

**T.C**  
**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ADENOVİRAL KERATOKONJONKTİVİN KONJONKTİVAL  
GOBLET HÜCRE SAYI VE MORFOLOJİSİNE UZUN  
DÖNEMDE ETKİSİ**

**DR.MEHMET MASUM TAŞ**

**GÖZ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ**

**KOCAELİ,2016**

**T.C**  
**KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ADENOVİRAL KERATOKONJONKTİVİTİN KONJONKTİVA  
GOBLET HÜCRE SAYI VE MORFOLOJİSİNE UZUN  
DÖNEMDE ETKİSİ**

**DR.MEHMET MASUM TAŞ**

**GÖZ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN:**

**PROF.DR.V.LEVENT KARABAŞ**

**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI BAŞKANI**

**PROF.DR.NURŞEN YÜKSEL**

**Etik Kurul Onayı 22.06.2016 karar tarihli KOÜ/GOKAEK 2016/164**

**KOCAELİ,2016**

## TEŞEKKÜR

Asistanlık hayatım boyunca bana her türlü desteği sunan, eğitim hayatıma ve tez çalışmama bilgisi ve tecrübeleriyle yön veren sevgili danışman hocam Prof. Dr. Veysel Levent KARABAŞ'a, kliniğimizin kurucusu, klinikteki tüm hekimlerin kendisini bir aile içindeymiő gibi hissetmesine vesile olan değerli hocam Prof. Dr. Yusuf AğLAR'a, bu ailenin birlik ve beraberliğinin devamında büyük pay sahibi olan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Prof. Dr. Nurşen YÜKSEL'e, çalışma disiplinini ve titizliğini daima örnek aldığım, aynı ortamda olmadığımız zaman bile desteğini arkamda hissettiğim Prof. Dr. Özgül ALTINTAŐ'a, pozitif bakıő açısı ve sabıryla her daim bilgi ve becerisini paylaşan Doç. Dr. Berna ÖZKAN'a, asistanlığım süresince tecrübelerini paylaşan ve desteğini esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Dilara PİRHAN'a,

Tezimde büyük katkısı olan ve yardımlarını esirgemeyen Patoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Kürőat YILDIZ'a,

Sundukları sonsuz sevgi, anlayıő ve destekle hayatımın her anında yanımda olan aileme,

Ve bu süreçte ailemden daha çok vakit geçirdiğim bütün çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

<b>TABLO DİZİNİ.....</b>	<b>iii</b>
<b>ŞEKİL DİZİNİ.....</b>	<b>iv</b>
<b>GRAFİK DİZİNİ.....</b>	<b>v</b>
<b>KISALTMALAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER... ..</b>	<b>2</b>
2.1 Adenovirüslerin Genel Özellikleri... ..	2
2.1.1 Adenovirusların Yapısı ve Sınıflandırılması .....	2
2.1.2 Adenovirusların Hücre İçine Girişi ve Replikasyonu... ..	4
2.1.3 Adenovirüslerin neden olduğu enfeksiyonlar,Patogenez vet Klinik... ..	6
2.1.4 Adenovirusların Neden Olduğu Göz Enfeksiyonları .....	8
2.1.5 Bulaşma.....	9
2.1.6 Klinik Tablo... ..	10
2.2 Adenovirüslerin tanısı .....	13
2.2.1 İzolasyon yöntemleri.....	13
2.2.2 Doğrudan saptama.....	14
2.2.2.1 Mikroskopi .....	14
2.2.2.2 Antijen saptama.....	15
2.2.2.3 Nükleik Asit Saptama .....	15
2.3 Adenovirüslerin tiplendirilmesi.....	16
2.3.1 Nötralizasyon testi.....	16
2.3.2 Hemaglutinasyon ve Hemaglutinasyon İnhibisyon Testi.....	16
2.3.3 Restriksiyon Enzim Analizi .....	16
2.3.4 Nükleotid Dizi Analizi .....	16
2.4 Tedavi .....	17
2.5 Enfeksiyon Kontrolü .....	18
2.6 Bildirim .....	20
2.7 Okuler yüzey .....	21
2.8 Kuru Göz.....	30

2.9 Kuru Göz ve Oküler Yüzey Hastalıkları Tanısında	
Kullanılan Yöntemler.....	33
2.10 Kuru göz ve Oküler Yüzey İnflamasyonu.....	39
2.11 İmpresyon Sitolojisi.....	40
<b>3.MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>45</b>
3.1. İstatistiksel Yöntemler.....	48
<b>4.BULGULAR.....</b>	<b>49</b>
4.1 Gözyaşı Kırılma Zamanı Sonuçları.....	49
4.2 Schirmer Testi Değerleri .....	50
4.3 Adenovirüs serotiplendirme sonuçları.....	51
4.4 İmpresyon sitolojisi değerlendirme Sonuçları .....	53
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>60</b>
<b>6.SONUÇ.....</b>	<b>69</b>
<b>7.ÖZET-ANAHTAR SÖZCÜKLER.....</b>	<b>70</b>
<b>8.ABSTRACT-KEYWORDS .....</b>	<b>72</b>
<b>9.KAYNAKLAR .....</b>	<b>74</b>

## **TABLO DİZİNİ**

<b>TABLO 1:</b> Adenovirusların Doku Tropizmi.....	7
<b>TABLO 2:</b> Avrupa’da oftalmolojiyle ilişkili adenovirüs tipleri... ..	9
<b>TABLO 3:</b> Gözyaşının Özellikleri... ..	30
<b>TABLO 4:</b> Kuru göz sınıflandırması.....	32
<b>TABLO 5:</b> PCR ‘larda kullanılan primer isimleri, dizileri ve büyüklükleri .....	47
<b>TABLO 6:</b> Hastaların demografik özellikleri.....	49
<b>TABLO 7 :</b> GKZ sonuçları.....	49
<b>TABLO 8 :</b> Schirmer testi sonuçları.....	51
<b>TABLO 9 :</b> İmpresyon sitolojisi skoru değerleri... ..	53
<b>TABLO 10 :</b> Goblet hücre sayısı sonuçları... ..	54

## **SEKİL DİZİNİ**

<b>ŞEKİL 1:</b> Adenovirusun Yapısı .....	2
<b>ŞEKİL 2:</b> Adenovirusun Farklı Antijenik Yapıdaki Kapsomerleri .....	3
<b>ŞEKİL 3:</b> Adenovirusun Kapsid ve Kor Proteinleri .....	4
<b>ŞEKİL 4:</b> Adenovirusun Hücre İçine Alınması ve Replikasyon Döngüsü.....	5
<b>ŞEKİL 5:</b> Adenovirus Enfeksiyonlarının Patogenezi .....	6
<b>ŞEKİL 6:</b> Epidemik keratokonjonktivit-1... ..	12
<b>ŞEKİL 7:</b> Epidemik keratokonjonktivit-2... ..	12
<b>ŞEKİL 8:</b> Epidemik keratokonjonktivit-3... ..	12
<b>ŞEKİL 9:</b> Adenovirusun elektron mikroskop görüntüsü .....	14
<b>ŞEKİL 10:</b> İmpresyon Sitolojisi Alım Tekniği, Alınan Örneğin Saklanması .....	44
<b>ŞEKİL 11:</b> Adenovirüs PCR sonucu .....	52
<b>ŞEKİL 12:</b> Adenovirüs tiplendirme sonuçları .....	52
<b>ŞEKİL 13:</b> İmpresyon Sitolojisi.Nelson evre 0 .....	56
<b>ŞEKİL 14:</b> İmpresyon Sitolojisi.Nelson evre 1 .....	57
<b>ŞEKİL 15</b> İmpresyon Sitolojisi.Nelson evre 2... ..	58
<b>ŞEKİL 16</b> İmpresyon Sitolojisi.Nelson evre 3... ..	59

## **GRAFİK DİZİNİ**

**GRAFİK 1:** Hasta ve kontrol gruplarının GKZ sonuçlarının grafiksel dağılımı .....50

**GRAFİK 2:** Hasta ve kontrol gruplarının schirmer test sonuçlarının grafiksel dağılımı.51

**GRAFİK 3:** Hasta ve kontrol gruplarının Nelson skorlarının grafiksel dağılımı.....54

**GRAFİK 4:** Hasta ve kontrol gruplarının goblet hücre sayısının grafiksel dağılımı.....55





## **KISALTMALAR**

**Ad:** Adenovirus

**CAR:** Cocksackie-Adenovirus Reseptörü

**CPE:** Sitopatik Etki

**DBP:**DNA Bağlayan Protein

**DFA:**Direkt Floresan Antikor

**EIA:** Enzim Immunoassay

**EKK:** Epidemik Keratokonjonktivit

**FK:** Foliküler Konjonktivit

**FKA:**Faringokonjonktival Ateş

**HVR:** “Hypervariable Region”

**IEM:** Immun Elektron Mikroskopisi

**IF:** Immun Floresan

**ITR:** “Inverted Terminal Repeat”

**MLP:** “Major Late Promoter”

**NPC:** Nükleer Por Kompleks

**pTP:** Prekürsor Terminal Protein

**PCR:** Polimeraz Zincir Tepkimesi

**RE:** Restriksiyon Endonükleaz

**REA:** Restriksiyon Enzim Analizi

**RFLP:** “Resriction Fragment Length Polimorphism”

**DEQ:**Dry Eye Questionairre

**DEWS:**Dry Eye Workshop

**DH:**Dendritik Hücre

**EGF:**Epidermal Büyüme Faktörü

**GKZ:**Gözyaşı Kırılma Zamanı

**HGF:**Hepatosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

**HRT 2 RCM :**Hiedilberg Retinal Tomograph 2 Rodenstock Confocal Microscopy

**KM:**Konfokal Mikroskopi

**MGD:**Meibomian Gland Disfonksiyonu

**Mm:**Milimetre

**µm:**Mikrometre

**ml:**Mililitre

**OSDI:**Ocular Surface Disease İndex

**PAS:**Periyodik Asit Shiff

**Sn:**Saniye

**SPSS:**Statistical Packages for the Social Sciences

**TNF:**Tümör Nekroz Faktör

**WHS:**Womens' Health Study

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Adenovirüsler tüm dünyada viral göz enfeksiyonlarında en sık rastlanan etkenlerdir (1). Bu enfeksiyonlar epidemik keratokonjonktivit (EKK), foliküler konjonktivit (FK) ve faringokonjonktival ateş (FKA) şeklinde görülebilir ve hastaların uzun süre iş ya da okuldan uzak kalmasına, morbiditeye ve özellikle EKK tablosunda görmeyi etkileyen korneal infiltratlara neden olabilir (1).

Adenoviral keratokonjonktivitler sporadik vakalar şeklinde görülebilmekle birliktetoplumda, hastaneler ve okullar gibi toplu yaşanan yerlerde EKK tablosu ile ciddi salgınlara neden olabilirler. Sporadik vakalara, ülkeler, bölgeler ve yıllara göre farklı veriler olmakla birlikte, birçok adenovirüs genotipinin neden olabildiği ancak ciddi salgınlarla giden EKK tablosuna, sıklıkla genotip 8'in neden olduğu bildirilmiştir (2, 3). Adenoviral keratokonjonktivitler konusunda birçok ülkeden çok sayıda yayın olmakla birlikte bizim ülkemiz ile ilgili veriler sınırlıdır.

Çok bulaşıcı olan adenoviral göz enfeksiyonları hastalar ve hatta sağlık personeli arasında hızla yayılarak, polikliniğin ya da yataklı servisin kapatılmasına kadar gidebilecek problemlere neden olabilirler.

Adenovirüs enfeksiyonlarının hızlı bir şekilde tanınması, oluşabilecek salgınlara hazırlıklı olunması ve gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınarak yayılımın engellenmesi, hem toplum sağlığı hem de hastane enfeksiyonları açısından büyük önem taşımaktadır. Bu konuda yapılacak epidemiyolojik çalışmalar, toplumda dolaşan adenovirüs genotiplerinin belirlenmesi ve salgınlara mevsimsel özelliklerinin saptanması konusunda veri sağlayarak salgınlara ilişkin önlemlerin alınmasına yardımcı olmaktadır. Türkiye'den bu konuyla ilgili olarak sınırlı sayıda vaka ile yapılmış, birkaç çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar bölgemizde ya da ülkemizde dolaşan adenovirüs genotipleri veya adenoviral keratokonjonktivit salgınları konusunda yeterli veri oluşturmamaktadır.

Adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda en sık görülen komplikasyonlardan biri göz yaşı kuruluğudur. Kuru göz toplumda görülme sıklığı ve hastaların yaşam kalitesini etkilemesi açısından her geçen gün giderek artan bir öneme sahip olmaktadır (4). Kornea ve konjonktival yüzeyin kronik kuruluğu olarak da tanımlanan bu durum, gözyaşı film tabakasının gözyaşı üretim eksikliği nedeniyle ya da aşırı buharlaşmasıyla düzensizleşmesi, interpalpebral aralıktaki oküler yüzey hasarı ve iritatif semptomlarla karakterizedir (5). Kuru

gözlü hastalarda irritasyondan şiddetli ağrıya kadar geniş yelpazeli bir oküler rahatsızlık durumu söz konusudur. Yanma, batma, kızarıklık, kaşınma, fotofobi ve görmede bulanıklık semptomlarıyla yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyebildiği gibi, korneal beslenmenin bozulması nedeniyle mikroorganizmaların invazyonuna da olanak sağlamaktadır (6).

Kuru göz sendromunun patofizyolojisi günümüzde bile tam olarak anlaşılammakla birlikte elimizdeki mevcut bilgiler bu sendromun lakrimal bez ve oküler yüzeyi etkileyen immün aracılı inflamasyonun bir parçası olduğunu göstermektedir (7).

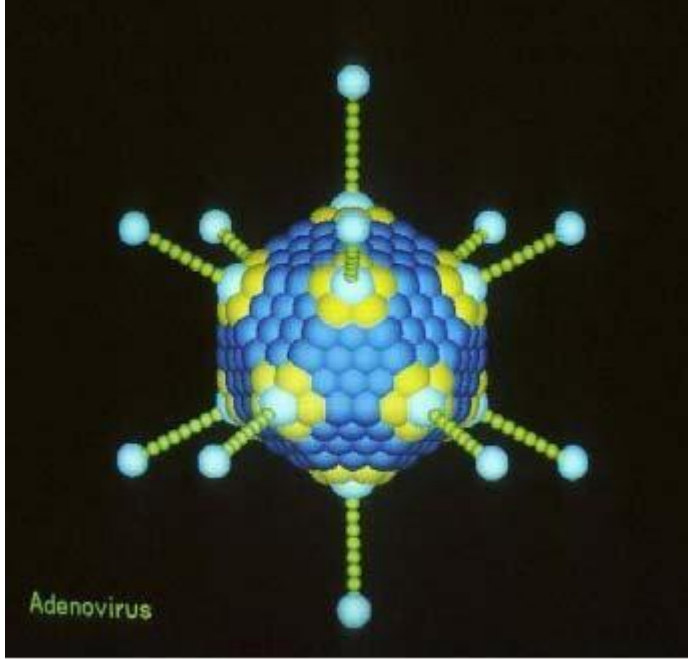
## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Adenovirusun Genel Özellikleri

#### 2.1.1 Adenovirusun Yapısı ve Sınıflandırılması

Adenoviruslar 1950’li yıllarda insan adenoidlerinden izole edilmiştir ve ilk kaynağını belirtmek üzere bu ismi almışlardır (8). Doğada yaygın olarak bulunurlar, insan ve hayvanlardan izole edilebilirler. Adenoviridae ailesinde yer alan 4 cinsten (Mastadenovirus, Aviadenovirus, Atadenovirus ve Siadenovirus) biri olan Mastadenovirus cinsi, memelileri enfekte eder.

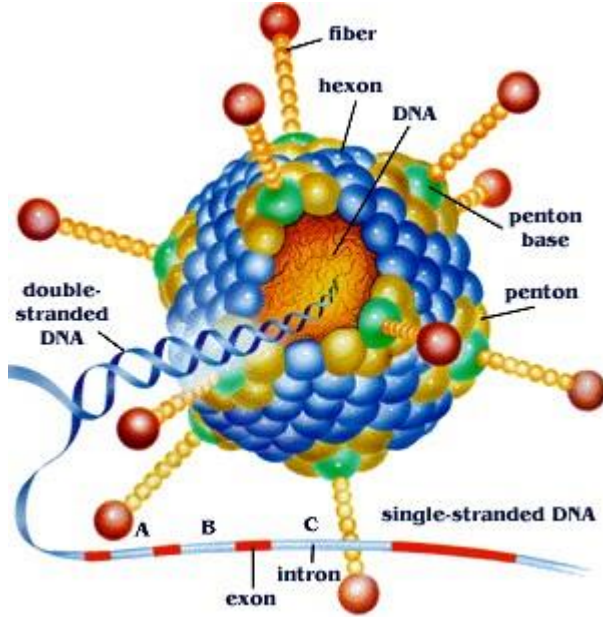
Mastadenovirus cinsinde yer alan insan adenovirusları 70-90 nm büyüklüğünde, çift sarmal lineer DNA içeren, ikozahedral simetrik, zarfsız viruslardır (Şekil 1).



Şekil 1: Adenovirusun yapısı (9)

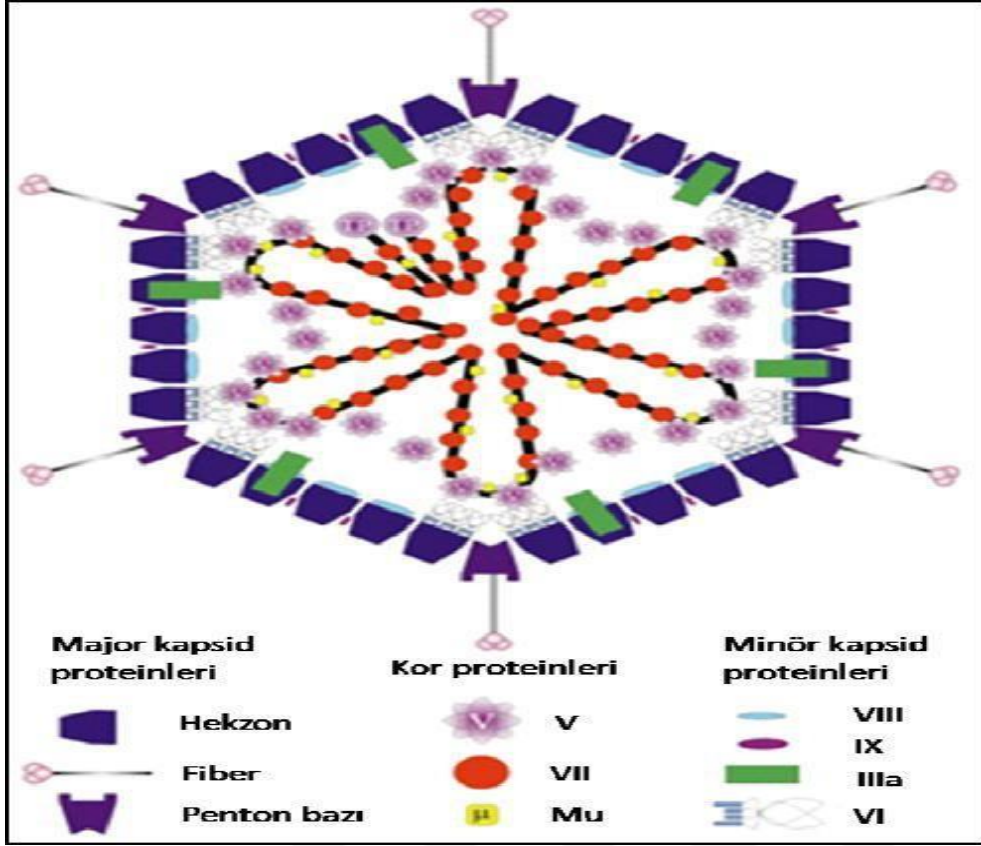
( **Kaynak:**<http://www.wikimedia.org/wiki/Category:Adenovirus>)

Adenovirusların protein kapsidinde, virusun sınıflandırılmasında ve hastalık tanısında önem taşıyan, antijenik yönden farklı, 3 tip kapsomer bulunmaktadır. Toplam 252 kapsomerin 12'sini köşelerde yer alan ve penton adı verilen;240 tanesini ise yüzeyde yer alan ve hekzon adını alan kapsomerler oluşturur. Pentonlardan çıkan iplik şeklindeki kapsomerler ise fiber adını alır (Şekil 2)



**Şekil 2:** Adenovirusun farklı antijenik yapıdaki kapsomerleri(**Kaynak:** Rein DT, Breidenbach M, Curiel DT. Current developments in adenovirus-based cancer gene therapy. Future Oncol. 2006;2: 137-143) 10)

Hekzonun tüm insan adenoviruslarında ortak olan antijenik bölgeleri kapsidin içinde kalırlar ve bunlara karşı nötralizan antikorlar oluşturulamaz. Hekzonun ve fiberlerin tipe özgül olan ve serumda nötralizan antikorlar oluşturan bölgeleri bulunmaktadır. Fiberdeki antijenik belirleyicilerin in vitro hemaglutinasyondan sorumlu olduğu bilinmektedir (11). Penton antijeni ise tüm insan adenoviruslarında ortak antijenik özelliكتedir ve virusların hücre kültüründe oluşturduğu erken sitopatik etkiden sorumludur (12). Bu üç major kapsid proteininin yanında, kapsid yapısını sabitlemeye yarayan minör kapsid proteinleri olan IIIa, VI, VIII ve IX bulunur. V, VII, Mu ve terminal protein (TP) ise kapsid içerisinde DNA'nın paketlenmesini sağlayan histon benzeri viral kor proteinleridir (Şekil 3). VII, DNA'yı paketler, TP ise DNA zincirlerinin 5' uçlarına bağlanır. Ayrıca, virion içerisinde adenovirusun hücre içi endozomdan kaçmak için kullandığı düşünülen adenoviral proteazlar bulunur.

