berra M, Tau J, Boscaro G, Zarate J, Berra A.** Treatment of fungal keratitis from *Fusarium* infection by corneal cross-linking. *Cornea.* **2012**;31(2):176-80.
- 123. Kasetsuwan N, Reinprayoon U, Satitpitakul V.** Photoactivated Chromophore for Moderate to Severe Infectious Keratitis as an Adjunct Therapy: A Randomized Controlled Trial. *Am J Ophthalmol* **2016**;165:94-99.
- 124. Said DG, Elalfy MS, Gatziofias Z, El-Zakzouk ES, Hassan MA, Saif MY, et. al.** Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology.* **2014**;121(7):1377-82.
- 125. Alio JL, Abbouda A, Valle DD, Del Castillo JM, Fernandez JA.** Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* **2013**;3(1):47.
- 126. Price MO, Tenkman LR, Schrier A, Fairchild KM, Trokel SL, Price FW, Jr.** Photoactivated riboflavin treatment of infectious keratitis using collagen cross-linking technology. *J Refract Surg.* **2012**;28(10):706-13.
- 127. Erdem Ü, Bagkesen H, Durukan AH, Hürmeriç V, Bayraktar MZ.** Total korneal erime ile seyreden mantar keratitli bir olgunun klinik izlemi. *Gülhane Tıp Dergisi* **2005**;47:135-8.
- 128. Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB, Varga J, Kocsubé S, Szigeti G, Yaguchi T, Frisvad JC.** Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol.* **2014** Jun;78:141-73.
- 129. Homa M, Shobana CS, Singh YR, Manikandan P, Selvam KP, Kredics L, Narendran V, Vágvölgyi C, Galgóczy L.** *Fusarium* keratitis in South India: causative agents, their antifungal susceptibilities and a rapid identification method for the *Fusarium solani* species complex. *Mycoses.* **2013** Sep;56(5):501-11.
- 130. Kadam SP.** Application of betadine (povidone-iodine) to infected corneal ulcers. *Indian J Ophthalmol* **1987**;35:135-6.
- 131. Fiscella RG, Moshifar M, Messick CR, Pendland SL, Chandler JW, Viana M.** Polyhexamethylene biguanide (PHMB) in the treatment of experimental *Fusarium* keratomycosis. *Cornea* **1997**;16:447-9.
- 132. Rahman MR, Minassian DC, Srinivasan M, Martin MJ, Johnson GJ.** Trial of chlorhexidine gluconate for fungal corneal ulcers. *Ophthalmic Epidemiol* **1997**;4:141-9.

- 133. Mohan M, Gupta SK, Kalra VK, Vajpayee RB, Sachdev MS. Topical silver sulphadiazine: A new drug for ocular keratomycosis. Br J Ophthalmol 1988;72:192-5.**
- 134. Martins SA, Combs JC, Noguera G, Camacho W, Wittmann P, Walther R, Cano M, Dick J, Behrens A. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2008 Aug;49(8):3402-8.**
- 135. Goodrich RP. The use of riboflavin for the inactivation of pathogens in blood products. Vox Sang. 2000;78 Suppl 2:211-215.**
- 136. Corbin F 3rd. Pathogen inactivation of blood components:current status and introduction of an approach using riboflavin as a photosensitizer.Int J Hematol. 2002;76 Suupl 2:253-257**
- 137. Goodrich RP, Edrich RA, Li J, Seghatchian J. The Mirasol PRT system for pathogen reduction of platelets and plasma:an overview of current status and future trends. Transfus Apher Sci. 2006;35(1):5-17**
- 138. Grellier P, Benach J, Labaied M, et al. Photochemical inactivation with amotosalen and long-wavelegnth ultraviolet light of Plasmodium and Babesia in platelet and plasma components. Transfusion. 2008;48(8):1676-1684**
- 139. Ruane PH, Edrich R, Gampp D, Keil SD, Leonard RL, Goodrich RP. Photochemical inactivation of selected viruses and bacteria in platelet concentrates using riboflavin and light. Transfusion. 2004;44(6):877-85.**
- 140. Marschner S, Goodrich R. Pathogen Reduction Technology Treatment of Platelets, Plasma and Whole Blood Using Riboflavin and UV Light. Transfus Med Hemother. 2011;38(1):8-18.**
- 141. Makdoui K, Bäckman A, Mortensen J, Crafoord S. Evaluation of antibacterial efficacy of photo-activated riboflavin using ultraviolet light (UVA). Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2010 Feb;248(2):207-12.**
- 142. Sauer A, Letscher-Bru V, Speeg-Schatz C, Touboul D, Colin J, Candolfi E, et al. In vitro efficacy of antifungal treatment using riboflavin/UV-A (365 nm) combination and amphotericin B. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010;51(8):3950-3.**
- 143. Vajpayee RB, Shafi SN, Maharana PK, et al. Evaluation of corneal collagen cross-linking as an additional therapy in mycotic keratitis. Clin Experiment Ophthalmol 2015; 43:103–107**
- 144. Papaioannou L, Miligkos M, Papathanassiou M. Corneal collagen crosslinking for infectious keratitis: a systematic review and meta-analysis. Cornea 2016; 35:62–71.**

- 145. Uddaraju M, Mascarenhas J, Ranjan MD, Radhakrishnan N, Keenan JD, Prajna L.** Corneal cross-linking as an adjuvant therapy in the management of recalcitrant deep stromal fungal keratitis: a randomized trial. *Am J Ophthalmol.* **2015**;160:131–4.
- 146. Erdem E, Harbiyeli II, Boral H, Ilkit M, Yagmur M, Ersoz R.** Corneal Collagen Cross-Linking for the Management of Mycotic Keratitis. *Mycopathologia.* **2018** Feb 16.
- 147. Tabibian D, Richo O, Riat A, Schrenzel J, Hafezi F.** Accelerated photoactivated chromophore for keratitis-corneal collagen crosslinking as a first-line and sole treatment in early fungal keratitis. *J Refract Surg* 2014;30(12):855–857.
- 148. Chan TC, Agarwal T, Vajpayee RB, Jhanji V.** Cross-linking for microbial keratitis. *Curr Opin Ophthalmol.* **2016** Jul;27(4):348-52.
- 149. Abbouda A, Estrada AV, Rodriguez AE, Alió JL.** Anterior segment optical coherence tomography in evaluation of severe fungal keratitis infections treated by corneal crosslinking. *Eur J Ophthalmol.* **2014** May-Jun;24(3):320-4.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zeynep KUNT
Doğum Tarih ve Yeri : 02.01.1989 Adana
Medeni Durumu : Evli
Adres : Akkuyu mahallesi Profesörler sitesi No:57
Sarıçam/ADANA
Telefon : 0541 428 28 99
E.posta : zynp.kunt@gmail.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Varsa Mezuniyet Derecesi : 7
Görev Yerleri : Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz
Hastalıkları Anabilim Dalı
Dernek Üyelikleri : Türk Oftalmoloji Derneği
Yabancı Diller : İngilizce