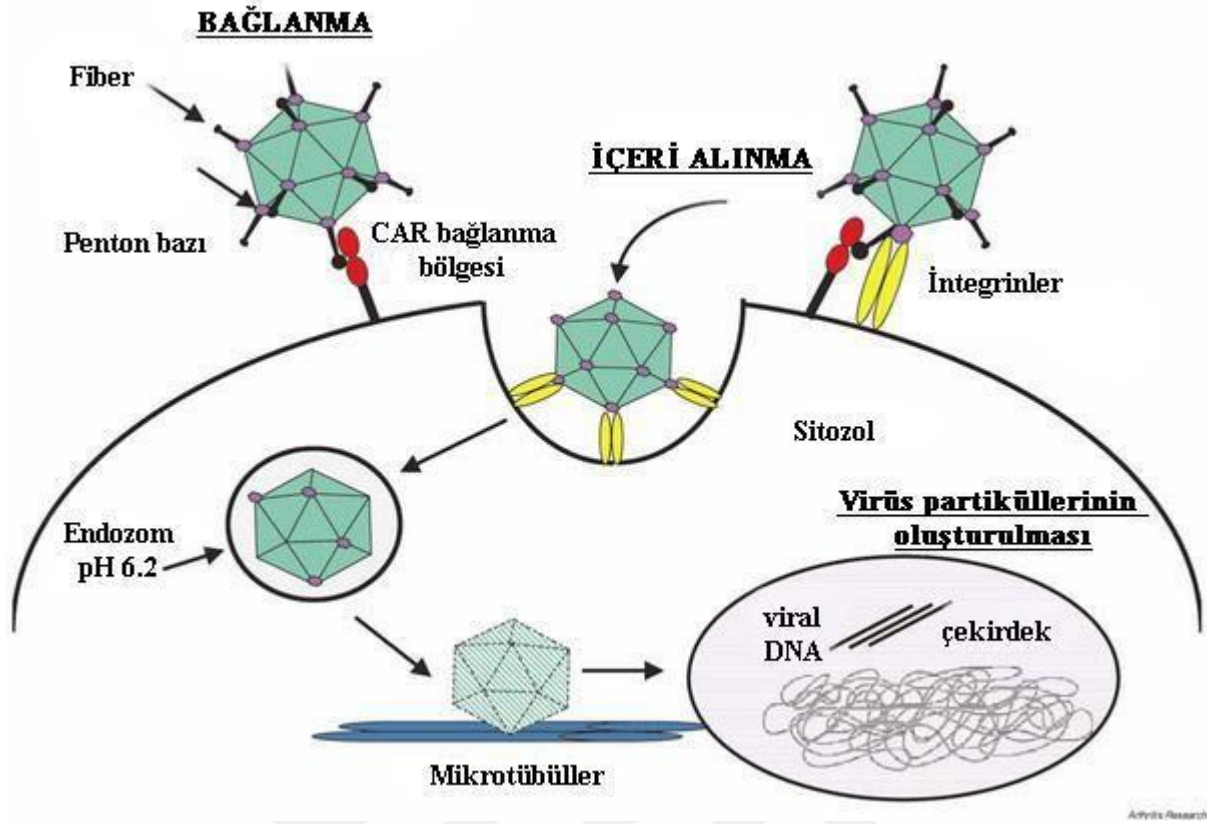


**Şekil 3.** Adenovirusun kapsid ve kor proteinleri (13)(**Kaynak:** Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. J Gen Virol. 2000;81: 2573-2604)

İnsan adenovirusları farklı özelliklerine göre çeşitli şekillerde sınıflandırılmışlardır. En son 1999 yılında, nükleotid ve aminoasit sekansları baz alınarak ‘International Committee on Taxonomy of Viruses’ tarafından 6 tür ve 51 serotipe ayrılmışlardır (14).

### 2.1.2 Adenovirusun Hücre İçine Girişi ve Replikasyonu

Group B dışındaki adenoviruslar konakçı hücrenin yüzeyine Coxsackie-Adenovirus Reseptör (CAR) aracılığıyla bağlanır. Grup B adenovirusların ise CD46, CD80/86, sialik asit ve heparan sulfat gibi hücre yüzey moleküllerini kullandıkları belirlenmiştir (15). Bu proteinlere bağlanan adenovirus, penton bazında eksprese edilen “RGD motifi” ile  $\alpha\beta$  integrinlere bağlanarak kltrin bağımlı, reseptör aracılı endositoz ile hücre içine alınır (16) (Şekil 4).



**Şekil 4:** Adenovirusun hücre içine alınması ve replikasyon döngüsü (**Kaynak:** Vorburger SA, Hunt KK. Adenoviral gene therapy. Oncologist. 2002;7: 46-59) (16)

Virus dinein yardımı ile sitoplazma içinde mikrotübüllere bağlanarak çekirdeğe ilerler ve ardından “Nükleer Por Complex” (NPC) ile birleşir (17). NPC’de kapsidin ayrışması ile viral genom çekirdeğe girer ve viral transkripsiyon programı başlar.

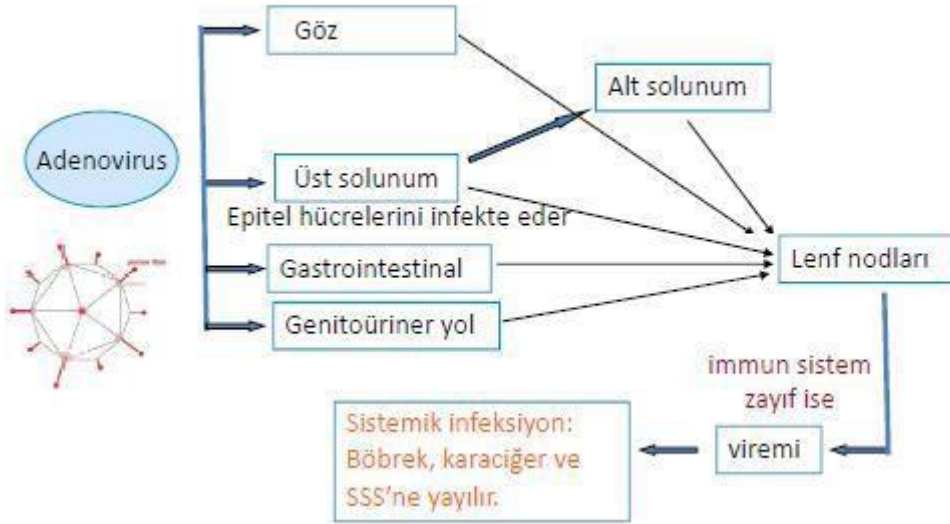
Sitoplazmada sentezlenen yapısal proteinlerin de hücre çekirdeğine taşınması ile tam virüs yapımı gerçekleştirilir. Tam virus oluşumu enfeksiyonu takiben üç gün içerisinde olur. Adenovirus E3-11.6K proteininin neden olduğu lizis ile hücre ölür ve adenoviruslar serbest kalır(18)

Öncül olarak viral bir protein kullanmaları ve çift iplikli DNA virüsü olmalarına rağmen, genomlarını tek iplikli ara formlar aracılığıyla eşlemeleri adenovirus replikasyonunu ilginç kılar (19). Adenoviruslar infekte ettikleri hücrelerin çekirdeklerinde replike olurken çekirdek içi bazofilik inklüzyonlar oluştururlar. Bu inklüzyonlar adenovirusların tanısında kullanılabilir.

### 2.1.3 Adenovirüslerin Neden Olduğu Enfeksiyonlar, Patogenez ve Klinik

Adenovirüsler hücre ile en az üç değişik yol ile etkileşim kurarlar. Bunlar: çoğunlukla epitel hücrelerinin içinde meydana gelen prodüktif enfeksiyon, bademcikler ve adenoidler gibi lenfoid doku ve mukozalarda meydana gelen latent veya persistan enfeksiyon ve başlıca A serotipi ile rodent hücrelerinde oluşun transformasyondur (11).

Virus temas, solunum damlacıkları ve sindirim yolu ile bulaşabilir. Epitel hücrelerini enfekte eder, çoğalır ve lenfoid dokuya yayılır. Genellikle bölgesel lenf nodüllerinin dışına yayılmaz. Ancak immun sistem zayıf ise viremi oluşturup sistemik enfeksiyona yol açabilir. Böbrek, karaciğer ve merkezi sinir sistemine yayılabilir. Hastalık iyileştikten sonra, tonsillerde, adenoidlerde ve diğer lenfoid dokularda (Peyer plakları, ökositler gibi) adenovirüsün (özellikle C grubu) latent persistan enfeksiyonu yıllarca sürebilir ve immun sistemin baskılanması halinde kolayca reaktive olabilir (şekil 5).



**Şekil 5:** Adenovirus enfeksiyonlarının patogenezi (20)(Kaynak: <http://www.klinikmikrobiyoloji.com/indir/adenovirusvepoxviruslar.pdf>) (20)

Adenovirus enfeksiyonları temelde 4 ana başlık altında toplanabilir: solunum yolu enfeksiyonları, göz enfeksiyonları, gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve immünsüpresif hastalarda meydana gelen enfeksiyonlar. Adenovirus enfeksiyonları arasında en sık görülenler epidemik keratokonjonktivit ve faringokonjonktival ateştir (21).

Adenovirusların neden olduğu hastalıkların klinik seyri ve bulguları serotipe ve konağın immun durumuna göre değişiklik gösterir. Adenovirusların farklı serotipleri farklı doku ve organlara tropizm gösterir. C, E ve bazı B serotipleri tipik olarak solunum sisteminde



enfeksiyona neden olurken, diğer B serotipleri üriner sisteme, A ve F serotipleri gastrointestinal sisteme, D serotipleri ise göze tropizm gösterirler (Tablo 1) (15,22, 23).

**Tablo 1:** Adenovirusların doku tropizmi (**Kaynak:** Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. Rev Med Virol. 2008;18: 357-374) (15)

Grup	Doku Tropizmi	Serotipler
A	Gastrointestinal yol	12,18,31
B	Üriner yol, respiratuar yol	3,7,11,14,16,21,34,35,50
C	Üst respiratuar yol	1,2,5,6
D	Göz, Gastrointestinal yol	8-10,13,15,17,19,20,22-30,32,33,36-39,42-49,51
E	Respiratuar yol, Göz	4
F	Gastrointestinal yol	40,41

Enfeksiyonlar tüm dünyada yaygındır, yıl boyunca görülebilir. Fakat solunum yolu enfeksiyonları genelde kış sonu, ilkbahar ve yaz başında görülür. Adenovirus enfeksiyonları her yaşta görülebilmekle birlikte, sıklıkla okul çağı çocuklarında görülür ve enfeksiyonların %50'si asemptomatiktir. Toplumdaki üst solunum yolu enfeksiyonlarının % 1-5'i, yeni askere alınanlardaki üst solunum yolu enfeksiyonlarının % 50'si, infant ve okul öncesi çocuklardaki akut gastroenteritlerin %5-15'i adenoviruslara bağlıdır (11). Askeri kamplarda özellikle serotip 4 ve serotip 7 'nin neden olduğu solunum yolu enfeksiyonu salgınları bildirilmiştir (24, 25). Ülkemizden de 2005 yılında askeri bir kampta meydana gelen adenovirus salgını bildirilmiştir (26). Adenoviruslar viral konjonktivit etkenlerinin de başında gelir (11)

Adenovirusun neden olduğu hastalıklar genelde hafiftir ve sekelsiz iyileşir. Son yıllarda immün yetmezlikli hastaların artmasıyla birlikte adenovirusların neden olduğu ciddi ve hayatı tehdit eden enfeksiyonlarda artış görülmüştür.

Bulaşma çoğunlukla fekal-oral yol ile olurken, kontamine eşyalar ve damlacıklı aerosoller aracılığı ile de olabilmektedir. Virüs, kontamine yüzeyler, eller, oftalmik aletler ve solusyonlar ile kolayca yayılır. Bu nedenle hastanelerde özellikle göz enfeksiyonları ve salgınlarına sık rastlanır.

Toplu yaşam ortamlarında da (askeri birlikler, vb) salgınlar oluşturur ve aile içi enfeksiyonlar görülür.

#### **2.1.4 Adenovirüsün Neden Olduğu Göz Enfeksiyonları**

Foliküler epidemik keratokonjonktivit (EKC):Adenovirüsler foliküler epidemik keratokonjonktivitin en önemli ve en sık görülen nedenidir (Uluslararası Hastalık Sınıflandırması'na göre sınıflandırma 10: B 30.0: adenovirüs yoluyla keratokonjonktivit, B 30.1:adenovirüs yoluyla konjonktivit, B 30.2:adenovirüs yoluyla faringokonjonktival ateş [Tablo 2]. (27)Adenovirüs enfeksiyonları tüm keratokonjonktivit vakalarının %92'sinden sorumludur ve genellikle kışın son dönemlerinde baharda ve yazın erken dönemlerinde ortaya çıkar.(28 ,29, 27)Sorumlu virüsler adenovirus HAdV1-11,14-17, 19-2226, 29 ve 37'dir. Avrupa'da en sık rastlanan tipleri HAdV 8>3>7>19/37, Japonya'dakiler HAdV 8>81>4>19/37>3 ve Amerika'dakiler ise 8, 19 ve 37'dir.(30, 29, 31, 32) Hastane-kaynaklı enfeksiyonların en sık HAdV8 ile ilişkili olduğu bildirilmişken, HAdV 7, 19, 37 ise genellikle göller ve yüzme havuzları gibi yerlerden kapılan enfeksiyonlarla ilişkilidir.(29, 33, 34, 35) Hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu olan adenovirüs tipleri genom ve subgenom tiplene gibi moleküler epidemiyolojik yöntemlerle tanımlanmıştır. (34)

Virüs geçişi, yeni virüs tiplerinin ortaya çıkışı ve pek çok virüs çeşidinin neden olduğu eşzamanlı enfeksiyonlar bir popülasyonda tipe-özgü edinilmiş bağışıklığı altedebilir ve yeni bir semptomatik salgına neden olabilir.(36, 34, 32, 37,38)

Akut hemorajik konjonktivit:Akut hemorajik konjonktivit enterovirüs 70, 71 ve coxsackievirüs A24, B2'yle beraber HAdV8 ve (nadiren de) HAdV11 aracılığıyla meydana gelebilir. (27, 39) Bu adenoviral enflamasyon da kendi kendisini sınırlar;semptomları hemorajik olmayan varyantından daha hızlı olarak 6 günün sonunda kaybolur.

ARD ile ilişkili keratokonjonktivit:Adenoviral konjonktivit ile ilişkili akut respiratuvar hastalık (ARD) ilk kez İkinci Dünya Savaşı sırasında askeri kıtalarda bildirilmiştir. Konjonktivitli ateşli hastalığın salgınları yetersiz şekilde klorlanan yüzme havuzlarından ve küçük göllerden HAdV4 ve HAdV7'nin bulaşmasına bağlıdır.(40) ARD genellikle adenovirüs tipleri HAdV4 ve HAdV7 ile ilişkilidir.

**Tablo 2: Avrupa’da oftalmolojiyle ilişkili adenovirüs tipleri**

---

Foliküler konjonktivit	Ad3, 4, 7
Epidemik keratokonjonktivitEKC	Ad8, 19, 37
Akut respiratuar hastalık	ARD Ad1–3, 4, 6, 7, 14, 21
Faringokonjonktival ateş	Ad3, 7, 14

---

### 2.1.5 BULAŞMA

Göz kapaklarına ve tarsal konjonktivaya istemsiz şekilde veya makyaj yaparken ve yüze kozmetik uygulamalar istemli şekilde günde yaklaşık 14 kez dokunulduğu dikkate alındığında, parmaklarla doğrudan inokülasyonun başlıca bulaştırma şekli olduğu düşünülebilir. Adenovirüs 8’in insandan insana geçişi de genellikle personel ve/veya hastalarla temasa geçen diğer kişiler aracılığıyla meydana gelmektedir. Sağlık birimlerinden kaynaklanan salgınlar genellikle bir veya birkaç sağlık çalışanından kaynaklanabilir.(30, 41, 42, 43, 44)

Hastane-kaynaklı enfeksiyonlarda hastalarla temasa geçtikten sonra sağlık çalışanlarının yetersiz şekilde ellerini yıkaması ve aletlerin yetersiz dezenfeksiyonu salgın için başlıca risk faktörüdür. Daha büyük eğitim hastanelerinde (500 yataktan fazla), EKC görülen hastaların atak oranı 100 vakada 4.7 olarak öngörülmüştür. Bulaşma aynı zamanda kalabalık sağlık kurumlarında veya personel hijyeninin ve davranışının kötü olduğu aşırı nüfusa sahip alanlarda damlacık enfeksiyonu şeklinde de meydana gelebilir (HAdV 8, 19).Özellikle oftalmik birimler ve hastanelerde görev yapan tıbbi ve paramedikal ekipler enfeksiyonların en sık görülen kaynaklarıdır.(35, 45)Ayrıca kontamine olmuş kapakları olan göz damlası şişelerininin doğru kullanılmaması, tonometre uçları ve diğer yeterli şekilde dezenfekte edilmemiş olan kontakt aletler veya kontakt lenslerin bir çok kez kullanılması diğer önemli risk faktörleridir.

Adenovirüsler kimyasal veya fiziksel ajanlara ve kötü ph koşullarına karşı fazlasıyla stabildir; bu nedenle beden dışında uzun süre hayatta kalmaktadır. Böylece oftalmik birimde yüksek oranda görülen bulaşma, örn.adenovirüsle-ilişkili EKC'nin bulaşıcılığı, HAdV19'la ilgili verilere bakıldığında iyice anlaşılabilir;Bu virus kağıtta 8 güne kadar, tonometre uçlarında 9 gün, kıyafetlerin ve metalin üzerinde 10 gün ve plastiklerde 35 güne kadar hayatta kalabilir.(46,47) Bu sonuçlar,epidemik keratokonjonktivit'in salgınlarını engellemek için kritik olmayan yüzeyler ve aplanasyon tonometreleri gibi yarı-kritik tıbbi cihazların dezenfeksiyonunda kullanılacak antiseptiklerin uygun şekilde seçilmesi ve uygulanmasının önemini vurgulamaktadır. Enfeksiyon kontrolü tedbirlerinin uygulanması ihtiyacı da bu verilerden ve etkili tıbbi tedavi eksikliğinden kaynaklanıyor gibi görülmektedir. (48, 49)

## **2.1.6 KLİNİK TABLO**

### **2.1.6.1 Yetişkinler**

Semptomlar:“Epidemik keratokonjonktivit” kompleksinin görüldüğü hastalar tek taraflı (hangi elin kullanıldığına göre değişecek şekilde )kaşınma, sulanma, yanma ve yabancı madde hissiyatı ve fotofobi şikayetinde bulunmaktadırlar. Akut hemorajik konjonktivit (AHK) durumunda, büyük epibulber ve tarsal kanamalar ve preservikal lenf nodu büyümesi hastaların %90'dan fazlasında ilk semptomlardan 48 saat sonra açığa çıkabilir.

Bulgular:Biyomikroskopide seröfibrinöz, bazen de mukopürülan bir eksüda görülür.Buna kemosis ve hiperemi de eşlik eder (Şekil 6). Tarsal ve epibulber foliküller (ve HAdV3, 4 durumunda peteşiyal kanamalar) oluşur. (Şekil 7) Korneal duyarlılık etkilenmez.Bir kaç gün sonra, vakaların %95'inde bunu çok odaklı damarlanmamış, merkezi olarak konumlanmış, numular korneal infiltratlar izler. Bunlar dendritik hücreler, lenfositler, histiyositler ve fibroblastlardan oluşur (Şekil 7).(50) Nadiren,özellikle de HAdV8'le yüzeysel bir benekli keratit meydana gelebilir.Potansiyel olarak körleştirebilen herpetik hastalığı adenovirüs enfeksiyonlarından ayırmak için tüm korneal belirti durumlarında estesiyometri uygulanmalıdır. Akut fulminan hastalıkta ve immünyetmezlik sendromlarıyla bağlantılı olarak intakt epitel bir yüzey üzerinde nekrotik doku içeren tarsal psödomembranlar ( çıkartıldığında kanama görülmez) görülebilir. Konjonktival skar ve hafif semblefaron oluşturmaya meyillidirler.

Preaurikular, submandibular ve servikal lenf nodlarının şişmesi tipik olarak tüm adenovirüs enfeksiyonlarıyla ilişkilidir ve akut hemorajik konjonktivitte de semptomların başlamasından 48 saat sonra görülebilir ve elle hissedilebilir. Gözkapağı ödemi, sekonder enflamatuvar pitoz, ve üst solunum yolu enfeksiyonu da şiddetli halsizlik ile beraber bu vakalara eşlik edebilir. ARD özellikle yetişkinlerde görülen HAdV3 ve HAdV4 enfeksiyonlarında ve çocuklarda görülen HAdV7 ve HAdV8 enfeksiyonlarında dile getirilmektedir.

EKC ve AHC'nin klinik semptomları genellikle 2-3 hafta sonra kendi kendini sınırlar. Fakat; 2 yıldan sonra bile hastaların %47'sinde HAdV8 enfeksiyonları için biyomikroskopik olarak dokümente edilebilen numular korneal lezyonlar (ve görüşte 1.0'den 0.5'e azalma) vardır.(51) Adenovirüs bir hastanın konjonktivasından azalan bir zaman paterniyle izole edilebilir – hastaların yaklaşık %50'si 10 gün sonunda halen enfektifken, bazıları 2 yıldan fazla süre enfektif kalmaktadır. AHC durumunda, HAdV2, HAdV3, HAdV4, HAdV5 ve HAdV19 da başlangıçtan bir kaç ay sonra bile izole edilebilir.

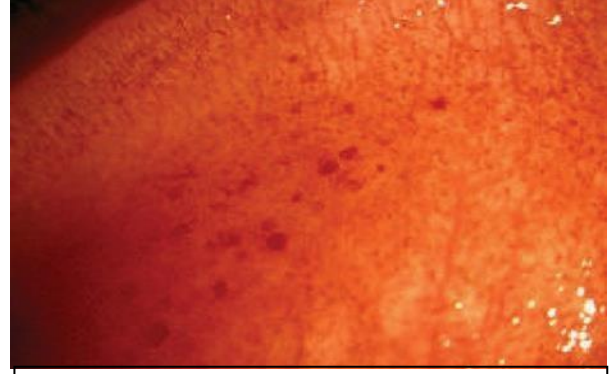
Oküler yüzeyi enfekte eden herhangi bir sitopatojenik ajan (adenovirüsü de içerir) enflamasyona sekonder enfeksiyon sonrası kuru göz sendromuna neden olur. Bu olay hastaların yaklaşık üçte birinde klinik olarak ilgilidir. Bunu bazen devam eden bir enfeksiyondan ayırt etmek zordur. Ayırıcı tanı Schirmer's, Bengal rose boyaması, gözyaşı kırılma zamanı ve impresyon sitolojisi gibi testler kullanılarak yapılabilir.

Nadiren, özellikle fulminan ve psödomembranöz hastalık geçiren hastalarda (sub)epitelyal konjonktival skarlar gelişebilir ve ısrarcı korneal irritasyona ve ağrı hissine neden olabilir Aynı zamanda daha ciddi olan ısrarcı enfeksiyon ve devam eden enflamasyonlu kuru göz sendromlarına sekel olarak hafif semblefaron eşlik edebilir.

Risk faktörleri: Hastane-kaynaklı oküler enfeksiyonlardan sorumlu olan adenovirüs rezervuarı enfekte olmuş insandır. Geçiş mekanizması kontamine cilt, inorganik aletler ,sekresyonlar, aerosoller ve damlaları içermektedir. Çevresel ARD ile ilişkili adenovirüs rezervuarı havuzlar ve göllerdir. İnsanlar yüzerken kendilerini enfekte eder.



Şekil 6:Epidemik keratokonjonktivit: Konjonktival hiperemi, kemozis, plika şişmesi ve beraberindeki reaktif ağlamalı splenik rüptürü görülen 20 yaşındaki hasta(Alexander Bialasiewicz, Sultan Qaboos University Medical Journal



Şekil 7.Epidemik keratokonjonktivit: Ektropiyone olmuş üst göz kapağının subtarsal konjonktivasında peteşiyal kanama görülen 16 yaşındaki bir hasta (sık görülen sitopatojenik etki) (Alexander Bialasiewicz, Sultan Qaboos University Medical Journal



Şekil 8:Epidemik keratokonjonktivit: Bir parasentral, subepitelyal, düzensiz olarak sınırları çizilmiş “dendritik” korneal infiltrat görülen 26 yaşındaki hasta(Alexander Bialasiewicz, Sultan Qaboos University Medical Journal

### **2.1.6.2 Yenidoğanlar**

Gözle ilgili neonatal adenovirüs enfeksiyonları sık görülen bakteriyel enflamasyonlara oranla daha azdır. Konjonktivit sistemik hastalıktan sağ kalan yenidoğanlarda bildirilmiştir.(52) Eşzamanlı görülen çift taraflı “kırmızı gözler” ve sulanma bakteriyel enfeksiyonlarda görülen mukopürülan eksüdadan kolayca ayırt edilebilir.

Lakrimal bezlerin şişmesi, gözkapağı ödemi, konjonktival hiperemi ve konjonktival papiller reaksiyon gözlenebilir. Klinik semptomlar 10 günden az bir süre sonra kendi kendini sınırlar ve henüz kötüye giden bir korneal hastalık ve görmede bozukluk bildirilmemiştir.

Prematüre retinopatisi taraması için yenidoğanların oftalmologlar tarafından önceden muayene edilmesinin yenidoğanda görülebilecek olası bir adenovirüs konjonktivitinin tek önemli risk faktörü olduğu bildirilmiştir. (35)

## **2.2 Adenovirusların Tanısı**

Adenovirusların tanısında elektron mikroskopisi (EM), virusun hücre kültüründen izole edilmesi, antikor saptanması, antijen ve nükleik asit aranması kullanılan yöntemlerdir (54, 55).

Tanıda altın standart kabul edilen virusun hücre kültüründe izolasyonu bir-iki hafta gibi uzun bir süre alır (56). Bu nedenle günümüzde adenovirusların tanısında sıklıkla diğer yöntemler, özellikle hızlı ve güvenilir bir tanı yöntemi olan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile viral DNA'nın saptanması kullanılmaktadır.

### **2.2.1 İzolasyon Yöntemleri**

İzolasyon yöntemleri virus üzerinde daha ileri çalışmaların yapılabilmesine olanak sağlar ve kabul edilebilir duyarlılığa sahiptir.Bu nedenle tamamlanması 1-2 hafta sürebilecek olan bu yöntem, halen tanıda “altın standart” olarak kabul edilmektedir (11, 57)

Virusların izolasyonu için örnekler, hastalığın erken döneminde, enfeksiyonun görüldüğü bölgelerden alınmalıdır. Farklı hastalık tablolarında adenovirusların çıkartılma süresi değişkendir(53). Örnekler semptomların ortaya çıkışından sonra mümkün olan en kısa zamanda toplanmalı, transport sırasında soğuk (2-8°C) tutulmalıdır.

Göz, akciğer ve üriner sistemden adenovirus izolasyonu tanı koydurucu iken boğazdan izole edilen adenovirus, klinik bulgularla birlikte değerlendirildiğinde anlamlıdır.

Tüm örnekler adenoviral kültürler için uygundur fakat enterik adenovirusların hücre kültüründe üretilmesi diğer türlere göre daha zordur.

Adenoviruslarla enfekte hücrelerde, genişleme, yuvarlaklaşma ve üzüm salkımı şeklinde bir araya toplanma, yani agregasyon tipi sitopatik etkiler meydana gelir. (58, 59).Hücre kültürlerinde sitopatik etkinin saptanması, virusun ürediğini gösterir fakat tipini belirlemez.

Üreyen virusun tiplendirilmesi için gruba veya tipe özgül antikorlar kullanılarak nötralizasyon veya floresan antikor testleri uygulanmalıdır.

Hücre kültürlerinde adenovirusların üretilmesi 2-4 hafta sürebilir ve tiplendirme de zaman alıcı ve zahmetlidir. Daha kısa sürede sonuç veren “shell-vial” yöntemi kullanılabilir (60). ‘Shellvial’ yöntemi ile beş gün içinde pozitif sonuçlar alınabilmektedir (58).

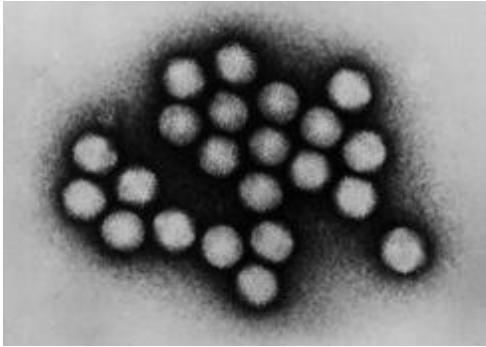
Dezavantajlarına rağmen virusun elde edilmesine, virusun tiplendirilmesine ve virüs üzerinde ileri çalışmalara izin verdiği için hücre kültürü, tanıda ‘altın standart’ olarak kabul edilmektedir.

## 2.2.2 Doğrudan Saptama

### 2.2.2.1 Mikroskopi

Klinik örnekte adenovirus partikülleri veya hücre çekirdeğinde olgunlaşmış virüslerin oluşturduğu karakteristik yapılar elektron mikroskopisi ile saptanarak daha ileri tanımlamaya gerek kalmadan adenovirus tanısı konabilir. EM özellikle patoloji çalışmalarında doku örneklerinde tanı için kullanılmaktadır.

EM ile incelenecek olan tespit edilmiş doku ince kesitlere ayrılır, negatif boyanır ve sıklıkla çekirdek içinde bulunan virus partiküllerinin kristal dizilimleri incelenir (11). Yavaş hızla santrifüjleme sonrasında elde edilen arındırılmış sıvı da aynı şekilde boyanarak, direkt EM ile partikül kümeleri açısından incelenir.



**Şekil 9:** Adenovirusun elektron mikroskop görüntüsü (61)

(**Kaynak:** <http://pathmicro.med.sc.edu/adenocdc.jpg> )

Bu yöntemin duyarlılığı, örnekte bulunan virüs partiküllerinin miktarına bağlı olarak değişir. Kullanılabilecek bir diğer yöntem, immün elektron mikroskopisi (IEM) ile duyarlılığın artırılmasıdır (59). Burada, örnek önce virusa özgül antiserumla muamale edilir, özgül



antikorların virus partiküllerini agrege etmesi ve böylece daha kolay görünmeleri sağlanır. IEM hızlı ve duyarlı bir yöntem olarak oküler adenovirus enfeksiyonlarının tanısında önerilmiştir (62).

EM ile hızlı bir şekilde adenovirus tanısı konabilir (63). Fakat EM zahmetli ve pahalı olduğu için pratik kullanımı sınırlıdır. Hücre kültürlerinde üretilmesi zor olan virüslerin klinik örneklerde gösterilmesi amacıyla ya da virus partiküllerinin morfolojisinin incelenmesinde tercih edilen bu yöntem, ancak belirli referans laboratuvarlarında uygulanabilmektedir.

### **2.2.2.2 Antijen Saptama**

Antijen saptama, genellikle solunum yolu enfeksiyonlarının ve gastrointestinal enfeksiyonların tanısında kullanılır. Çoğunlukla hekzon proteinin korunan bölgelerine karşı monoklonal antikolar kullanılır. Immunfloresan (IF) veya enzim immunoassay (EIA) temelli, genellikle ticari olarak elde edilebilen testler kullanılır. Bu yöntemler genellikle yeterli duyarlılığa sahiptirler ve hızlı sonuç verirler.

### **2.2.2.3 Nükleik Asit Saptama Yöntemleri**

Çeşitli moleküler yöntemler (Southern blot, dotblot gibi hibridizasyon yöntemleri; PCR, ligaz zincir reaksiyonu gibi amplifikasyon yöntemleri; sekanslama, restriksiyon enzim analizi- REA-gibi DNA dizi inceleme yöntemleri) ile klinik örneklerde adenovirus DNA'sı saptanabilmektedir.

Adenovirüslerin özellikle immun yetmezlikli hastalarda neden olduğu ciddi enfeksiyonlar nedeniyle daha duyarlı ve hızlı tanı yöntemlerine duyulan gereksinim artmıştır (64). Bunun yanında adenovirusların oftalmik enfeksiyonlarında görülen yüksek bulaşıcılık nedeniyle, etkenin hızlı ve doğru bir şekilde tanımlanması salgınların önlenmesi veya sonlandırılması bakımından önem taşımaktadır. PCR ile karşılaştırıldığında konvansiyel yöntemler hız ve duyarlılık bakımından yetersiz kalmaktadır (64, 65). Bu nedenle son yıllarda adenovirusların tanısında PCR en sık kullanılan yöntem haline gelmiştir (66-68).

Adenovirus DNA'sının saptanması yanında, son yıllarda adenovirusların serotiplendirilmesine yönelik artan bir ilgi görülmektedir. Serotiplendirme özellikle epidemiyolojik araştırmalar, patogenezi çalışmaları, ciddi veya olağandışı enfeksiyonlarda önemli olmakla birlikte, spesifik serotiplerin hastalığın türü ve ciddiyeti ile bağlantılı olması serotiplendirmeye olan ihtiyacı arttırmıştır.

## **2.3. Adenovirusların Tiplendirilmesi**

### **2.3.1 Nötralizasyon Testi**

Test, bağışık serumlarda bulunan ve virusu nötralize eden antikorlar kullanılarak yapılır. Virusun, özgül antikorların varlığı ve yokluğunda üreme özelliklerine dayalıdır. Hücre kültürü veya deney hayvanları kullanılır. Nötralizasyon testi türe özgüdür. Uygulaması zor ve zaman alıcıdır, fakat nötralizasyon testi serolojik tanıda “altın standart” olarak kabul edilir (11) .

### **2.3.2 Hemagglütinasyon ve Hemagglütinasyon İnhibisyon Testi**

Adenovirus izolatlarının tip spesifik identifikasyonunda önce grup belirlenmelidir. Bunun için hemagglütinasyon testi uygulanır. Daha sonra da spesifik serotiplerin belirlenmesinde hemagglütinasyon inhibisyon testleri ve nötralizasyon testleri yapılabilir.

### **2.3.3 Restriksiyon Enzim Analizi**

Genomik yapı ve genetik dizilim, virus aileleri, tipleri ve türleri arasında farklılık göstermektedir. Bu farklılığı DNA'nın restriksiyon endonükleazlar (RE) yardımıyla kesimi ile göstermek mümkündür.

REA, “Restriction Fragment Length Polymorphism” (RFLP) ya da “Pulse Field Gel Electrophoresis” (PFGE) gibi nükleik asit tabanlı tiplendirme sistemlerinde sıklıkla kullanılmaktadır ve moleküler tiplendirme yöntemlerinden biri olarak kabul edilmektedir (69)

### **2.3.4 Nükleotid Dizi Analizi**

DNA dizi analizi (DNA “sequencing”) DNA'nın nükleotid dizilerinin saptanmasını ifade etmektedir. Nükleotid dizilerinin belirlenmesinde iki temel teknik geliştirilmiştir. Bunlar, Maxam-Gilbert kimyasal degradasyon yöntemi ile Sanger'in 2-3 dideoksi enzimatik yöntemidir(70, 71). Günümüzde otomatik DNA dizi analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Otomatik analizde sıklıkla Sanger'in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmaktadır. Otomatik DNA dizi analiz cihazları basit olarak, bilgisayarda yüklü programlar ile bu programların yönettiği elektroforez sistemlerinden oluşur. Otomatik DNA dizi analizleri zaman kazancının yanında, standart çalışma koşulları da sağlamaktadır.

Birçok virus gibi adenovirusların tiplendirilmesinde de DNA dizi analizi, sıklıkla kullanılan moleküler yöntemlerden biri haline gelmiştir.

## 2.4 TEDAVİ

Tüm kendi kendini sınırlayan hastalıklarda, tedavi denemelerinin değerlendirilmesi zordur. Enfeksiyonun ortadan kayboluşuyla ilgili başarı genellikle enfeksiyon alanında daha az sayıda organizma bulunması, daha az subjektif semptomlar, enflamatuvar belirtilerde (örn: konjonktival hiperemi, eksüda, korneal tutulum) düzelme ve morbiditede azalma ile ölçülür.

Topikal alfa-interferon, cidofovir ve PVP-iyodinin deneysel ve klinik başarısı bildirilmiştir. Fakat; bu ajanların hiçbiri, kısıtlayıcı yan etkilere veya maliyet-etkinlik testine karşı koyamamaktadır. In vitro en çok umut vadeden madde olan cidofovirin tüm klinik çalışmalarda etkili olduğundan şüphe edilmiştir.(72)

Günümüzde in vivo ve in vitro adenovirüs enfeksiyonuna karşı etkili olduğu kanıtlanmış ve kabul edilebilir olduğu bildirilmiş olan N-klorotaurin bir faz III klinik çalışmaya girmektedir. Fakat, hastalığın süresinin kısaltılması, semptomların süresi ve insanlarda virüsün atılması üzerindeki etkisine dair veriler henüz bildirilmemiştir ve bunları kendini sınırlayan bir hastalıkta elde etmek zordur. (73, 74, 75)

Arabinozid(76), iyodin-desoksiüridin(77) veya trifluorotimidin(78) gibi antiherpetik ilaçların kullanımı da başarılı olmamıştır.

Topikal kortikosteroidler subjektif semptomları azaltabilir ve korneal infiltratların gelişimini geciktirebilir veya engelleyebilir. Kortikosteroidleri gitgide azalttıktan sonra, %30'luk bir rekürrens oranı bildirilmiştir.(51 ) Hayvan çalışmalarında adenoviral replikasyonun kortikosteroidlerin etkisi altında artabileceği bildirilmiştir.(79) Bu nedenle, kortikosteroidlerin uygulanması sadece büyük ciddi enfeksiyonlarda, semblefaron, korneal yaralanma ve kalıcı görme bozukluğunu engelleme isteğiyle meşrulaştırılabilir. Kortikosteroidlerin kullanımı veya dozlama aralıkları için bir ortak görüş bulunmamaktadır.

Sadece bir çalışmada topikal siklosporin A'nın korneal infiltratların çıkarılması veya kaybolmasına dair faydası olduğu bildirilmiştir.(72) Topikal antihistaminikler ve soğuk-buz bandajları gibi fiziksel destekleyici tedbirler de tavsiye edilmiştir. (73)

Tetrasiklinler ve kortikosteroidlerin topikal kombinasyonları da sıklıkla yazılmaktadır; fakat, bunların faydalı bir semptomatik veya iyileştirici etkisi olduğuna dair kanıt bulunmamaktadır.

HAdV4 ve HAdV7 enfeksiyonları (ARD ile ilişkili konjonktivit ) için aşılar geliştirilmiştir; fakat bunlar sadece askeri kıtalarda görülen ARD 'yi engellemek için tasarlanmış olabilir ve hiç bir zaman oftalmologlar için tedavide söz konusu olmamıştır. (40)

EKC'den sonra görülen ısrarcı skarlar, düzensiz şekil ve düzensiz astigmatlık gibi geç sekeller bozulmuş bir görüntü kalitesine veya görme bozukluğuna neden olabilir. Bu durumlarda, topografisonucuna göre yapılan fototerapötik keratektomi görüşü düzeltebilir. (80)

## 2.5 ENFEKSİYON KONTROLÜ

Enfeksiyon kontrolü tedbirlerinin yararlı etkisi son dönemlerde ciddi bir şekilde tartışılrsa da, hakim olan görüş adenovirüsle ilişkili hastalıkların hastane-kaynaklı salgınlarını durdurmada etkili olabilecek iyi enfeksiyon-kontrolü uygulamalarına sıkı bir önem vermektir. (44, 45, 81)

Virüse karşı in vitro aktif olduğu kanıtlanmış olan dezenfektan ajanlar, Çevre Koruma Ajansı ve RKI/Berlin 4 listelerinde verilmiştir. Fakat, in vitro koşullar ve test suşları ve antiseptikler arasındaki etkileşim in vivo koşullarla aynı olmayabilir. Örneğin, HAdV2 ve HAdV7, 10 dakika alkolle temasa duyarlı iken, adenovirüs 8 %70'lik izopropil alkolün etkinliğine karşı dirençlidir.(82) Bu nedenle, adenovirüs enfeksiyonlarındaki hijyen sorunlarına dair yapılan çalışmaların sonuçları, bu konuyla ilgilenen klinisyen açısından genellikle kafa karıştırıcı olmuştur. Yüzme havuzu ile ilişkili adenovirüs konjonktivit salgınına engellemek için yeterli seviyede klorlama yapmak gerekli ve etkilidir. (44, 40)

Bir salgın sırasında tıbbi ekibin başlıca görevi, enfeksiyonun insandan insana yayılmasını engellemek için tavsiye edilen antiseptikleri ve enfeksiyöz hastaları veya (potansiyel olarak) kontamine materyalleri tutarken eldivenleri kullanarak el dezenfeksiyonuna sıkı şekilde dikkat etmektir. Antiseptik olarak kullanıma uygun olan germisitlerden olan %70'lik etanol beş test koşulunun dördünde 3 log 10'luk bir azalma sağlamıştır(83). Bu tedbirler EKC'nin

yayılmasını akut olarak kısıtlayabilir ve insidans oranlarının uzun süreli azalmasını sağlayabilir.(84, 85, 29) Adenovirüs konjonktiviti geçiren doktorlar hiçbir durumda hastalarla biraraya gelmemelidir. Kanada’da yapılmış olan bir çalışmada, bir sağlık merkezindeki 20 doktorun 4’ünde EKC patlak vermesinin enfeksiyonların %61’inden sorumlu olduğu görülmüştür.(86)

Eldivenleri çıkarttıktan sonra el dezenfeksiyonu en az 5 dakika %80’lik etanol veya en az 1 dakika %1’lik veya %2’lik tosilkloramid sodyum kullanılarak uygulanmalıdır.(87) Deterjanla elleri yıkamak yeterli değildir. El havluları tek kullanımlık kağıt havlu veya tek kullanımlık pamuk havlu olmalıdır.

Göz damlaları veya göz merhemi sadece tek bir hasta tarafından kullanılmalıdır ve tek kullanımlık damlalar tercih edilmelidir.

Hastayla ilgili alanlar, ekipmanlar, aletler ve yarıklı lamba aksesuarları gibi hastayla temas eden araçlar önerilen antiseptiklerle dezenfekte edilmelidir.(88, 87, 83)

Schitz tonometrilik veya aplanasyon tonometrilik kontakt tonometri EKC için bir risk faktörüdür; ve pnömotonometrenin de hastane kaynaklı EKC salgınlarıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir.(44, 90) Tonometreler dizayn ve materyal kompozisyonu açısından değişiklik gösterir; bu nedenle bir tonometre tipi için uygun olan dezenfeksiyon veya sterilizasyon işlemleri bir diğeri için uygun olmayabilir.(92, 93, 94) Eğer aletler en başta dezenfeksiyon sırasında dezenfektan ve mikroorganizma arasındaki teması engelleyebilen herhangi bir organik materyalle temizlenmezse yeterli dezenfeksiyon veya sterilizasyon sağlanamayabilir.

Özellikle pnömotonometre ve diğeri tonometrelerin dezenfeksiyonu veya sterilizasyonu üzerine yapılan kontrollü çalışmaların eksikliğinde, bu tip tonometrelerin uçları temizlenmeli, ardından da her hasta kullanımını sonrasında dezenfekte ya da sterilize edilmelidir.

Tonometre uçlarının ultraviyole ışığıyla irradyasyonunun (maksimum antiviral etkililik: 253.7 nm) etkili olduğu HAdV2 kullanılan çalışmalarda kanıtlanmıştır, fakat bu çeşitli adenovirüs tiplerindeki değişken dozajlar (ID 90 20 İLA 50 Mws/cm<sup>2</sup>) ve belirlenmemiş maruziyet süreleri nedeniyle genellikle önerilmemiştir.(95, 91)

Diğeri kontakt aletler için dezenfeksiyon ve sterilizasyon makinesinde 5 dakika 93°C’de termal dezenfeksiyon önerilmektedir; ya da durulama için virüsidal %3’lük formaldehit

solüsyonu kullanılabilir (önerilen kontakt 4 saat) veya daha pratik olarak, %5'lik tosilkloramid sodyum solüsyonu (önerilen kontakt 10 dakika) uygulanabilir;örneğin üç aynalı lensler için. ROP hastalarını taramak için kontakt aletler (göz kapağı spatulası) üzerinde klorhekzidin test edilmiştir ve termal dezenfeksiyon klorhekzidine göre daha iyi bulunmuştur, ama klorhekzidin %70lik izopropil alkole göre çok daha fazla tercih edilebilir. Fakat, klorhekzidin zayıf bir dezenfektandır ve gözü fazlasıyla rahatsız eder. (96)

Yarık lamba aksesuarları gibi hastanın temas ettiği alanlar en az 5 dakika virüsidal preparatlarla veya %70'lik etanolle dikkatli şekilde temizlenmelidir.(88, 81)

Kontamine kıyafetlere termal (90°C, 10 dakika) veya kemotermal dezenfeksiyon uygulanmalıdır(89)

Hastane-kaynaklı EKC salgınlarını kontrol etmek için yardımcı prosedürler gereklidir. Bunlar:

- 1)EKC ile enfekte olmuş sağlık çalışanlarını sadece EKC ile enfekte olduğu bilinen hastalarla eşleştirmek,
- 2) Enfekte personelin başlangıcından itibaren 14 güne kadar hastalarla doğrudan temasa geçmesini engellemek
- 3) Birim-doza göz solüsyonları kullanmak .

Büyük salgınların kontrolü daha sıkı tedbirler gerektirmektedir; bunlar hastaları aciliyetine göre sıralama ve enfekte olduğundan şüphelenilen hastaları enfekte olmayanlardan ayrı bekleme ve muayene odalarına almak ve elektif hastaların muayene ve tedavilerini salgın geçene kadar erteleyerek kliniğe sadece acil vakaları almayı içerir.

## **2.6 BİLDİRİM**

Çoğu Batılı ülke hastane-kaynaklı adenovirüs enfeksiyonlarına sahip olduğundan şüphelenilen ve/veya tanısı koyulmuş olan vakaların bildirilmesini yasal olarak istemektedir. Almanya'da Impfschutzgesetz (IfSG) § 6 (3.5)'ya göre salgın isimsiz olarak bildirilmelidir. Eğer laboratuvar kanıtı bulunmuşsa, bildirim isimle beraber IfSG § 7.5'e göre olmalıdır. Amerika'da ise hastalar eyalet sağlık departmanları tarafından Atlanta Bulaşıcı Hastalıklar Merkezi Epidemiyoloji Dalı'na bildirilmelidir.(40)

## 2.7 Oküler Yüzey

Oküler yüzey kornea epiteli, konjonktiva ve gözyaşı film tabakası tarafından oluşturulan ve birbirleriyle etkileşim halinde olan bir yapıdır. Bu yapının devamlılığını sağlaması için kapakların, kırpma refleksinin ve oküler yüzeyi oluşturan yapıların innervasyonunun, damarlanmasının ve hormonal faktörlerin desteğine ihtiyaç vardır

### 2.7.1 Kornea

Kornea şeffaf ve avasküler bir dokudur. Erişkinde ortalama yatay çapı;11.7 mm,dik çapı; 10.6 mm dir. Korneanın arka yüzeyi daha bombe olduğu için, santralde kornea kalınlığı, periferde göre daha azdır. Kornea histolojik olarak 5 ayrı tabakadan oluşur: epitel, bowman membranı, stroma, descement membranı, endotel. En dış tabaka olan epitel tabakası, oküler yüzeyi oluşturan elemanlardan bir tanesidir.(97)

Kornea Epiteli: Kornea epiteli kornea kalınlığının % 10 (0.05 mm)'unu oluşturan çok katlı keratinize olmayan skuamöz epitel yapısındadır. Epitel ve gözyaşı film tabakası düzgün bir optik yüzey oluşturur. En yüzeyde 2-3 sıra yüzey hücreler, ortada 2-3 sıra kanat hücreler ve en derinde tek sıra bazal hücreler bulunur. Bazal hücreler bazal membrana hemidesmozomlarla bağlanmış tek katlı küboidal hücrelerdir. Bazal hücreler mitotik aktiviteye sahiptir. Bazal hücrelerin üstünde ince kanat (wing) hücreleri yer alır. Keratin adı verilen tonoflaman yönünden zengindir. Bu hücreler, bazal bölgeden yukarıya doğru göç eder ve ara hücre ve yüzeyel hücreleri oluşturur.Yüzey hücreler ince poligonal hücrelerden oluşur. En üstteki hücreler mikrovillus ve mikroplikatalara sahiptir. Bu sayede müsin absorpsiyonunu artıracak şekilde yüzey alanı genişler. Yüzey hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantılar gözyaşının stromaya geçişini önler. Yüzeyel hücreler yedi ile ondört günde farklılaşarak gözyaşı film tabakasına dökülür.(97)

Kornea epiteli içerisinde, nonepitelyal hücreler de bulunmaktadır. Histiyositler, makrofajlar, lenfositler ve pigmente melanositler,korneanın periferinde yer alan hücrelerdir. Antijen sunan Langerhans hücreleri de, korneanın periferinde bulunur ve keratitte santrale ilerlerler.(97)

Epitel bazal membranı, bazal epitel hücreleri tarafından salgılanır ve tip IV kollajen, laminin ve diğer proteinleri içermektedir. Bazal membran ve bazal hücreler arasında hemidesmozom adı verilen bağlantılar bulunur. Bu bağlantılardaki anormallikler tekrarlayan

korneal erozyonlar veya persistan epitel defektlerine neden olur. Bazal membran hasarlanmadan 6 hafta sonra yeniden oluşur. Bu sırada yeni oluşan bazal membran stromaya çok zayıf olarak bağlıdır.

Bowman tabakası stroma ön bölümünde yer alan kısa kollajen liflerden oluşan hücre içermeyen bir yapıdır. Yenilenme yeteneği olmadığından yaralanması skar oluşumuna neden olur. Epiteldeki patolojilerin stromaya yayılmasını önler.

Stroma aselüler bowman tabakası altında kollajen ve proteoglikanların oluşturduğu ekstraselüler matriksten oluşur. Kornea kalınlığının % 90'nını oluşturmaktadır. Keratositler stromanın ana hücreleridir. Yassı ve uzun olup sürekli sindirilir ve yeniden sentezlenirler. Keratosit sayısı ön stromada yoğun olup arka stromaya doğru azalır.

Ekstrasellüler matriks, tip I, V, VI kollajen, dekorin ve lumikan adı verilen proteoglikanlar içerir. Bu matrikse gömülü kollajen liflerin kafes şeklindeki dizilimi korneanın saydamlığını sağlar. Kornea stromasının % 78 oranında su içermesi saydamlığının devamında çok önemlidir. Epitel tabakasının sağlam yapısı ve endotelial pompa fonksiyonu korneal hidrasyonun kontrolünden ve saydamlığın sağlanmasından sorumludur.

Descemet membranı kornea endotelinin bazal membranıdır. Doğumda 3 mikrometre, erişkinde 10-12 mikrometre kalınlığındadır. İridokorneal açıya 2 mm uzaklıkta son bulur. Öndeki stromaya komşu kısım embriyoner hayatta kollajen lifler ve glikoproteinlerden oluşmuştur. Endotele komşu kısım doğumdan sonra endotel hücreleri tarafından salgılanır. Endotele komşu olan kısmı hasarlandığında endotel tarafından tekrar salgılanır.

Endotel tek katlı hekzagonal hücrelerin birbirine sıkıca bağlanarak mozaik patern oluşturdukları tabakadır. Rejenerasyon yeteneği yoktur. Defektif alan hücrelerin genişleyip yayılması ile kapatılmaya çalışılır. Doğumda 4000/mm<sup>2</sup> olan hücre sayısı erişkinde 2500/mm<sup>2</sup>'ye iner. Hücre sayısı 400/mm<sup>2</sup>'ye düşerse korneal ödem oluşur

Korneada damarsal yapı bulunmamaktadır. Sinirleri duyuşal sinirlerdir, N. trigeminusun oftalmik dalı ve uzun silier sinirler ile innerve olur. Sinir uçları, stromada, Bowman tabakası altında ve epitelde sonlanır. Korneada ağrı ve soğuk reseptörleri, ısı ve dokunma duyuşu reseptörlerinden daha fazladır.



## 2.7.2 Konjonktiva

Konjonktiva kapakların iç kısmını ve göz küresinin kornea dışındaki ön kısmını örten mukozal bir yapıdır. Konjonktiva göz küresini örten bulber konjonktiva, kapak iç yüzeylerini örten palpebral konjonktiva ve kendi üzerine kıvrılarak oluşturduğu forniks konjonktivasından oluşmaktadır. Alt ve üst kapakların birleştiği karankül denilen iç köşede semilunar katlantı mevcuttur. Palpebral konjonktiva altındaki tarsi sıkıca, bulber konjonktiva ise tenon kapsülüne zayıf olarak bağlanır. Bu dokular limbusta karışarak Vogt palisadlarını oluşturur. Konjonktiva limbus ve kapak dışındaki bölgelere gevşek olarak tutunmuştur.

Konjonktiva mikroskopik olarak dışta epitel, içte lamina propria tabakası olmak üzere iki kısımdan oluşur. Konjonktiva epiteli değişik bölümlerinde farklı özellikler gösterir. Kapak konjonktivasında keratinleşmemiş silindirik epitel yer alır ve aynı özellikteki epitel, limbusun 2-3 mm çevresinde de bulunmaktadır.

Bulber konjonktivada ise bazal hücreler silindirik şekilde ve yüzeyde ise epitel hücreleri keratinleşmemiş çok katlı yassı epitel hücreleri şeklindedir. Bu bölge konjonktivasında epitel hücrelerinin katları artar ve epitel kalınlaşır. Kapak konjonktivasında epitel hücreleri 2 katlıyken bulber konjonktivada 5 kata kadar çıkar.(97) Konjonktiva epitel tabakasında epitel özelliğinde olmayan başka hücreler de yer almaktadır. Bazal epitel hücreleri arasında melanositler yer alır. Tüm konjonktivada yaygın olarak Langerhans hücreleri (dendritik hücre) ve lenfositler de bulunur. Dendritik hücreler immun cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynayan antijen sunan hücrelerdir. Dendritik hücreler henüz farklılaşmamış T lenfositleri uyatarak primer immun yanıtın oluşmasına yol açmaktadırlar. Aynı zamanda DH'ler B hücre fonksiyonlarının oluşumunda etkili olduklarından humoral immunitenin gelişiminde de önemli rol oynamakta ve immun toleransın oluşumu ve devamını sağlamaktadırlar.

Bunlardan başka, limbus bölgesi hariç, tüm konjonktiva yüzeyinde, özellikle fornikte, karankül ve plika semilunariste daha yoğun olmak üzere, epitel hücreleri arasında mukus salgılayan goblet hücreleri de vardır. Konjonktiva epitelinin yüzeyinde bulunan mikrovilli ve mikropili adı verilen çıkıntı şeklindeki yapıların üzerini ince bir glikokaliks ve hidrofilik özellikteki müsin tabakası örtmektedir. Gözyaşının konjonktiva üzerinde tutunmasında bu yapıların büyük önemi vardır. Bu oluşumlar gözyaşı tabakasının konjonktiva üzerine

tutunmasını kolaylaştırmaktadır. Müsinin goblet hücrelerinin yanı sıra konjonktiva ve kornea epiteli tarafından da salgılandığı gösterilmiştir.(98)

Korneadan farklı olarak konjonktiva epiteli organize bir bazal membrandan yoksundur. Substantia propria üzerinde gevşek olarak bulunmaktadır. Lamina propria epitelinden bir bazal membran ile ayrılır. Üstte lenfoid tabaka altta fibrovasküler tabaka olmak üzere iki tabakadan oluşur. Lenfoid tabakada gözün immunitesinde önemli rol oynayan lenfositler,mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Fibrovasküler tabakada damarlar, lenf yolları ve sinirler mevcuttur. Krause ve Wolfring adı verilen yardımcı gözyaşı bezleri de bulunmaktadır.

Konjonktiva epiteli biyokimyasal ve histolojik olarak kornea epitelinden çok farklıdır. Kornea saydam, düzenli, kırıcılık özelliğı olan damarsız bir yapı iken konjonktiva opak, düzensiz ve vaskülarizedir. Konjonktiva epitelinde bulunan goblet hücreleri gözyaşı film tabakasında bulunan müsinin en önemli kaynağıdır. Tüm oküler yüzey hücrelerinin % 5-10'unu goblet hücreleri oluşturur.(97)

Konjonktiva palpebral arterlerden ve ön siliyer arterlerden beslenir. Konjonktivanın sinirsel uyarımı nervus trigeminusun oftalmik ve maksiller dallarından sağlanır.

### **2.7.3 Gözyaşı**

Gözyaşı, oküler yüzeyin sağlığını ve fonksiyonunu korumak için gereken en önemli oküler yüzey elamanıdır. Gözyaşı;su, enzim, protein, immunglobulin, lipid, metabolit ve polimorfonükleer hücre ve dökülen epitel hücrelerini içeren,kompleks bir solüsyondur.

Baslıca 4 önemli görevi bulunmaktadır:

- 1- Net görme için gereken düzgün oküler yüzeyi sağlamak
- 2- Oküler yüzeyi enfeksiyondan korumak
- 3- Kornea epiteline oksijen,büyüme faktörleri ve diğer bileşikleri ulaştırmak
- 4- Oluşan debriyi ortamdan uzaklaştırmak.

### **Gözyaşının Yapısı**

Gözyaşı filmi müsin tabaka, aköz tabaka, lipid tabaka olmak üzere üç ana komponentten oluşur. Bu üç tabakanın sınırları ve kalınlıkları hala tartışmalıdır. Normal gözyaşı hacmi

6.2µl'dir. Ortalama gözyaşı salgınım hızı ise 1.2 µl/dakika'dır. Her dakikada gözyaşının % 16'sı değişmektedir. Gözyaşının normal buharlaşma hızı ise 0.14 µl/dakika'dır.

Gözyaşının gerçek yapısı tartışmalıdır. Son yirmi yılda edinilen bilgilere göre, gözyaşı üç tabakalı değil iki tabakalıdır. Bu yeni tariflenen gözyaşı filminde, lipid tabakasının altında, müsin konsantrasyonunun epitel yüzeyinden oküler yüzeye doğru azalan konsantrasyonda değiştiği bir aköz müsin jel tabakası bulunmaktadır.(99)

### **2.7.3.1 Müsin Tabaka**

Müsin tabaka, gözyaşı film tabakasının, en iç tabakasını oluşturur. Yüzeydeki kornea ve konjonktiva epitel hücrelerinin yüzeyini örter. Kalınlığı yaklaşık 0,5 mikrondur. Müsin tabaka en fazla konjonktivadaki goblet hücreleri olmak üzere, konjonktiva ve kornea epitel hücreleri, çok az miktarda ise Henle kripleri ve Manz bezleri tarafından salgılanmaktadır.(100)

Goblet hücreleri, gözyaşı film tabakasının, müsin tabakasını salgılayan holokrin hücrelerdir. Konjonktivanın alt ve nazal bölümünde ve pilika semilunaris ile karinkülde daha yoğun olarak bulunurlar. Goblet hücreleri günde 2-3 µlt müsin salgılar. Manz bezleri limbal konjonktivada bulunur. Henle kripleri üst tarsal konjonktivanın 1/3 üst, alt tarsal konjonktivanın 1/3 alt kısmında bulunur.(97)

Müsin gözyaşı film tabakasının en derindeki kısmıdır. İç müköz tabakasının en önemli fonksiyonu korneal epiteli hidrofobik özellikten hidrofilik özelliğe çevirmektir. Glikoprotein yapısında olan müsin epitelyal hücrelerin hücre membranları üzerine yayılır, epitelin mikrovilluslarıyla içeri alınır ve hidrofobik yüzeyi hidrofilik yüzeye çevirip korneal epitelin yeterince ıslanmasını sağlar.

Gözyasında bulunan müsinler; MUC1, MUC2, MUC4, MUC5AC, MUC7, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17 dir. Gözyaşındaki müsinler, salgılanan müsinler ve transmembran müsinler olmak üzere ikiye ayrılır.

Transmembran müsinler, karboksi uçlarında, hidrofobik özellikte, domen (alan) içerirler. Müsinlerin bu özelliği, konjonktiva ve kornea epitel hücrelerinin apikal yüzeyine tutunmalarını sağlar. MUC1, MUC4, MUC13, MUC15, MUC16, MUC17 transmembran müsinlerdir. Transmembran müsinler konjonktiva ve kornea epitel hücreleri tarafından

salgılanmaktadır.(101,102,103) Epitel hücrelerine tutunan transmembran müsinler,oküler yüzeyin üzerini örterler. Böylece, oküler yüzeyin hidrofilik özellik kazanması ve ıslanabilirliği sağlanırken, aynı zamanda patojenlere karşı bariyer oluşturulmuş olur.(104) Transmembran müsinlerin hücre içine, sitoplazmaya uzanan kısa bir kuyrukları bulunur. Bu parça ile hücre içinde, sinyal iletiminde görev alıp EGF (Epidermal Growth Factor) reseptörünü etkileyerek, epitel çoğalmasını düzenlemektir.(105)

Salgılanan musinler musin tabakasının jel kıvamını sağlar(106, 107) MUC2 ve MUC7 salgılanan müsinlerdendir. Salgılanan müsinler goblet hücreleri, gözyaşı bezi ve konjonktiva tarafından üretilir.(108,109) Salgılanan müsinler;polimerler oluşturarak, müsin viskoelastik özellik kazandırır. Böylece gözün açıp kapanması sırasında oluşabilecek, oküler yüzey hasarı engellenmiş olur.

Transmembran ve salgılanan müsinler, oküler yüzey ve aköz tabaka arasındaki müsin tabakayı oluştururlar. Müköz tabakanın gözde en önemli fonksiyonu gözyaşı film tabakasının stabilitesinin korunmasıdır. Normalde hidrofilik olan müsin tabakası, dehidrate olduğunda, hidrofobik agregatlar müsin filamanlar oluşturur. Gözün kırılması ile beraber oküler yüzey taze,temiz bir müköz tabakası ile yeniden örtülür.

Müsin tabakası, debri ve patojenlerin, oküler yüzeyden uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Apolar ve zayıf polar maddeler debri, gram (-) bakteriler, hava yolu ile gelen partiküller hidrate müsinle bağlanırlar. Müsin dehidrate olduğu zaman, bu maddeler oküler yüzeyden uzaklaştırılmaz, epitele bağlanır ve enfeksiyon riski artar.

Müsin tabakanın fonksiyonları: (110)

- 1- Oküler yüzeyin lubrikasyonunu sağlamak;göz kırpma sırasında oluşabilecek travmalardan korumak
- 2- Hidrofobik olan kornea epitelini hidrofilik hale çevirmek, böylece gözyaşının oküler yüzeye dağılmasını sağlamak
- 3- Yüzey gerilimini lipid tabakasının yardımı ile azaltmak, bu yolla gözyaşı filminin stabilitesini sağlamak
- 4- Dökülen epitel hücrelerini, yabancı maddeleri ve bakterileri yakalamak ve atılmasını sağlamaktır.

### 2.7.3.2 Aköz Tabaka

Aköz tabaka gözyaşı film tabakasının orta kısmında yer alır ve gözyaşı bezi ve aksesuar gözyaşı bezleri tarafından salgılanır. Gözyaşının üç komponentinden,kalınlığı en fazla olanıdır; yaklaşık 8 mikron kalınlığındadır.

Aköz tabakanın salgılanması; sempatik, parasempatik uyarılarla ve hormonal olarak düzenlenir.Çevresel ve fizyolojik değişimler,içeriği oluşturan bileşenlerin miktarını etkilemektedir.(111,112) Aköz tabaka gözyaşı bezi ve aksesuar gözyaşı bezleri tarafından salgılanmaktadır.

Gözyaşı bezi, gözyaşının aköz komponentinin büyük kısmını üretir. Frontal kemikte, lakrimal fossa içinde, orbita duvarının üst lateral kenarının altında yer alır. Geniş orbital bölüm ve küçük palpebral bölüm olmak üzere, iki kısımdan oluşur.

Gözyaşı bezi, ekzokrin bir bezdir ve seröz salgı üretir. Trigeminal sinirin lakrimal dalı, gözyaşı bezinden duysal uyarıyı taşır. Salgılama fonksiyonu ise; kolinerjik, VIP(vazoaktif intestinal polipeptiderjik) ve sempatik innervasyon ile gerçekleşir. Gözyaşı bezi ayrıca,alfa1-adrenerjik reseptör de içermektedir. Bezin nöroanatomi, hem refleks hem psikojenik stimülasyonu sağlar ve çok komplikedir.(97)

Aksesuar gözyaşı bezleri olan Krause ve Wolfring bezleri, üst temporal ve daha az olmak üzere alt temporal fornikte bulunmaktadır. Histolojik yapıları gözyaşı bezi ile benzerlik gösterir. Toplam gözyaşının % 10'unu salgırlar(97)

Aköz tabakada; elektrolitler, proteinler, büyüme faktörleri, vitaminler, antibakteriyel moleküller, sitokinler, immunglobulinler ve hormonlar bulunmaktadır. Aköz tabakanın içeriği, oküler yüzeyin beslenmesini ve korunmasını sağlar.(97)

Aköz tabakanın fonksiyonları:

- 1- Avasküler kornea epiteline oksijen ulaştırmak, uygun elektrolit bileşimini sağlamak
- 2-Oküler yüzeyi infeksiyondan korumak

- 3- Kornea yüzeyindeki düzensizlikleri ortadan kaldırmak
- 4- Göz yüzeyinde bulunan debri ve yabancı cisimleri uzaklaştırmak
- 5- Kornea ve konjonktiva epitel hücrelerinin, fonksiyonlarını düzenlemek
- 6- Hücre hareketini sağlayan bir ortam oluşturmaktır.

Gözyaşının aköz komponentindeki azalmaya bağlı olarak mukus sekresyonu çoğalır ve gözyaşı vizkozitesinde artma olur. Gözyaşında mukus ince filamanlar halinde görülür.

Gözyaşına granüler bir görünüm veren lipid partiküller ve ölü hücreler bu filamanlar üzerinde oturarak mukus birikintilerini oluşturur. Hastaların temizlik kaygısı ile yaptıkları mini travmalar mukus oluşumunu artırır, buna mukus avlama sendromu adı verilir.

### **2.7.3.3 Lipid Tabaka**

Lipid tabaka, gözyaşının en dış kısmında yer alır ve 1  $\mu$  kalınlığındadır. En önemli görevi; aköz tabakanın buharlaşmasına engel olmaktır. Ayrıca gözyaşının cilde yayılmasını önler ve antibakteriyel özelliği olduğu düşünülmektedir(113, 114)

Lipid tabaka esas olarak meibomian bezleri tarafından salgılanmakla beraber, çok az miktarda Zeiss ve Moll bezleri tarafından da salgılanmaktadır. Meibomian bezleri değişikliğe uğramış holokrin sebace bezlerdir. Bezler tarsta dik ve birbirine paralel olarak sıralanmışlardır. Göz kapağındaki dağılımları, transillüminasyon ile görülebilir. Üst kapakta 30-40 meibomian bezi ağzı yer alırken, alt kapakta 20-30 meibomian bezi ağzı bulunmaktadır. Bu bezler inervasyona sahip olmayıp hormonal olarak kontrol edilirler.

Meibomian bezi ağzıları, kirpiklerin hemen arkasında yer almaktadır. Meibomian bezlerinde lipid üretilip kanallarda biriktirilir. Artan lipid miktarı, meibomian bezi kanalı içinde basınç oluşturur. Kanal içindeki basınç terminal bölgedeki basıncı aşınca, lipid oküler yüzeye salınır. Kırpma refleksi meibomian bezlerinden lipid salınımına katkıda bulunmaktadır. Ofis çalışanlarında görülen bir oküler yüzey patolojisi olan ofis göz sendromunda, göz kırpmaları arasındaki sürenin uzamasına bağlı olarak lipid tabakasında incelme oluşmaktadır.(115, 116, 117)

Zeiss bezleri; göz kapağında kirpik köküne komşu bölgede ve karinkülde, Moll bezleri göz kapağı kenarlarında bulunmaktadır. Zeiss bezleri,değişikliğe uğramış holokrin sebace bezlerdir ve lipid salgırlar. Moll bezleri ise cildin apokrin ter bezleridir.

Lipid tabaka, iki tabakadan oluşmaktadır. Kalın olan dış tabakayı hidrokarbonlar, trigliseritler ve yağ esterleri gibi nonpolar lipidler oluşturur. İnce olan iç tabaka ise, fosfolipidler gibi polarlipidlerden oluşur. Altteki aköz tabakanın buharlaşmasının engellenmesi, kalın olan nonpolar dış tabaka ile sağlanır. İçteki polar tabaka,surfaktan özelliği ile aköz tabaka ile lipid tabaka arasındaki etkileşimi ve gözyaşı stabilitesini sağlar.(118) İçte yer alan polar lipidlerden;sfingomiyelin ve fosfotidiletanolamin lipid abakası stabilitesinin sağlanmasında önemlidir.Bu iki lipid, iyonik ve hidrojen bağ oluşturabilme özelliğine sahiptir. Kronik blefarite bağlı gelişen kuru gözde bu iki fosfolipid miktarında azalma olmaktadır.(119)

Bir gözyaşı proteini olan lipokalin, lipid tabakanın stabilitesine katkıda bulunur. Lipokalin, polar lipidler ile kompleksler oluşturur ve stabilizeyi sağlar. Aynı zamanda aköz tabakanın yüzey gerilimini azaltmaktadır. Lipid tabakasının fonksiyon görebilmesi için,miktarının yeterli olması ve içeriğindeki lipid fraksiyonlarının oranlarının uygun olması gerekmektedir. Ayrıca pürüzsüz lipid tabakası, ışığın kırılması ve keskin retinal görüntü sağlanması için gerekli olan dioptrik yüzeyi sağlayacak önemli bir öğedir.(120, 121)

Lipid tabakasının fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir:

- 1- Aköz tabakasının buharlaşmasını engellemek,
- 2- Gözyaşı stabilitesini sağlamak,
- 3- Düzgün oküler yüzey oluşturarak, net görmeye katkıda bulunmak,
- 4- Gözyaşının taşmasını engelleyen hidrofobik bariyer oluşturarak, cildin gözyaşı ile temasını önlemektir.

Tablo 3: Gözyaşının Özellikleri

Bileşimi	Su	%98.2
	Solid	%1.8
Kalınlığı	Tümü	6.5-7.5 mikron
	Lipid tabakası	0.1-0.2 mikron
Hacmi	Anestezisiz	7.4 mikron
	Anestezili	2.6 mikron
Sekresyon miktarı	Anestezisiz	
	Schirmer	3.8 µl/dk
	Florofotometri	0.9 µl/dk
	Anestezili	
	Schirmer	1.8 µl/dk
	Florofotometri	0.3 µl/dk
Buharlaşma miktarı		0.06 µl/cm <sup>2</sup> /dk
Osmolarite		296-308 mOsm
Ph		6.5-7.6

## 2.8 Kuru Göz

Görme kalitesininin iyi olması düzgün ve iyi nemlenen oküler yüzey ile sağlanır. Oküler yüzeyin iyi nemlenmesi; yeterli gözyaşı miktarı, uygun gözyaşı kompozisyonu, göz kapaklarının iyi kapanması ve düzenli kırpma fonksiyonu ile sağlanmaktadır.

Kuru göz sendromu; yetersiz gözyaşı üretimi veya gözyaşının yoğun olarak buharlaşması ile gelişen gözyaşı eksikliği, gözyaşı kalite ve kantitesindeki anomali ve oküler iritasyonun



bulunduğu kronik bir tablodur. Klinik tabloyu, oküler yüzeyde hasar ve oküler rahatsızlık semptomları oluşturur.

Kuru göz sık görülen bir tablo olmasına rağmen kuru göz tanımında, tanı yöntemlerinin kullanımında bazı karışıklıklar dikkati çekmektedir. Amerika Birlesik Devletleri Ulusal Göz Enstitüsü'nün (NEI) 1993 ve 1994 yıllarında düzenlemiş olduğu çalışmalar sonucunda kuru göz için kapsamlı bir tanımlama ve sınıflama yapılmıştır. Kuru göz veya keratokonjonktivitis sikka, gözyaşı tabakasının interpalpebral göz yüzeyinde harabiyete neden olan, kuru göz semptomlarına yol açan gözyaşı eksikliği veya aşırı gözyaşı buharlaşması olarak tanımlanmaktadır. Bu tanıma uygun olarak; 2006'de Baltimore Wilmer Göz Enstitüsünde toplanan Delphi paneli hastalığa kuru göz yerine "disfonksiyonel gözyaşı sendromu" adını vermiş ve hastalığı ağırlık derecesine göre seviyelere ayırmıştır. Bu sınıflandırmaya göre disfonksiyonel gözyaşı sendromu (DGS) olan hastalar "kirpik dibi hastalığı olan", "kirpik dibi hastalığı olmayan" ve "gözyaşı dağılım ve temizlenme bozukluğu olan" hastalar olacak şekilde üç ana gruba ayrılmıştır. Her üç kategoride panelistler altgruplar veya spesifik hastalık gruplarını içeren ek sınıflandırmalar yapmış, en sık görülen hasta grubu olan "kirpik dibi hastalığı olmayan" grubu ise kendi içinde hastalığın ciddiyetine göre 4 evreye ayırmışlardır. Aynı zamanda hastalığın ciddiyetine göre her evre için uygun tedavi seçenekleri belirtilmiş ve bazı tedavilerin sadece ciddi kuru göz olgularında uygulanması önerilmiştir.(122, 123)

2007 de yapılan Uluslararası Kuru Göz Çalışmasında (International Dry Eye Workshop - DEWS) kuru gözün tanımı, yeni bilgiler ışığında değiştirilmiştir: 'Kuru göz, oküler rahatsızlık semptomları, görme bozukluğu, gözyaşı instabilitesi ve oküler yüzey hasarına yol açan; gözyaşı ve oküler yüzeyin multifaktöryel hastalığıdır. Gözyaşı osmolaritesinin artışı ve oküler yüzeyin inflamasyonu ile beraber seyretmektedir.(123)

2007 de Kuru Göz Çalışma Grubu (International Dry Eye Workshop), günümüze kadar elde edilen bilgileri derleyerek, etyopatogeneze göre sınıflama yapmıştır. Bu sınıflamaya göre, kuru göz, aköz yetmezliğe bağlı ve buharlaşmaya bağlı oluşan kuru göz olmak üzere, iki ana gruba ayrılmıştır. Çevresel faktörler, ayrı bir grup olarak ele alınmıştır.(123, 124)

Tablo 4: Kuru göz sınıflandırması (DEWS)(124)

ÇEVRESEL FAKTÖRLER	KURU GÖZ	
	AKÖZ GÖZYAŞI YETMEZLİĞİ	BUHARLAŞMAYA BAĞLI OLUŞAN KURU GÖZ (EVAPORATIF KURU GÖZ)
<p><b>İÇ ÇEVRESEL FAKTÖRLER</b>            Göz kırma oranının azalması            Göz kapağı aralığının artması            Düşük androjen, yüksek östrojen seviyesi            Yaşa bağlı oluşan fizyolojik değişimler</p> <p><b>DIŞ ÇEVRESEL FAKTÖRLER</b>            Ortamdaki nem oranının düşük olması            Rüzgarlı hava            Bilgisayar başında uzun süre çalışmak</p>	<p>1) Sjogren Sendromuna bağlı olan aköz yetmezlik            2) Sjogren sendromuna bağlı olmayan aköz yetmezlik</p> <p>A) Primer Gözyaşı Yetmezliği            *Yaşa Bağlı Kuru Göz            *Doğumsal Gözyaşı Bezi Yokluğu (Konjenital Alakrım)            *Familyal disotonomi (Riley Day Sendromu)</p> <p>B) Sekonder Gözyaşı Yetmezliği            *Gözyaşı Bezinin İnfiltrasyonu: Sarkoidoz, lenfoma, AIDS, greft versus host            *Gözyaşı Bezinin Ablasyonu            *Gözyaşı Bezinin Denervasyonu</p> <p>C) Gözyaşı Bezi Kanallarının Obstrüksiyonu            *Trahom            *Skatrisyel Pemfigoid            *Eritema Multiforme            *Kimyasal ve Termal Yanıklar</p> <p>D) Refleks Hiposekresyon (Refleks sekresyonda azalm)            *Refleks Duyusal Blok: Kontakt lens kullanımı, Diabetes Mellitus, nörotrofik keratit            *Refleks Motor Blok</p>	<p>1) Hastaya Ait Sebepler</p> <p>A) Meibomius bezi disfonksiyonu            B) Göz kapağı açıklığının ve göz kapağı-glob uygunluğunun bozulması            C) Göz kırma oranının düşük olması</p> <p>2) Ekstresek Sebepler</p> <p>A) Oküler yüzey bozuklukları            B) Kontakt lens kullanımı            C) Allerjik konjonktivit</p>

## 2.9 Kuru Göz ve Oküler Yüzey Hastalıkları Tanısında Kullanılan Yöntemler

### 2.9.1 Oküler Yüzey Boyanmasının Değerlendirilmesi

Kuru gözde, oküler yüzeydeki epitel hasarı, boyalarla değerlendirilebilmektedir. Klinik uygulamalarda en çok kullanılan boyalar;floresein, rose bengal ve lizamin yeşilidir.

*\*Floresein:* Floresein oküler yüzey hasarını görebilmek için, standart olarak kullanılan sarı renkte bir boyadır. Floresein emdirilmiş şerit şeklindeki kağıtlarla veya damla şeklinde uygulanır. Mavi ışık altında yeşil görülür. En iyi görüntü, sarı bariyer filtre ardından alınmaktadır. Bu yöntem ile hem kornea hem konjonktiva epitelindeki hasar görülebilir. Kuru gözde epitel erozyonları daha çok interpalpebral alandaki açıkta kalan oküler yüzeydedir. Fakat, ağır olgularda,üst bulber konjonktivada ve diğer alanlarda da epitel hasarı görülebilmektedir. Floresein iyi tolere edilen bir boyadır, minimal irritasyona sebep olur.(125)

*\*Rose Bengal (tetraiodotetraklorofloresein):*Rose Bengal boyası, ölü ve hasarlı hücreler tarafından tutularak, oküler yüzeydeki hasarlı alanların görülmesini sağlar. Damla veya boya emdirilmiş kağıt şeritler şeklinde kullanılmaktadır. Rose Bengal ile floresein ile boyanmayan,keratinize konjonktiva epiteli de boyanabilmektedir. Rose Bengal mukus ve filamanları boyarken, floresein sadece mukusu boyar. Rose Bengal'in genelde % 1'lik solüsyonu kullanılır ve kuru göz tanısında değerli bir testtir. Tek dezavantajı damladıktan sonra iritasyona neden olmasıdır ve kuru göz şiddeti arttıkça irritasyon oranı artar. Kuru gözde rose bengal ile tipik olarak boyanma paterni, konjonktivada tabanları limbusa dönük iki üçgen şeklindedir.(126)

Rose Bengal ile, skleranın oluşturduğu beyaz fonun üzerinde konjonktivanın hasarlı epiteli iyi görünse de, korneada hasarlı epitel,koyu iris fonu üzerinde net seçilemeyebilir. İrritasyona sebep olması diğer bir dezavantajdır. Boya uygulanmadan önce, lokal anestetik damla damlatılması veya uygulandıktan sonra steril salin solüsyonu ile boyanın oküler yüzeyden uzaklaştırılması irritasyonu azaltır.

*\*Lizamin Yeşili:* Bir floresein türevidir. Boya uygulandıktan sonra, beyaz ışık altında incelenir. Boyanma paterni Rose Bengale benzer. Ancak Rose Bengal gibi irritan değildir. Floresein boyası gibi iyi tolere edilmektedir.(127)

Kuru gözde oküler yüzeyin boyanma paterni değişik skorlama sistemleri ile derecelendirilebilir. Bunların arasında en sık kullanılan üç yöntem van Bijsterveld sınıflandırması, Ulusal Göz Enstitüsü sınıflandırması ve Oxford şemasıdır.

Van Bijsterveld sınıflandırmasında oküler yüzey 3 zona bölünmüştür: nazal bulbar konjonktiva, temporal bulbar konjonktiva ve kornea. Her zon ayrı ayrı değerlendirilir ve roze bengal ile boyanma derecesine göre 0 (boyanma yok) ile 3 (yaygın boyanma) arası bir skor verilerek derecelendirme yapılır.

Ulusal Göz Enstitüsü sınıflandırmasında kornea ve konjonktiva daha küçük alanlara bölünerek daha ayrıntılı olarak değerlendirilir. Kornea beş sektöre (santral, superior, inferior, nazal ve temporal) bölünerek, konjonktiva ise nazal ve temporalde ayrı ayrı 3 sektörde (superior paralimbal, inferior paralimbal ve periferik) incelenmektedir.

Oxford şeması ise özellikle kuru gözde görülen epitel hasarını derecelendirmek amacıyla geliştirilmiştir. Tüm oküler yüzey, kornea ve konjonktiva ayrımı yapılmadan A ile E arasında (A:boyanma yok, B:minimal boyanma, C:hafif boyanma, D:orta derecede boyanma, E: ciddi boyanma) derecelendirilen bir panele göre değerlendirilmektedir.

## **Gözyaşı Kırılma Zamanı**

### **2.9.2Gözyası Film Stabilitesinin Değerlendirilmesi**

Gözyası stabilitesini değerlendirmek amacıyla uygulanan bir tanı yöntemidir. İlk kez Norn ve Lemp tarafından tanımlanmıştır (128) Normalde gözyası film tabakası korneayı düzgün bir şekilde örtmektedir. Bu film tabakası her göz kırpma ile yenilenmektedir. Eger göz kapakları açık olarak tutulur ve göz kırpma önlenirse gözyası film tabakasında birçok kırılma meydana gelir. Her kırılma noktasının kuru görünen bir tabanı vardır. Başlangıçta oluşan bu kırılma noktaları büyüyerek birleşir ve daha büyük delikler ortaya çıkar. İlk küçük kırılma noktasının ortaya çıkması için gereken süre erişkinde otuz saniyedir. On saniye altında

kırılma zamanı patolojik olarak kabul edilir ve gözyaşı stabilitesinin azaldığını gösterir. Bu,yetersiz gözyaşı salgılanmasına veya yetersiz müsinine bağlı olabilir.(128) Eğer yeterli gözyaşı hacmi ve müsin yoksa göz yaşı iki göz kırpma arasındaki sürede parçalanır ve kuru göz ortaya çıkar. Korneada oluşan kuru alanlar yerel iritasyon hissine yol açar ve göz kırpma mekanizmasının tetiği çekilmiş olur. Aköz ve müsin eksikliğinin bulunduğu birçok hastalıkta yabancı cisim hissi ve sık göz kırpma olağan şikayetlerdir. Ciddi olgularda bu kadar kısa parçalanma zamanı epitel hasarına ve kornea erezyonuna yol açabilir. Gözyaşı film tabakasında suyun buharlaşarak kaybını önleyen ve parçalanma zamanını uzatan önemli bir faktör de lipid tabakadır.

Floresin damla veya floresin emdirilmiş kağıt şeritlerle gözyaşı boyanır. Hasta gözünü bir defa kırpar. Kırpma ile boyanın oküler yüzeyde ilk kırılması arasında geçen süre; gözyaşı kırılma zamanıdır. Gözyaşı kırılma zamanı,noninvaziv bir yöntemle, floresin ile boyama yapılmadan da değerlendirilebilmektedir. Kornea üzerine bir imaj yansıtılır. Göz kırpma ile görüntüdeki kırılma arasında geçen süre gözyaşı kırılma zamanı olarak belirlenir.(129)

Parçalanma fenomeni, prekorneal film tabakasında suyun buharlaşması ile incelmesine ve yüzey gerilimindeki değişikliğe bağlıdır. Göz kırpmanın hemen ardından gözyaşı film tabakası en kalındır (8.7 mikrometre). İki-üç saniye sonra incelmeye başlar, göz kırpma engellenirse 30 saniye sonra gözyaşı film tabakası yarı kalınlığına iner. Göz kırpmanın hemen ardından lipid, aköz tabakasına difüze olur ve müköz tabakasına erişir. Bu lipid geçisi müköz hidrofobik olana kadar devam eder. Gözyaşı film tabakası parçalanır ve kırılma meydana gelir. Gözyaşı parçalanması ilk olarak korneada oluşur. Bu bölge kapak kenarlarındaki gözyaşı şeridinde en uzakta ve en ince olan sahadır. Parçalanma nadir olarak kornea dışı bir sahada görülür. Bunun nedeni gözyaşı film tabakasının kalınlığı veya kornea ve konjonktivanın yüzeyel hücrelerinin mikropolikaları arasındaki küçük farklılıklar olabilir ve sıklıkla göz kırpmayı takiben yer değiştirir.

## 2.9.3 Gözyaşı Miktarının Belirlenmesi

### 2.9.3.1 Schirmer Testi

Gözyaşı miktarını belirlemeye yardımcı olan bir testtir. Kuru göz tanısını koymak için tek başına yeterli olmasa da faydalı bir testtir. 1903'te Schirmer tarafından geliştirilmiştir. Kuru göz sendromunu tespit etmek için uygulanan öncelikli testtir. Watman'ın 41 nolu filtre kağıdı alt kapak forniksini 1/3 dış kenarına katlanarak yerleştirilir, 5 dakika beklenir, değerlendirme kıvrımdan itibaren yapılır. Hastaya gözünü açması söylenir, hasta gerektiğinde gözünü kırpabilir.

Anestezi uygulanmadan yapılan Schirmer I testi ile refleks sekresyon değerlendirilir. Beş dakika sonra ıslaklık miktarı ölçülür. Beş mm'nin altındaki değerler, aköz gözyaşı yetmezliği olduğunu göstermektedir.(130) Anestezi uygulanarak yapılan Schirmer I testi, bazal sekresyonu değerlendirir. Bu testte oküler yüzeyden alınan duyuşal uyarılar engellense de nazolakrimal uyarılar engellenmemektedir. Üç mm'nin altındaki değerler, aköz gözyaşı yetmezliği olduğunu göstermektedir.(131)

Schirmer II testiyle, konjonktivaya ek olarak nazolakrimal stimölasyon ile oluşturulan refleks sekresyon değerlendirilir. Nazal mukoza uyarılarak yapıldığı için hasta için rahatsızlık vericidir. Çok ağır kuru göz olgularında bu test ile Schirmer kağıdının çok az ıslandığı görölmektedir.

Schirmer testinin birçok dezavantajı bulunmaktadır. Sensitivite, spesifisite ve tekrarlanabilirliğinin düşük olması, oküler rahatsızlık ve yüzey hasarına yol açabilmesi, yaşa göre değişkenlik göstermesi, kornea hassasiyetindeki değişikliklerden etkilenebilmesi ve çocuklarda uygulama güçlükleri bunların arasında sayılabilir. Genel olarak Schirmer testi değeri düşük bulunursa ayırıcı tanıda aköz gözyaşı yetersizliği nedenleri, normal sınırlarda ise evaporatif gözyaşı eksikliği nedenleri düşünölmelidir.

### **2.9.3.2 Refleks ve Temel Sekresyon**

Refleks gözyaşı sekresyonu esas gözyaşı bezinin salgısıdır. Doğumdan sonraki birinci ayda başlar ve konjonktiva, kornea, iris, nazal mukozaya, ağız mukozası ve göz kapaklarının uyarılmasıyla oluşur. Esneme, öksürük, kusma, aşırı ışık ve psişik durumlarda da refleks sekresyon oluşur. Kornea ve konjonktivaya topikal anestezi damlatılmasıyla azalır.

Temel sekresyon yardımcı gözyaşı bezlerinin salgısıdır. Normalde kornea ve konjonktiva fonksiyonları için yeterlidir. Doğumla beraber salgılanmaya başlar. Gözyaşının normal hacmi yaklaşık olarak bir gözde 8 mikrolitredir. Esas ve yardımcı gözyaşı bezlerinden ortalama salınım yaklaşık dakikada 1.2 mikrolitredir.

### **2.9.3.3 Fenol Kırmızısı İplik Testi**

Fenol kırmızısı testi, gözyaşı miktarını belirlemek için kullanılan bir tanı yöntemidir. Test için fenol kırmızısı emdirilmiş pamuk iplik kullanılmaktadır. Fenol kırmızısı, gözyaşının nötre yakın pH'ı ile temas edince, sarı renkten kırmızıya dönen bir solüsyondur. Pamuk iplik Schirmer testinde olduğu gibi, bir kısmı alt gözkapağının iç kısmında olacak şekilde yerleştirilir. Onbeş saniye sonra, pamuk ipliğin ıslanan kısmı ölçülür. 6 mm'nin altındaki değerler kuru göz olduğunu göstermektedir. Bu test kişiler arasında Schirmer testi kadar değişiklik göstermediği için, kuru göz tanısında Schirmer testinden daha güvenli olduğu düşünülmektedir. Testin süresi kısa olduğu için nem gibi dış faktörlerden daha az etkilenmektedir.(132)

### **2.9.3.4 Menisküs Hacminin Hesaplanması**

Aköz gözyaşı yetmezliğinde, gözyaşı hacmi azalır. Buna bağlı olarak, menisküs yüksekliği ve kurvatürü de azalmaktadır.(133) Bu slit ışık yansıtılarak alınan fotoğraflar ile veya meniskometri ile değerlendirilebilir.(134)

Menisküs yüksekliği, normal bireylerde 0,2- 0,5 mm arasında değişmektedir. Kuru göz olgularında, menisküsteki gözyaşı, sadece ince bir çizgi şeklindedir.

## **2.9.4 Gözyaşı Temizlenme Zamanının Değerlendirilmesi**

### **2.9.4.1 Floresein Temizlenme Testi**

Gözyaşı devir zamanı (turnover) değişik kuru göz formlarında farklıdır. Floresein temizlenme testi ile gözyaşı turnover'ı hakkında bilgi sahibi olunmaktadır. Beş mikrolitre floresein damlatıldıktan sonra 10., 20. ve 30.dakikaların birinci dakikasında Schirmer kağıdı, alt kapak dış kısmına yerleştirilir. Bir dakika sonra alınan Schirmer kağıdı mavi ışık altında değerlendirilir. Normal bireylerde, 20.dakikada kağıtta hiç floresein saptanmamaktadır. Sjögren sendromuna eşlik eden kuru göz hastalarının % 100'ünde, 20. ve 30. dakikada floresein saptanır. Sjögren sendromuna eşlik etmeyen kuru göz hastalarının % 80'inde 20. dakikada, % 56'sında 30. dakikada floresein saptanır. Meibomian bezi disfonksiyonu olan hastaların, % 40'ında 20. dakikada floresein saptanır fakat, 30. dakikada hiçbirinde floresein saptanmaz. Gözyaşı değişiminin azaldığı durumlarda, inflamatuvar medyatörlerin oküler yüzeyde kalma süresi artmakta ve kuru göz tablosu şiddetlenmektedir.(135)

### **2.9.4.2 Gözyaşında Lizozim Ölçümü**

Kuru göz sendromunda, gözyaşındaki bazı enzimlerin miktarı saptanarak, gözyaşı miktarındaki azalma saptanabilir. Total gözyaşı proteininin % 30'unu oluşturan lizozim, bunlardan biridir.

### **2.9.4.3 Gözyaşı Laktoferrin Ölçümü**

Gözyaşı bezi fonksiyonunu göstermesi bakımından, laktoferrin ölçümü alternatif testlerdendir. Laktoferrin miktarı gözyaşı volümü ile iyi korelasyon gösterir.

### **2.9.4.4 Gözyaşı Mukus Ferning Testi**

Glikoprotein solüsyonları, oda ısısında kurumaya bırakıldığında kristalizasyon gösterme özelliğindedir. Kristalizasyon, yüksek molekül ağırlıklı polimerlerle, elektrolitlerin etkileşimleri sonucu ortaya çıkar.

Ferning testi ile, gözyaşının musin tabakası değerlendirilir. Pipet veya kapiller tüple alınan



gözyaşı lam üzerinde oda ısısında kurumaya bırakılır. Kristalizasyon 5-10 dk içinde meydana gelir. Kuruyan mukus, ışık mikroskobu altında incelendiğinde; eğrelti otuna benzeyen dallanmalar gözlenir.

## 2.10 Kuru Göz ve Oküler Yüzey İnflamasyonu

Kuru gözde etyoloji ne olursa olsun, oküler yüzey inflamasyonu mutlaka tabloya katılır. İnflamasyonu başlatan birçok faktör bulunmaktadır. Bunlar;hiperosmolarite, oküler yüzeyin kuruması, göz kırpma sırasında oluşan mikrotravma, gözyaşı ve kornea sinir liflerinden salınan destekleyici faktörlerin azalması, gözyaşı bezi ve göz kapaklarından salınan proinflamatuvar maddelerdir.

İnflamasyon başladıktan sonra,hasarlanan epitel hücrelerinden açığa çıkan ve dilate konjonktiva damarlarından sızan lenfositlerin ürettiği sitokinlerle, inflamasyon sürmektedir. Özellikle şiddetli kuru göz olgularında inflamasyon şiddeti giderek artar.(137)

Oküler yüzeydeki inflamasyon, epitelde skuamöz metaplaziye, glikokaliks kaybına ve goblet hücre kaybına sebep olur. Bu değişimlerin sonucu olarak, oküler yüzeyin ıslanabilirliği azalmaktadır. Oküler yüzeydeki hücre değişimlerinde, sitokinlerin önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Sitokinler, epitelde keratinizasyona, hipoesteziye, müsin ekspresyonunun değişmesine ve kornea neovaskülarizasyonuna sebep olurlar.(138-141) Gözyaşındaki büyüme hormonlarının, vitamin A'nın kaybı ve korneadaki sinir liflerinden salınan nörotrofik faktörlerin eksikliği de inflamasyona katkıda bulunmaktadır. (142)

Oküler yüzey inflamasyonu,sadece üst tabakalarda sınırlıdır. Sitokin ve lenfositlerin daha derindeki katlara ulaşması epitel tabakası ve bowman tabakasıyla ile engellenmektedir. Bu tabakalar, travma ile, fotorefraktif keratektomi gibi cerrahi girişimlerle iyatrojenik olarak veya ağır oküler yüzey inflamasyonuna sekonder olarak hasar görebilmektedir. Stromadaki keratositlerin sitokinlerle etkileşimi sonucunda, subepitelyal skarlaşma ve stromada incelme oluşur.(143)

## 2.11 İmpresyon Sitolojisi

Konjonktival impresyon sitolojisi oküler yüzeyden örnek alınmasını sağlayan bir yöntemdir. Güvenilir, ağrısız ve basittir. İlk defa Egbert ve Thatcher tarafından 1977 yılında basit konjonktiva biyopsisi olarak tanımlanan impresyon sitolojisi, çeşitli patolojilere bağlı olarak gelişen konjonktiva epitelindeki hücresel düzeydeki değişikliklerin tanısı ve takibinde kullanılan noninvazif, kolayca tekrarlanabilen ve güvenli bir yöntem olarak bildirilmiştir.

Konjonktivanın sitolojik basısı, konjonktivanın yüzeysel tabakalarının sitolojik düzeyde incelenmesi amacıyla sellüloz asetat filtre kağıdını konjonktiva yüzeyine yapıştırarak, epitel örneklerinin alınması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemin konjonktiva epitel morfolojisi, sitoplazma nükleus oranı, hücre morfolojisi ve özellikle goblet hücre yoğunluğu hakkında bilgi vermesi nedeniyle kuru göze neden olan hastalıkların irdelenmesi konusunda önemli olduğu vurgulanmıştır.(144, 145)

İmpresyon sitolojisi topikal anestezi uygulanabilir. Ancak nadiren hastalar hücre tabakasının ayrılışını iğne batmış gibi hissedebilirler. Nitekim topikal anestezi, sonucu etkilememektedir. Elde edilen örneklerde goblet hücre sekresyonları ve goblet hücreleri ve epitel hücreleri bulunur.

Konjonktiva yüzeyi hücre dağılımı ve morfolojik özellik bakımından bölgesel farklılıklar gösterir. Bundan dolayı, konjonktivanın yalnız bir bölgesinden alınan insizyonel biyopsi örneklerinin değeri kısıtlıdır. İmpresyon sitolojisi ile aynı anda birkaç bölgeden örnek alınabilir. İmpresyon sitolojisi örneklerinde özellikle goblet hücre sayısı, alınan konjonktiva bölgesine göre farklılık gösterir. İlk defa 1910 yılında normal insan gözünde goblet hücreleri tespit edilmiş, ayrıca goblet hücre yoğunluğunun en fazla alt nazal kadranda olduğu ve 35 yaşından sonra stabil kaldığı gösterilmiştir. İmpresyon sitolojisinde bazı hücrelerin üst üste gelmesi sonucu morfolojik ayrıntıların incelenmesinde güçlükler görülebilmesi bu yöntemin dezavantajıdır.(146)

Konjonktiva sitolojik bası yöntemi ilk defa 1977'de Thatcher ve Egbert tarafından kullanılmıştır.(144, 45) Thatcher geliştirdiği yöntem ile konjonktivitlerde konjonktivanın

sitolojik,eksfolyatif ve eksüdatif durumlarını incelemiş ve bu yöntemin konjonktivitlerin ayırıcı tanısındaki faydasını vurgulamıştır. Egbert konjonktivanın yüzeysel hücrelerini alabilmek için (fotoğraf filmi ,duralon gibi sentetik filtreler) çeşitli yapışkan bantlar kullanmış, deneyler sonucunda sellüloz asetat filtre kağıdının en uygun olduğunu bulmuştur. 1979'da Adams normal konjonktivanın müköz sistemini incelemek için sitolojik bası ve india boya tekniği ile araştırmalar yapmıştır.(147)

İmpresyon sitolojisi tekniği üzerine geniş araştırmalar yapan Nelson, sitolojik bası tekniği ile 1982'de oküler yüzey hastalıkları ve oküler pemphigoitte, 1983'de kuru göz sendromunda, 1984'te normal gözler ve oküler yüzey hastalıklarında goblet hücre yoğunluğunu incelemiştir. (146, 147, 148)

Tseng 1985 yılında sitolojik bası yöntemi ile oküler yüzey hastalıklarını incelemiş, metaplazi süreci için yeni bir derecelendirme sistemi geliştirmiştir.(149)

İmpresyon sitolojisi almak için 0.022 ile 0.025 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) por büyüklüğüne sahip sellüloz asetat filtre kağıtları (Sartorius, 11107–50–N) kullanılmaktadır. Sellülöz asetat filtre kağıtları 3x4 mm,dikdörtgen şeklinde kesilip,mat yüzeyi konjonktivaya gelecek şekilde, dişsiz bir penset yardımıyla alt kenarı limbustan 2 mm uzakta olacak şekilde bulber konjonktivaya 3–4 saniye süre ile hafifçe bastırılır (şekil 10.a). Filtre kağıdı süngersi yapıdaki küçük boşluklar sisteminden oluşmaktadır. Konjonktiva epitelinin en yüzeydeki hücre katı örnek alınımı sırasında bu boşluk sistemi içine bastırılmakta böylece filtre kağıdı ile yüzeyel hücre tabakası arasında sıkı bir ilişki oluşturulmaktadır. Filtre kağıdı konjonktivadan çekildiği zaman, epitelin bir ya da birkaç hücre katı filter kağıdı üzerindekalmaktadır.(136)

Alınan impresyon sitoloji örnekleri %96'lık etil alkol içeren solüsyonlarda fikse edilerek, +4°C'de buzdolabında saklanır (şekil 2.1.b.). Preparatlar Periodic Acid Schiff (PAS) ve/veya Hematoksilen ile boyanır. Preparatlar boyama işleminden sonra ışık mikroskopunda incelenir. Bu inceleme sırasında epitel hücrelerindeki morfolojik değişimler incelenir. Hücrelerdeki anizositoz varlığı, çekirdek sitoplazma oranı, nükleer kromatindeki yapısal değişikliğin (yılanvari kromatin) varlığı, goblet hücre yoğunluğundaki değişimler değerlendirilir. Normalde goblet hücreleri, konjonktivanın değişik bölgelerinde birbirinden oldukça farklı hücre yoğunluklarına sahiptir.(136)

Goblet hücrelerinin sayımı için örneklerden rastgele bir alan seçilir. 10x40'lık büyütme alanına (10x40'lık büyütmede bir mikroskop alanı  $0.19 \text{ mm}^2$ ) düşen goblet hücreleri sayılır. Sayım 5 komşu mikroskop alanında gerçekleştirildikten sonra ortalama değer bulunur. Bu şekilde  $1 \text{ mm}^2$  alana düşen goblet hücre sayısı hesaplanır. Konjonktiva sitolojik bası ile hücre morfolojisi ve goblet hücre yoğunluğunu incelemek için değişik evrelendirme sistemleri kullanılabilir.(136)

Bu evrelendirme sistemleri Nelson, Tseng ve Siani tarafından tanımlanan sistemlerden oluşmaktadır.

#### Nelson Sınıflaması (136)

**Evre 0:** Epitel hücreleri küçük ve yuvarlaktır. Sitoplazma eozinofilik boyanır nükleus büyük ve bazofiliktir. Nükleositoplazmik oran:1/2'dir. Goblet hücreleri sayıca fazla, yoğun, dolgun ve oval karakterde olup PAS pozitif sitoplazmalıdır.

**Evre 1:**Epitel hücreleri biraz daha büyük ve poligonaldır. Sitoplazma eozinofilik boyanır. Nükleus büyümeye başlamıştır. Nükleositoplazmik oran: 1/3'tür. Goblet hücreleri sayıca azalmış olmasına rağmen büyüklükleri aynı, dolgun ve oval, PAS pozitif sitoplazmalıdır..

**Evre 2:** Epitel hücreleri daha büyük ve poligonaldır. Değişik boyanma gösteren sitoplazma ve nadiren multinükleus vardır. Nükleositoplazmik oran: 1/4 - 1/5 dir. Goblet hücreleri sayıca belirgin biçimde azalmış, küçülmüş ve kaybolmaya başlamıştır. Hücresel sınırları belirsizleşmiştir. Daha hafif olarak PAS pozitif boyanma vardır.

**Evre 3:**Epitel hücreleri çok büyük ve poligonaldır. Renkleri açıktır ve katlanmalar gösterir. Sitoplazma bazofilik boyanır.Nükleus küçük, piknotik ve çoğu hücrede mevcut değildir. Nükleositoplazmik oran:1/6'dan büyüktür. Goblet hücreleri çok az ya da tamamen kaybolmuştur.

#### Tseng Eveleme Sistemi(149)

**Evre 0:** Normal konjonktiva epitelini mavi yeşil sitoplazmalı, nükleus/sitoplazma oranı 1/1 olan epitel hücreleri ve bunların arasında goblet hücreleri.

**Evre 1:** Keratinizasyon olmadan goblet hücre yoğunluğunda azalma. Epitel hücrelerinde hafif büyüme, nükleus/sitoplazma oranı 1/2-1/3 arası.

**Evre 2:** Keratinizasyon oluşmadan goblet hücrelerinde total kayıp, tüm epitel hücreleri orta derecede büyümüş ve yassılaştı. Sitoplazmaları mavi yeşil ile hafif pembe arasında venükleus/sitoplazma oranı: 1/4.

**Evre 3:** Erken ve orta derecede keratinizasyon, tüm epitel hücrelerinde belirgin skuamöz yapı gelişmiş, bazı epitel hücreleri görülür düzeyde keratin içermekte, sitoplazmada metakromatik pembe renkte değişim, çekirdek piknotik görünümde, nükleus/sitoplazma oranı 1/6.

**Evre 4:** Orta derecede keratinizasyon evre 3'teki skuamöz ve metakromatik büyük epitel hücrelerinin arasında yoğun keratin filamanları ve keratohiyalin granülleri içeren hücreler, nükleus /sitoplazma oranı:1/8.

**Evre 5:** İleri derecede keratinizasyon, çekik sitoplazma ve daha yoğun keratin filamanları, çekirdekler belirgin olarak piknotik veya litik görünümde.

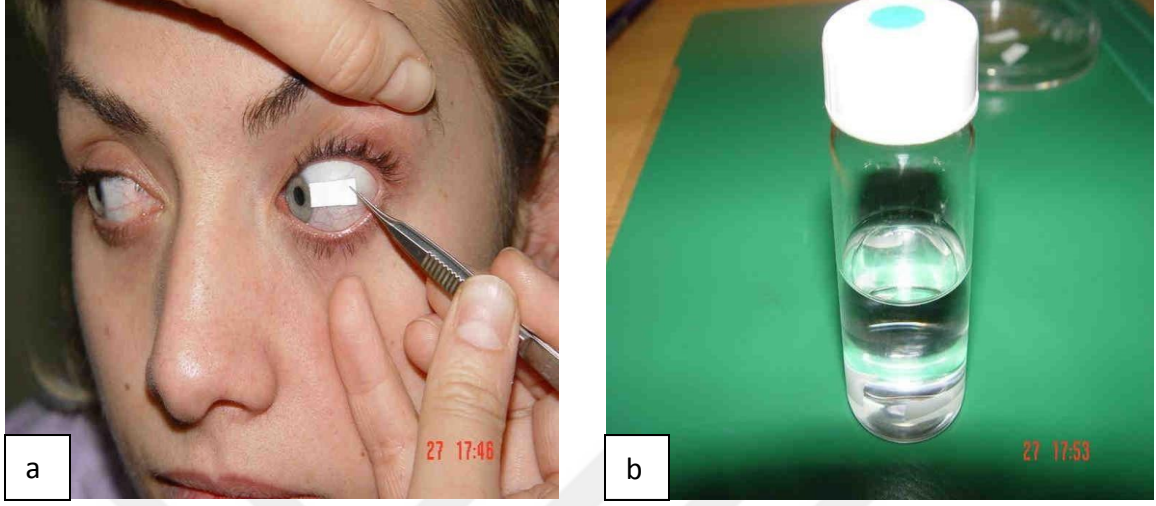
#### Saini Evreleme Sistemi(150)

**Evre 1:** Düzgün bir tabaka halinde küçük ve yuvarlak birbirine benzeyen epitel nükleus/sitoplazma oranı:1 /2, çok sayıda koyu PAS pozitif boyanan goblet hücreleri.

**Evre 2:** Düzgün bir tabaka halinde,daha büyük poligonal epitel hücreleri nükleus/sitoplazma oranı:1/3, sayısal olarak biraz azalmış fakat halen koyu PAS pozitif goblet hücreler

**Evre 3:** Daha büyük poligonal epitel hücreleri ve küçülmüş nükleus/sitoplazma oranı sıklıkla hafif boya alan az sayıda goblet hücreleri.

**Evre 4:** Yamalar tarzında elde edilen örnek üzerinde, piknotik çekirdeklere sahip, büyük, poligonal, bazofilik epitel hücreleri sıklıkla hücre içi keratin görünümü, kaybolmuş goblet hücreleri.



Şekil 10: İmpresyon sitolojisi alım tekniği(a), alınan örneğin saklanması(b)(Kaynak:Metindoğan ve ark, Başkent Üniv,2009)

Bu çalışmada,2016 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran adenoviral konjonktivit geçirmiş ve geçirmemiş aynı yaş grubundaki hastaların konjonktival goblet hücre sayısı ile morfolojisinin karşılaştırılması ve adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda gelişen kuru gözün etiyolojisinin saptanması amaçlanmıştır.

### 3.MATERYAL VE YÖNTEM:

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniğinde daha önce adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş 64 hastanın 95 gözü vaka grubu olarak, adenoviral keratokonjonktivit geçirmemiş normal 55 bireyin 92 gözü kontrol grubu olarak çalışmamıza dahil edildi. Kuru göz tanı kriterleri olarak Schirmer testi değerinin 10 mm'nin altında,gözyaşı kırılma zamanının ise 10 sn'nin altında olması ve impresyon sitolojisi skorunun yüksek olması belirlenmiştir. Vaka grubunu adenoviral keratokonjonktivit aktif dönemindeyken polikliniğimizde tanı alıp kornea departmanımızda takiplerine devam edilen hastalar oluşturdu. Kontrol grubunda başka sistemik hastalığı olan, sistemik ya da göz hastalığına yönelik ilaç tedavisi alan, daha önce oküler cerrahi geçirmiş, kapak ve kirpik deformitesi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Çalışmamız için KOÜTF etik kurulundan çalışma onayı alındı (Karar No:2016/13.9 sayı). Çalışmaya katılan tüm hastalara aydınlatılmış onam formu okutulduktan sonra yazılı olarak izinleri alındı. Çalışmaya alınan tüm hastalara görme keskinliği, göz içi basıncı ölçümü, ön segment muayenesi ve fundus muayenesini içeren tam bir oftalmolojik muayene yapıldı.

Schirmer I testi için, 5 mm genişliğinde 35 mm uzunluğundaki 41 numara Whatman filtre kağıdı kullanıldı. Hastalara işlemden önce bir damla topikal anestezi madde % 0,4'lik proparakain hidroklorid [Alcaine (Alcon Couvreur,Puurs,Belgium)] damlatıldı. Bir dakika beklendikten sonra Schirmer kağıdının 5 mm'lik kısmı kıvrılarak, alt kapak dış 1/3'üne yerleştirildi. Beş dakika sonra ıslanma miktarı, kapak kenarına denk gelen bölümden itibaren ölçüldü.

Gözyaşı kırılma zamanı biyomikroskopta floresein damlatıldıktan sonra geniş ışık huzmeli ve kobalt mavisi filtreli bir biyomikroskop kullanılarak izlendi. Kornea alanında göz kırpmasının durması ile ilk kırılma göstergesi kuru siyah noktanın görülmesi arasında geçen zaman saniye olarak ölçüldü ve üç ölçüm yapılarak ortalaması alındı. On saniye altındaki değerler azalmış kabul edildi.

İmpresyon sitolojisi örnekleri %0,5'lik proparakain hidroklorid damlatılarak lokal anestezi sağlandıktan sonra alındı. Örnek alınan göz kaydedildi. Por büyüklükleri 0.022 ile 0.025 mikrometre ( $\mu\text{m}$ ) olan sellüloz asetat filtrekağıtları (Sartorius, 11107-50-N) temporal interpalpebral konjonktiva için 3 mm en,4 mm boy olacak şekilde dikdörtgen

olarak kesildi. Dişsiz bir penset yardımıyla mat yüzeyi limbusa 2 mm uzaklıkta olacak şekilde temporal bulber konjonktivaya 3–5 sn bastırılmıştır. Filtre kağıdı yapıştığı konjonktivadan yavaşça kaldırıldıktan sonra fiksasyon solüsyonuna konuldu.

Fiksasyon ve Boyama: Üzerinde konjunktiva epitel örneği taşıyan filtre kağıtları, her biri ayrı ayrı olarak % 70'lik etil alkol, % 37'lik formaldehit ve glasial asetik asitin 20:1:1 oranındaki karışımı içeren flakonlarda fikse edilerek, + 4°C'de buzdolabında saklandı. İşlem sırasında her biri ayrı ayrı kaşelere aktarılarak, Periodic Acid Schiff (PAS)-Hemalun ile boyandı.

1. Distile su ile yıkama (5 dk.)
2. % 0.5 periyodik asit ile oksidasyon (3-5 dk)
3. Distile su ile yıkama (5 dk)
4. Schiff reaktifi ile boyama (3-4 dk)
5. Çeşme suyunda yıkama (5 dk)
6. Hemalun ile boyama (2 dk)
7. Çeşme suyunda yıkama (5 dk)
8. Asit alkolde çalkalama (1 dk)
9. Çeşme suyunda yıkama (5 dk)
10. %1 'lik amonyaklı su (2 dk)
11. Çeşme suyunda yıkama (5 dk)
12. Distile su ile yıkama (2 dk)
13. %95 'lik alkol (1 dk)
14. %95 'lik alkol (1 dk)
15. %100'lük alkol (1 dk)
16. %100'lük alkol (1 dk)
17. Ksilol (1 dk)
18. Ksilol (1 dk)
19. Entellan ile kapama.

Işık Mikroskopunda İnceleme ve Değerlendirme: Filtre membranlar boyama işleminden sonra deneklerin isimleri ve hangi gözden alındıkları yazılı olan lamlara



aktarılarak Olympus BX51 ışık mikroskopunda incelendi. Rastgele dört büyük büyütme alanında (10x40'lık büyütme alanı) PAS pozitif reaksiyon veren Goblet hücreleri sayılarak kaydedildi. Böylece 1 mm kareye düşen goblet hücre sayısı belirlendi. (10x40'lık büyütmede bir mikroskop alanı 0.24mm<sup>2</sup>)

### Tiplendirmede Materyal Yöntem

Aynı popülasyondaki hastalardan adenoviral keratokononktivite aktif döneminde başvuran 6 hastadan konjunktival sürüntü örnekleri alındı. 5 hastada adenovirüs DNA (+) saptanırken 1 hastada adenovirüs DNA(-) saptandı. Adenovirüs DNA (-) saptanan hasta çalışma dışı bırakıldı.

Konjunktival sürüntü örnekleri naylon fiber silgiç kullanılarak (UTM Kit, Copan Diagnostics CA USA) alındı ve buz üzerinde laboratuvara taşındı. DNA izolasyon kiti (Ribospin vRD, GeneAll, Korea) kullanılarak 300 µl örnekten DNA izolasyonu yapıldı. Örneklerde adenovirüs varlığı PCR yöntemi ile araştırıldı. Bu amaçla önce Adenovirüs'e özgü primer çifti kullanıldı (151). Adenovirüs DNA'sı pozitif örneklerin serotiplerinin belirlenmesi amacıyla da 6 farklı serotipe özgü primerler ile multiplex PCR işlemi gerçekleştirildi (Tablo 5) (152).

Klasik PCR için 94°C'de 1 dakika, 50°C'de 1 dakika ve 68°C'de 1 dakika olmak üzere toplam 30 döngü kullanıldı. Döngüler sonunda son uzama için 68°C'de 5 dakika bekletildi. PCR için iCycler Thermal Cycler (Bio-Rad, USA) cihazı kullanıldı. PCR ürünlerini görüntülemek amacıyla 5 µl ampikon %1,5'luk agaroz jelde yürütüldü ve oluşan bantlar Geneline Image SCI (United Kingdom) cihazında görüntülendi.

**Tablo 5.** PCR 'larda kullanılan primer isimleri, dizileri ve büyüklükleri

Serotip	Primer İsmi	Primer Dizisi	Büyüklük (Bp)
Adenovirüs	ADHEX1F	5'- CAA CAC CTA YGA STA CAT GAA -3'	475
	ADHEX1R	5'- KAT GGG GTA RAG CAT GTT -3'	
Ad3	AdnB1	5'- TAC CCY TAT GAA GAT GAA AGC -3'	517
	Adn3t	5'- TGT TTT TAA ATA AGG TGT TAA CG -3'	
Ad7	Adn7t	5'- GCC ATT ATT TGA CAG TTG GCT GT -3'	404

Ad4	Adn4F	5'- ACC AGT AGT ACA GAA ACA GGA G -3'	295
	Adn4t	5'- CTT GAG CAC TGC TTA CTG TGC C -3'	
Ad8	AdnD1	5'- AAG GGA TGT CAA ATT CCT GGT C -3'	243
	Adn8t	5'- CCT TGA GTG ATA CAT TTT G -3'	
Ad19	Adn19/37t	5'- GCA AGC TCA AGT TTT TTA TCA GTA T -3'	333
	AdHxD	5'- AGC TTC AAA CCC TAC TCG -3'	
Ad37	AdHx37t	5'- ACT CCG CCT CCT GTT TGT ACA GG -3'	935

Multiplex PCR için 94°C'de 1 dakika, 50°C'de 1 dakika ve 72°C'de 2 dakika olmak üzere toplam 35 döngü olacak şekilde uygulandı. Denatürasyon için 94°C'de 3 dakika, son uzama için ise döngüler sonunda 68°C'de 5 dakika bekletildi. PCR için iCycler Thermal Cycler (Bio-Rad, USA) cihazı kullanıldı. PCR ürünlerini görüntülemek amacıyla 5 µl ampikon %1,5'lük agaroz jelde yürütüldü ve oluşan bantlar Geneline Image SCI (United Kingdom) cihazında görüntülendi.

### 3.1 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı. Normal dağılıma uygunluk testi Kolmogorov-Smirnov Testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren nümerik değişkenler ortalama +/- standart sapma, normal dağılım göstermeyen nümerik değişkenler medyan (25.persantil - 75. persantil) olarak verildi. Gruplar arasındaki farklılık normal dağılıma sahip olan nümerik değişkenler için student-t testi ile, normal dağılıma sahip olmayan nümerik değişkenler için ise Mann Whitney U Testi ile belirlendi.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak önemlilik için yeterli kabul edildi.

#### 4.BULGULAR

Çalışmamıza vaka grubundan 41 kadın 23 erkek olmak üzere toplamda 64 hasta, kontrol grubundan 23 kadın 32 erkek olmak üzere 55 birey dahil edilmiştir. Hastaların bir bölümü iki gözlerinden diğer bölümü tek gözden adenoviral keratokonjonktivit geçirmişlerdi. Vaka grubunda en küçüğü 21 en büyüğü 83 yaşında olan hastaların yaş ortalaması 47(30-60), kontrol grubunda en küçüğü 23 en büyüğü 81 yaşında olan bireylerin yaş ortalaması 43(30,5-58) olup istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır. Vaka grubundaki hastalardan en yeni adenoviral konjonktivit geçiren hasta 4 ay önce, en eski adenoviral konjonktivit geçiren hasta 11 yıl önce tanı almıştır.

**Tablo 6.**Hastaların demografik özellikleri

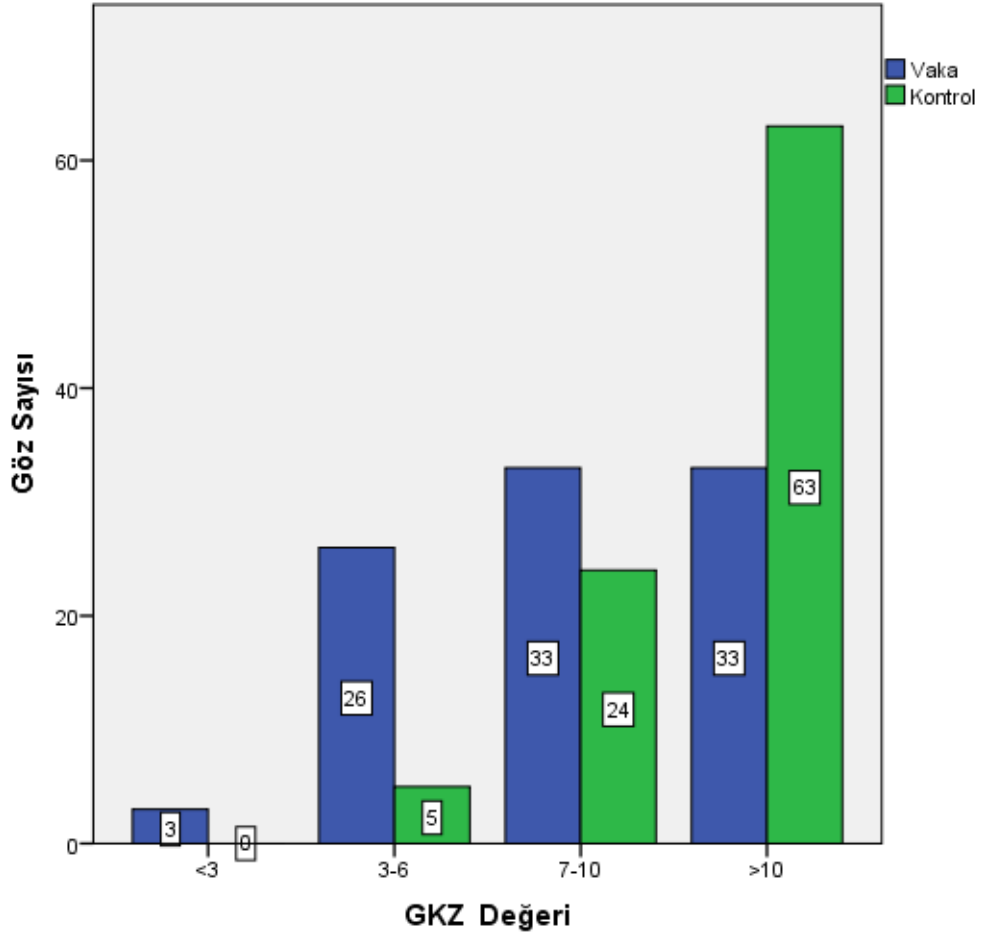
	Vaka grubu	Kontrol grubu
<b>K/E</b>	41/23	23/32
<b>Yaş ortalaması(yıl)</b>	47(30-60)	43(30,5-58)

#### 4.1 Gözyaşı Kırılma Zamanı Sonuçları

Adenoviral konjonktivit geçirmiş olan vaka grubunun ortalama GKZ değerleri  $8.16 \pm 2.98$  sn, adenoviral konjonktivit geçirmemiş olan kontrol grubunun ortalama GKZ değerleri  $11.1 \pm 3.20$  sn olarak bulundu. GKZ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( **$p < 0,001$** )

**Tablo 7 .**GKZ sonuçları

	Vaka grubu	Kontrol grubu	P değeri
<b>GKZ değerleri</b>	$8.16 \pm 2.98$ sn	$11.1 \pm 3.20$ sn	<b>(<math>p &lt; 0,001</math>)</b>



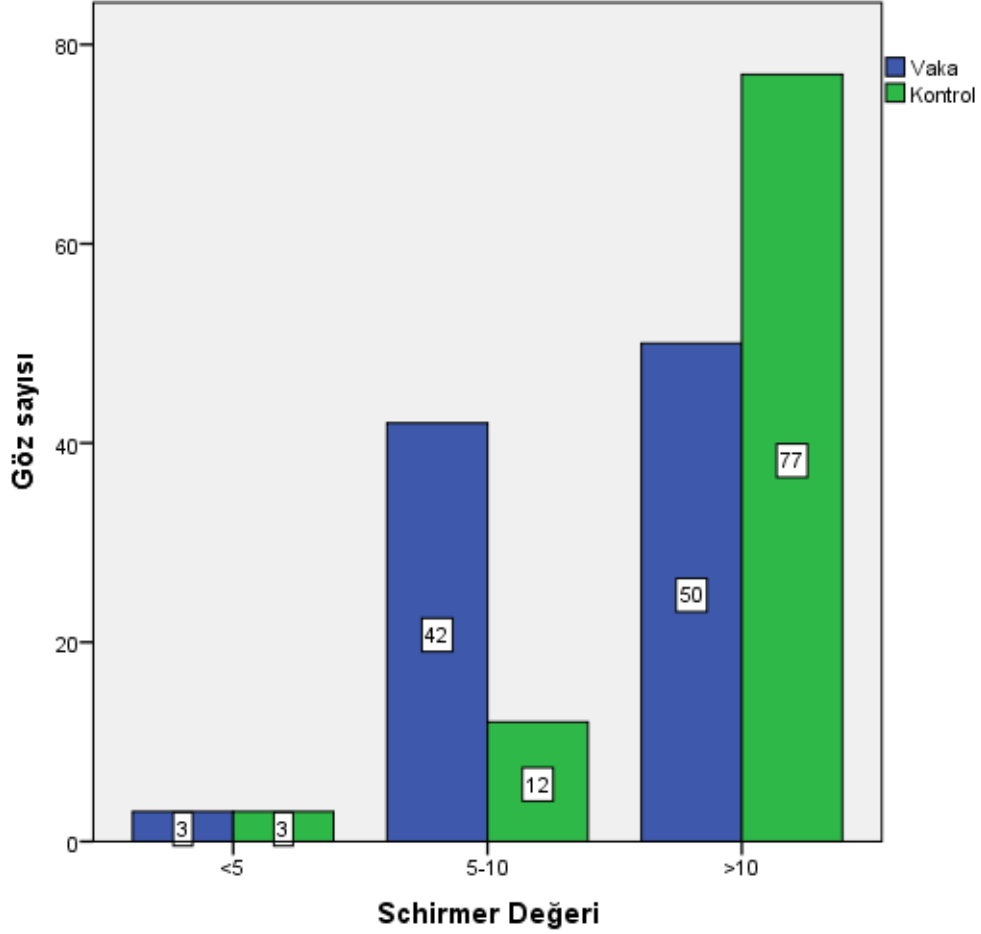
**Grafik 1.**Hasta ve kontrol gruplarının GKZ sonuçlarının grafiksel dağılımı

#### 4.2.Schirmer Testi Değerleri

Adenoviral konjonktivit geçirmiş olan vaka grubunun ortalama schirmer değerleri 10.0 mm(8.0-13.0), adenoviral konjonktivit geçirmemiş olan aynı yaş grubundaki kontrol grubunun ortalama schirmer değerleri 14.0 mm(10.25-17.0) olarak saptandı. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p<0,001$ )

**Tablo 8.**Schirmer testi sonuçları

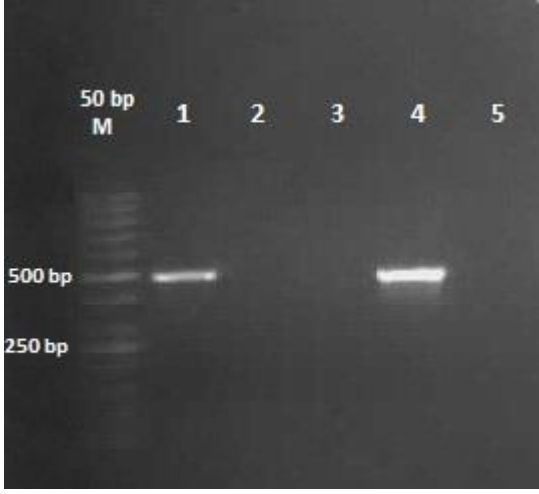
	Vaka grubu Median(25-75 percentile)	Kontrol grubu Median(25-75 percentile)	P değeri
Schirmer testi değerleri	10(8-13)	14(10,25-17)	(p<0,001)



**Grafik 2.** Hasta ve kontrol gruplarının schirmer test sonuçlarının grafiksel dağılımı

### 4.3 Adenovirüs Serotiplendirme sonuçları

PCR testi sonucunda adenovirüs DNA sını saptanan 5 sürüntü örneğinde yapılan serotiplendirmede 4 hastada Adenovirüs serotip 8 (243 bp), 1 hastada Adenovirüs serotip 3 (517 bp) saptandı.



**Şekil 11.** Adenovirüs PCR sonucu.

50 bp M: 50 base pair DNA marker

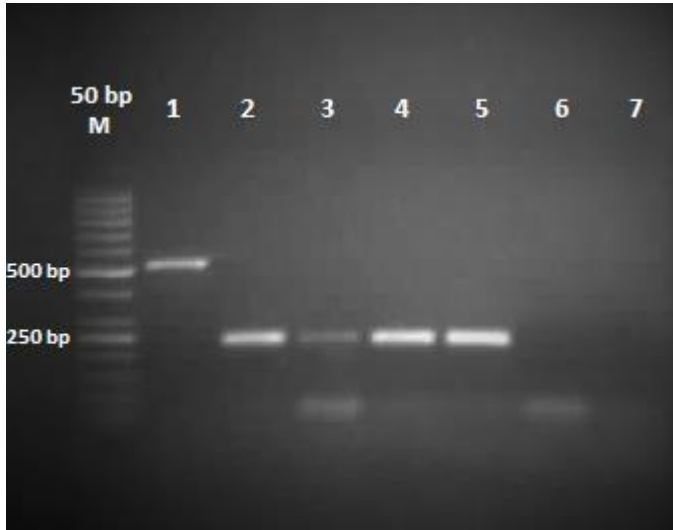
1: Pozitif hasta

2: Negatif hasta

3: Negatif hasta

4: Adenovirüs pozitif kontrol (475 bp)

5: Adenovirüs negatif kontrol



**ŞEKİL 12.** Adenovirüs tiplendirme sonuçları:

50 bp M: 50 base pair DNA marker

1: Adenovirüs serotip 3 (517 bp)

2: Adenovirüs serotip 8 (243 bp)

3: Adenovirüs serotip 8 (243 bp)

4: Adenovirüs serotip 8 (243 bp)

5: Adenovirüs serotip 8 (243 bp)

6: Negatif kontrol

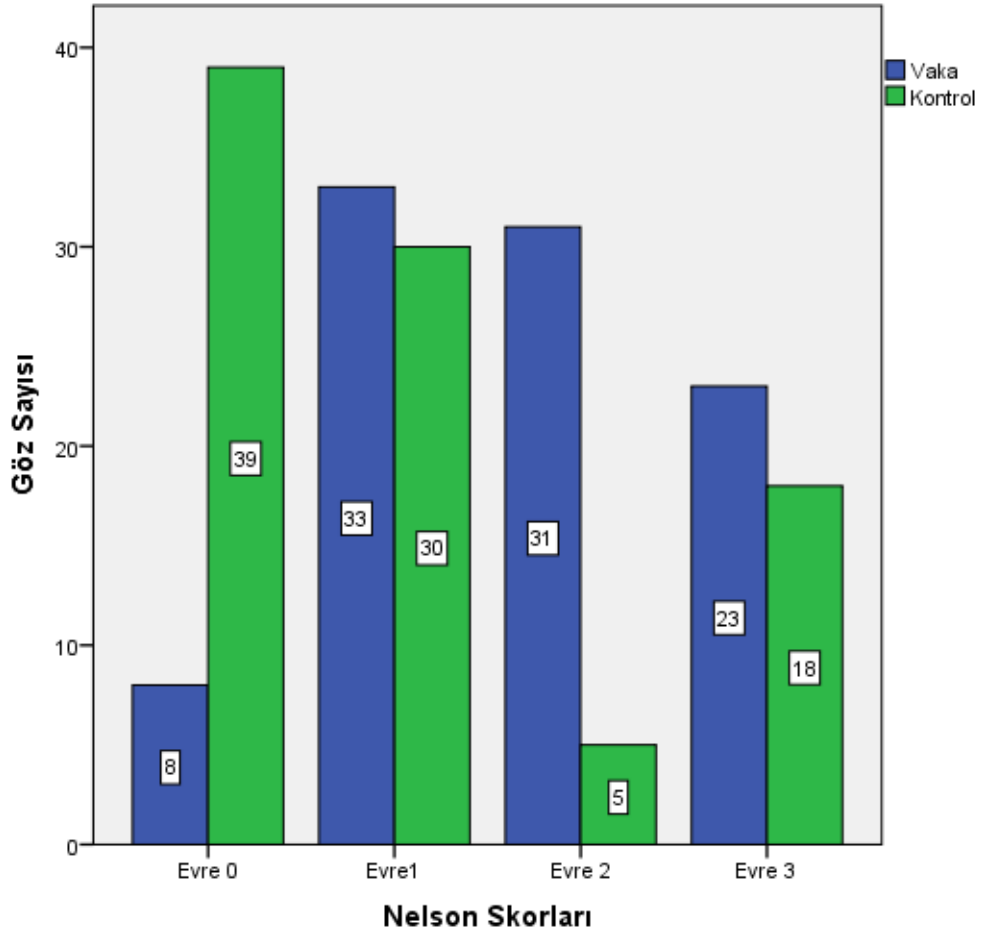
7: Karışım kontrol

#### 4.4.İmpresyon Sitolojisi Değerlendirme Sonuçları

İmpresyon sitolojisi değerlendirmeleri konjonktivada goblet hücre sayısında azalma ve epitel hücrelerinde skuamöz metaplazi olduğunu gösterdi. Adenoviral konjonktivit geçirmiş olan vaka grubunun ortalama impresyon sitolojisi skoru 2.0(1.0-2.0), adenoviral konjonktivit geçirmemiş olan kontrol grubunun ortalama impresyon sitolojisi skoru 1.0(0.0-1.75) olarak saptandı. Hasta ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (**p<0,001**)

**Tablo 9.**İmpresyon sitolojisi skoru değerleri

	Vaka grubu Median(25-75 percentile)	Kontrol Grubu Median(25-75 percentile)	P değeri
İmpresyon sitolojisi skoru	<b>2.0(1.0-2.0)</b>	<b>1.0(0.0-1.75)</b>	<b>(p&lt;0,001)</b>



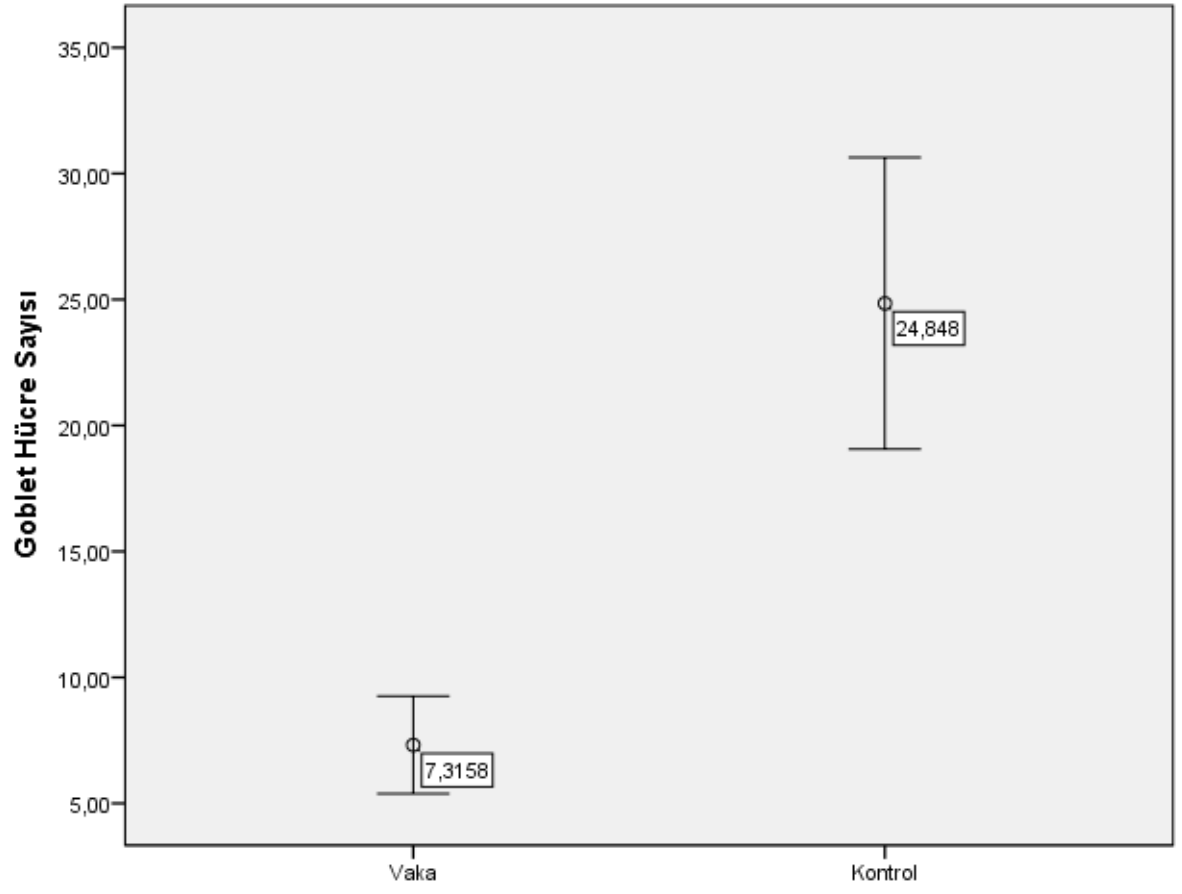
**Grafik 3.** Hasta ve kontrol gruplarının Nelson skorlarının grafiksel dağılımı

Vaka grubunda 1 mm kareye düşen ortalama goblet hücre sayısı 4.0(2.0-10.0), kontrol grubunda 1 mm kareye düşen ortalama goblet hücre sayısı 16.0(4.25-36.75) olarak saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. ( $p<0,001$ )

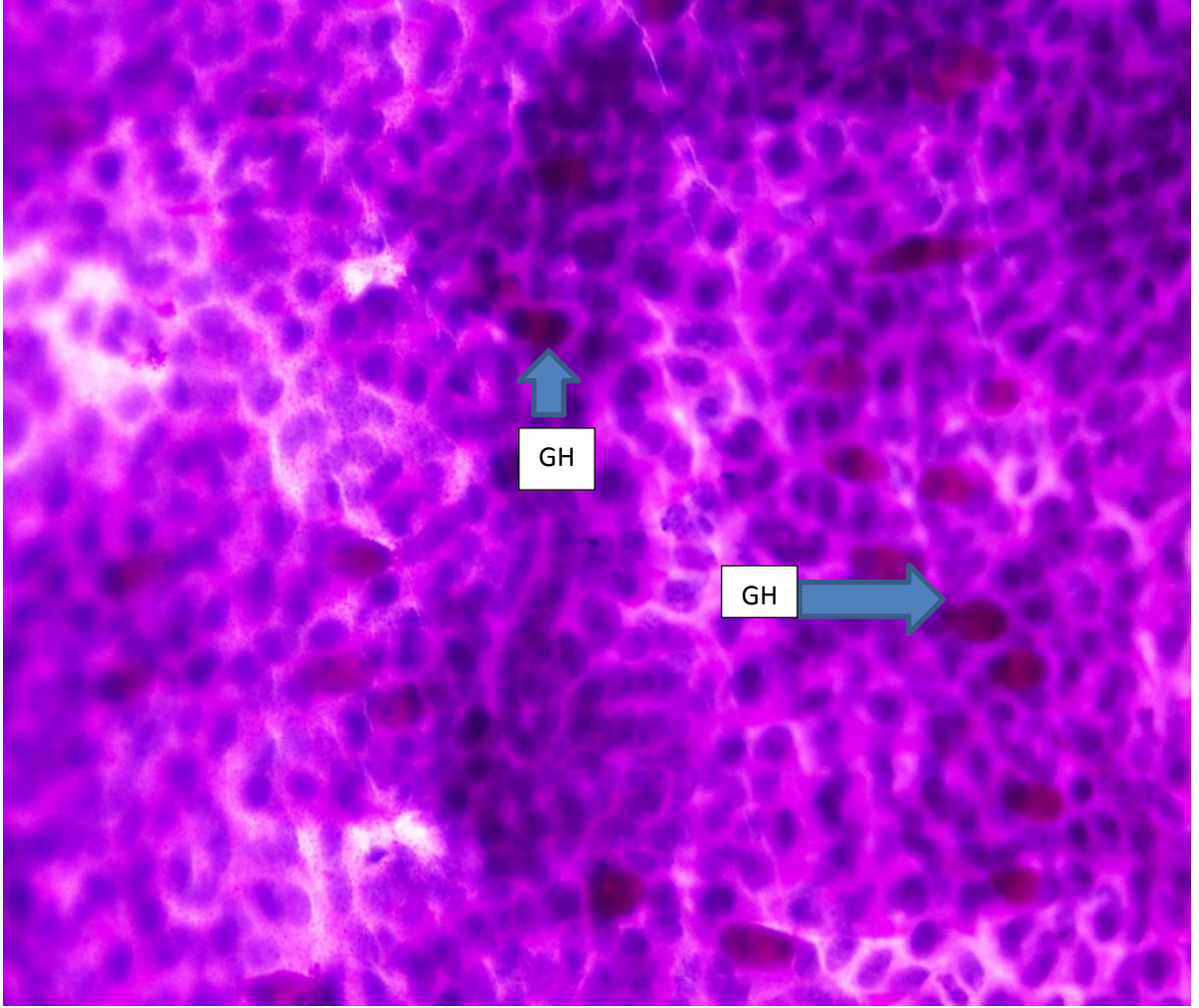
**Tablo 10.**Goblet hücre sayısı sonuçları

	Vaka grubu Median(25-75 percentile)	Kontrol grubu Median(25-75 percentile)	P değeri
Goblet hücre sayısı	4.0(2.0-10.0)	16.0(4.25-36.75)	( $p<0,001$ )

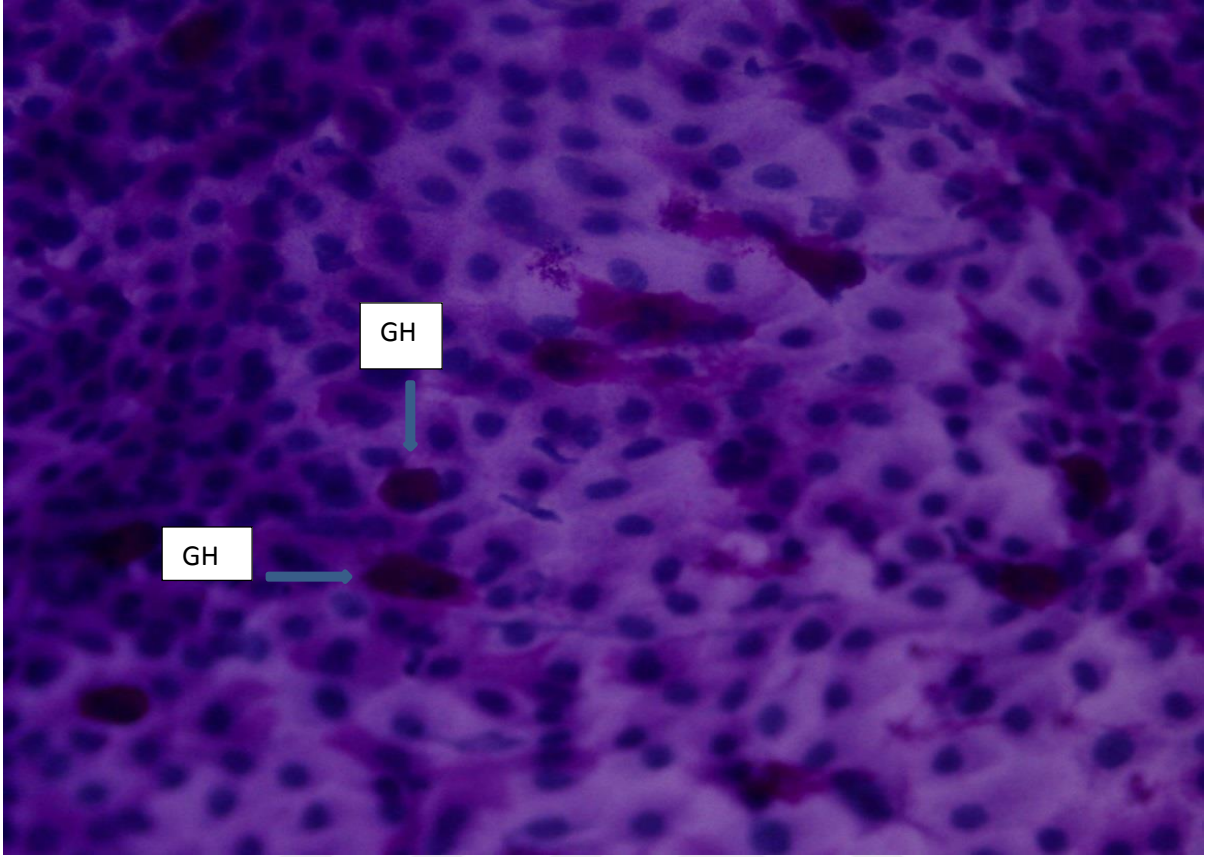




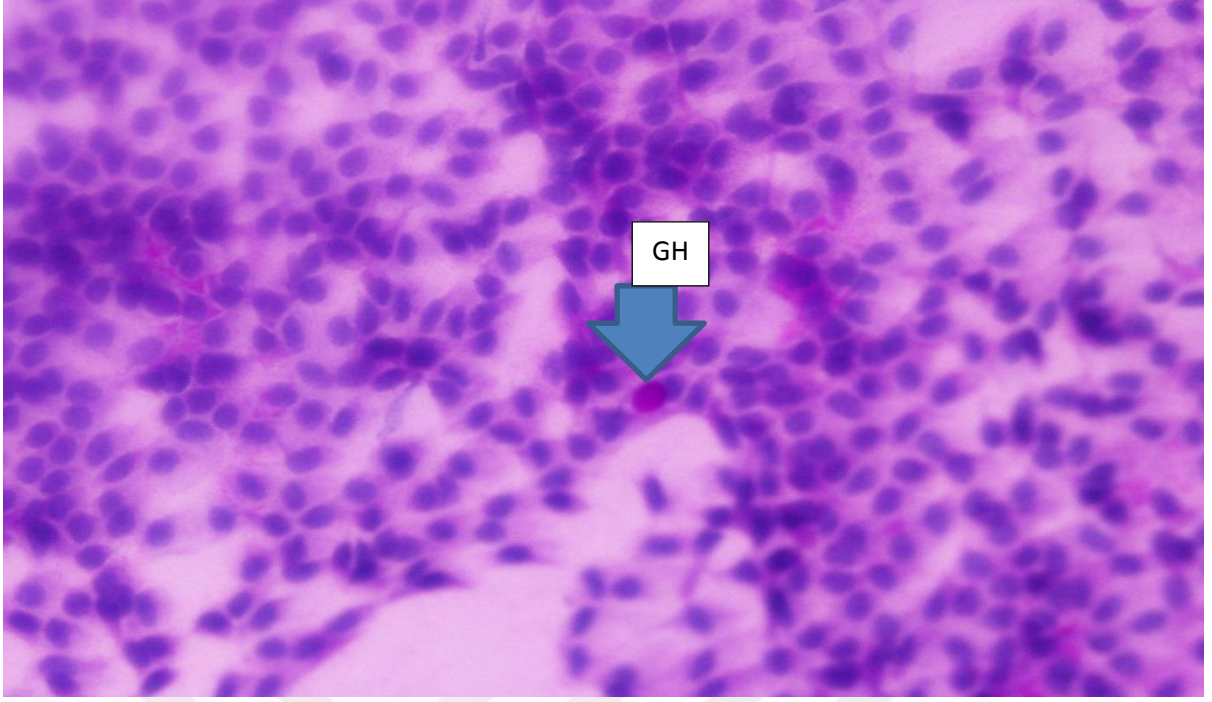
**Grafik 4.** Hasta ve kontrol gruplarının goblet hücre sayısının grafiksel dağılımı



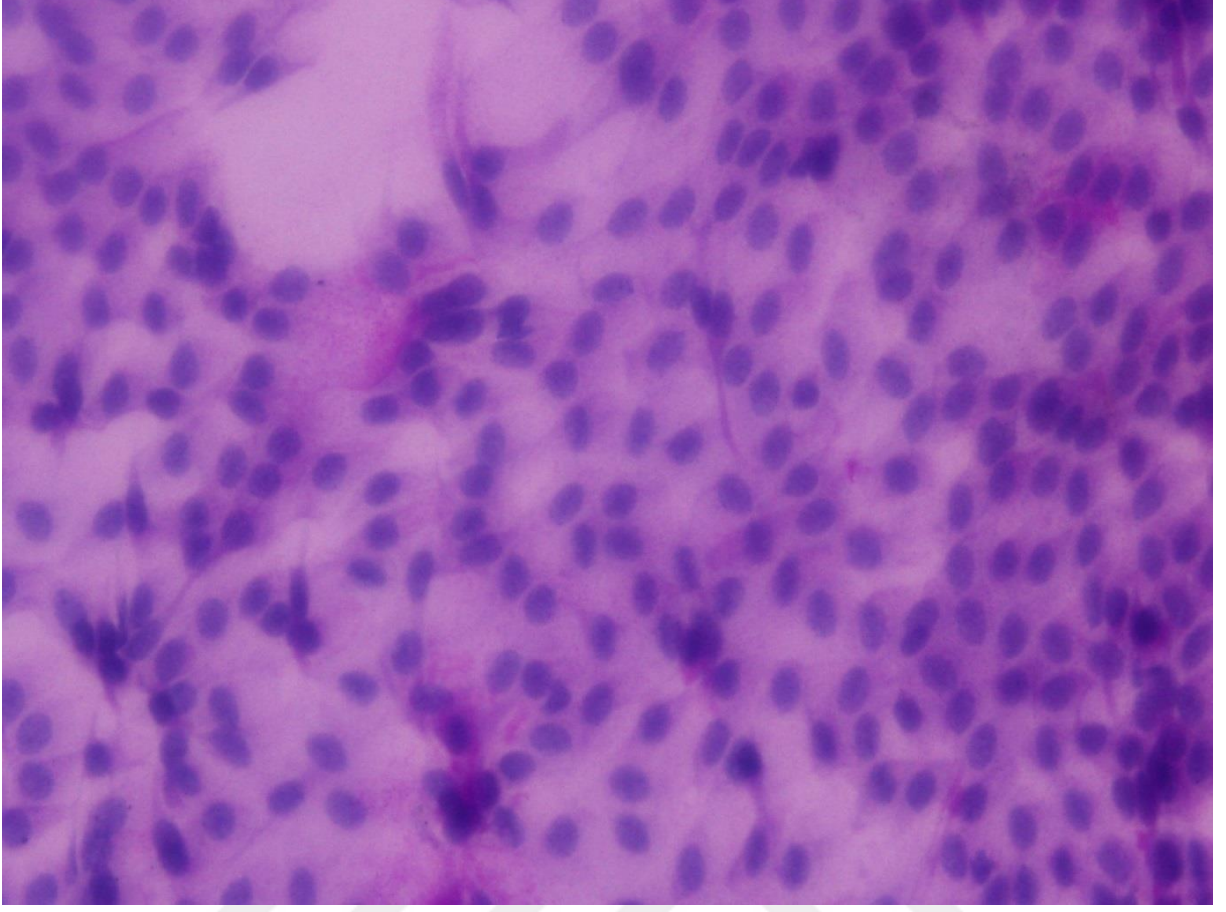
**ŞEKİL 13** İmpresyon Sitolojisi. Nelson evre 0. Goblet hücreleri sayıca fazla, yoğun, dolgun ve oval karakterde olup PAS pozitif stoplazmalıdır. (PAS-Hematoksilen,10x40'lık büyütme)  
GH: Goblet Hücresi Kontrol grubundan bir impresyon sitolojisi örneği)



**ŞEKİL 14** İmpresyon Sitolojisi.Nelson evre 1. Goblet hücreleri sayıca azalmış olmasına rağmen büyüklükleri aynı, dolgun ve oval, PAS pozitif stoplazmalıdır. (PAS-Hematoksilen, 10x40'lık büyütme) GH: Goblet Hücresi. (Kontrol grubundan bir impresyon sitolojisi örneği)



**ŞEKİL 15** İmpresyon Sitolojisi. Nelson evre 2. Goblet hücreleri sayıca belirgin biçimde azalmış, küçülmüş ve kaybolmaya başlamıştır. Daha hafif olarak PAS pozitif boyanma vardır. (PAS-Hematoksilen, 10x40'lık büyütme) GH: Goblet Hücresi. (Vaka grubundan bir impresyon sitolojisi örneği)



**ŞEKİL 16** İmpresyon Sitolojisi. Nelson evre 3. Goblet hücre sayısında belirgin azalma ve skamöz metaplazi görülmektedir. (PAS-Hematoksilen, 10x40'lık büyütme) GH:Goblet Hücresi. (Vaka grubundan bir impresyon sitolojisi örneği)

## 5.TARTIŞMA

Adenovirüsler, çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalarda da viral keratokonjonktivit etkenleri arasında ilk sırada yer almaktadır (1, 156). A.B.D'nin Florida eyaletinde viral oküler enfeksiyonları inceleyen bir çalışmada, 1987 – 2001 yılları arasında toplanan 1964 örnekte konjonktivadan izole edilen viral etkenler arasında adenovirüslerin ilk sırada yer aldığı (%66) saptanmıştır (163). Japonya'nın ulusal surveyans programında yer alan 2007 – 2011 yılları arasındaki raporlara göre de, adenovirüsler EKK etkenleri arasında ilk sırada gelmektedir (164).

Adenoviral keratokonjonktivitler, sporadik enfeksiyonlar veya toplumda, göz kliniklerinde, yataklı servislerde hızla yayılan ciddi salgınlar şeklinde görülebilirler. Sonuçta, bu enfeksiyonlar, hastaların uzun süre iş yada okuldan uzak kalmasına, kalıcı kornea hasarına ve hastanelerde meydana getirdikleri salgınlarla maddi ve manevi problemlere neden olabilirler(153). Tüm bu nedenlerle adenoviral keratokonjonktivitlerin hızlı bir şekilde tanınması, oluşabilecek salgınlara hazırlıklı olunması ve gerekli enfeksiyon kontrol önlemlerinin alınarak yayılımın engellenmesi hem toplum sağlığı hem de hastane enfeksiyonları açısından büyük önem taşımaktadır.(154,155).

Epidemiyolojik çalışmalar, toplumda dolaşan adenovirüs genotiplerinin belirlenmesi ve salgınların mevsimsel özelliklerinin saptanması konusunda veri sağlayarak salgınlara ilişkin önlemlerin alınmasına yardımcı olmaktadır. Japonya ve Amerika gibi bazı ülkelerin bu konuda ulusal surveyans programları bulunmaktadır (156-158). Mevsimsel patternlerin viral serotiplere ve çalışma grubuna bağlı olduğu bildirilmekle birlikte, Florida'da adenoviral konjonktivitlere en çok yaz ve sonbahar aylarında rastlandığı rapor edilmiştir (113). Japonya'dan yapılan çalışmalarda ve ulusal surveyans programının raporlarında değişik veriler olmakla birlikte enfeksiyonların daha çok bahar ve yaz aylarında olduğu görülmektedir. Bunun yanında özellikle son yıllarda, tüm dünyadan oküler adenovirüs enfeksiyonlarında saptanan genotipler ile ilgili moleküler çalışmaları içeren birçok yayın yapılmıştır. ( 159, 160).

Türkiye'de keratokonjonktivite neden olan adenovirüs genotipleri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Yağcı ve arkadaşlarının (161) 2003-2004 yıllarında toplanmış dokuz adet olguya ait çalışması ile Ersoy ve arkadaşlarının (162) neonatal yoğun bakım ünitesinde meydana gelen adenoviral konjonktivit salgınına ilişkin 14 olguya ait sekans analizi bu alandaki nadir yayınlardır.

Literatürde göz enfeksiyonlarına neden olan adenovirus genotiplerine ilişkin çalışmalarda ülkeler, bölgeler ve yıllar arasında farklılıklar görülmekle birlikte en sık rastlanan genotipler 3, 4, 8, 19 ve 37'dir (3, 165). Bu tipler arasında, genotip 8, 1959 yılında ilk izole edildiğinden beri EKK'e neden olan temel ajandır. Konjonktival epitele olan tropizmi daha fazladır ve ciddi klinik, patolojik bulgulara neden olmaktadır (160). Bu genotipin toplumda sebat ettiği, oküler muayene araçları ile taşınabildiği ve birçok ülkede sporadik veya nazokomiyal salgınlara neden olduğu bildirilmiştir(166-171).

Japonya ulusal sürveyans programının 2005-2006 verilerine göre adenoviral EKK etkenleri arasında tip 2, 3, 4, 8, 11, 19 ve 37'ye rastlanmıştır;3 ve 8'in baskın olduğu bildirilmiştir.(163) Aynı yıllar arasında Tokyo'dan yapılan bir çalışmada genotip 3, 8 ve 11'in en çok saptanan genotipler olduğu rapor edildi (172). Meksika'dan 2005-2006 (158) ve Norveç'ten 1989-1996 yılları arasındaki adenoviral olguları değerlendiren (173) çalışmalarda değişik genotipler saptanmış, Salgınlar sırasında ise genotip 8'in baskın olduğu bildirilmiştir. Macaristan'dan 2006 yılında genotip 8'in neden olduğu bir salgın bildirilmiştir (174). Suudi Arabistan'da 2002-2007 yılları arasında toplanan 65 örneğin incelendiği çalışmada genotip 8 örneklerin %67'sinde saptanmıştır. (175).Ülkemize coğrafi açıdan yakın olan Yunanistan'ın Selanik şehrinde, 1998-2000 yılları arasında sporadik vakalardan izole edilen 10 adenovirus'un 4'ünde genotip 8'e, 4'ünde genotip 4'e rastlanmıştır (160). Aynı çalışmada 2002 yılında meydana gelen bir salgın sırasında izole edilen 19 adenovirusun 18'inin genotip 8 olduğu belirlenmiştir. Tüm bu çalışmalar daha önce de belirtildiği gibi yıllar ve ülkelere göre genotiplerin değişebildiğine fakat salgınlarda sıklıkla genotip 8'e rastlandığına dikkat çekmektedir.

Ülkemizden Yağcı ve arkadaşlarının Ankara'da yaptıkları çalışmada dokuz örnekte genotip 3, 4 ve 8'e rastlanmıştır ve genotip 8'in baskın olduğu bildirilmiştir. Malatya'dan bir neonatal yoğun bakım ünitesindeki salgına ait 16 örneğin, 15'inde adenoviral DNA pozitif bulunmuş; bunlardan 14'ünün genotip 8 olduğu belirlenmiştir .

Erdin ve arkadaşları İzmir 2006-2010 yıllarına ait 101 örneğin incelendiği çalışmada genotip 8'in baskın olduğunu, onu genotip 4'ün izlediğini bildirmişlerdir. Saptanan diğer genotipler ise 3, 19, 22 ve 37'dir.

Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'ne aynı hasta popülasyonundan daha önceki yıllar içerisinde başvuran adenoviral keratokonjonktivitli olgularda yapılan tiplendirme çalışmalarında olguların % 75 inde genotip 8, % 25 inde genotip 3 saptandı. Yine Kocaeli Üniversitesi Hastanesi Göz Hastalıkları Polikliniği'ne 2016 yılı içerisinde adenoviral keratokonjonktivit aktif döneminde başvuran hastaların 5 inde yaptığımız adenovirus serotiplendirme sonucuna göre hastaların % 80(4 hasta)'inde genotip 8 , % 20 (1 hasta)'sinde genotip 3 saptanmıştır. Bu sonuç daha önceki tiplendirme çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonuçlarla uyum gösterdi. Çalışmamızın kısıtlılıkları, örneklerin Kocaeli'de tek bir merkezden toplanmış olması ve hastaneye başvuran olguları değerlendirmesidir.

Az sayıdaki örnekle ve sınırlı bir bölgede yapılmış olan bu çalışmalardan ülkemizle ilgili çıkarımlar yapmak mümkün değildir. Ülkemiz yada bölgemizdeki populasyonda dolaşan adenovirus genotiplerini ve varsa salgınları belirleyebilmek için daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Schirmer testi temel ve refleks gözyaşı üretiminin yeterliliğini nicel olarak değerlendiren bir testtir. Anestezili Schirmer testi gözyaşının bazal sekresyonunu değerlendirirken, anestezişiz Schirmer testi refleks ve bazal salınımı değerlendirmektedir. Anestezili Schirmer testi bazal sekresyonu ölçerken, anestezişiz Schirmer testi bazal+refleks sekresyonu birlikte ölçmektedir. Bazal sekresyon oluşumunda yardımcı gözyaşı bezleri ve konjonktival epitel önemli fonksiyona sahiptir. Refleks gözyaşı salgısının çoğunluğu lakrimal gland tarafından sağlanmaktadır. Karalezli ve ark'nın(187) izotretinoin kullanan hastalarda yaptıkları çalışmada hem anestezili hem de anestezişiz Schirmer testi değerlerine bakılmış anestezişiz Schirmer testi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptamazken, anestezili Schirmer testi değerleri izotretinoin tedavisi sonrası azalmış ve bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu meibomian bez disfonksiyonu ile ilişkili olarak gözyaşındaki lipid profilindeki bozulma ile ilişkili bulunmuştur. Çakmak ve arkadaşlarının yumuşak kontakt lenslerin konjonktiva yüzeyine etkisini inceledikleri çalışmalarında yumuşak kontakt lens kullanıcılarının schirmer değerlerinin kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı düşüş gösterdiği görülmüştür.(183) Bunun kontakt lenslerin gözyaşı film tabakasının buharlaşmasında artışa ve kornea duyarlılığında azalmaya neden olarak gözyaşı yapımının azalmasına yol açmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş olan vaka grubundaki hastalarımızın ortalama schirmer değerleri



10.0(8.0-13.0) mm olarak saptanmış olup bu değer adenoviral konjonktivit geçirmemiş olan kontrol grubundaki ortalama schirmer değerinden( 14.0(10.25-17.0) ) düşüktür. Hasta grubtaki ortalama schirmer değerlerinde saptanan azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu azalmada vaka grubundaki azalmış konjonktival goblet hücre sayısına bağlı olarak gelişen yetersiz göz yaşı hacmi bir etkenken tek faktörün bu olduğu da söylenemez. Etiyolojinin daha detaylı ortaya çıkarılması için daha fazla ve çok merkezli çalışmanın yapılmasına ihtiyaç vardır.

Gözyaşı kırılma zamanı,gözyaşının stabilitesini gösteren, gözyaşı film fizyolojisinin önemli bir indeksi ve gözyaşı filminin klinik değerlendirmesinde kalitatif ve kantitatif testlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Gözyaşı kırılma zamanı lipid ve müsin salgısının değerlendirilmesinde çok önemlidir. Goblet hücreleri aralarında MUC 5AC'nin de bulunduğu çözünebilir müsinlerin gözyaşına salınımından sorumlu hücrelerdir. Çözünebilir müsinler gözyaşı film tabakasının viskozitesini ve direncini artırmaktadır (178). Argüeso ve ark. çalışmalarında kuru göz hastalarının gözyaşında bulunan çözünebilir müsinin sağlıklı bireylerdekinden belirgin derecede düşük olduğunu saptamışlardır (180). Zhao ve ark.'nın çalışmasında da MUC5AC proteininin sağlıklı bireylerde yaşa ve cinsiyete bağlı değişmediği ancak kuru göz hastalarında bu proteinin azalmış olduğu bildirilmiştir.(179) Musin eksikliğinde Schirmer etkilenmez ama GKZ değerlerinin azalması beklenir. Gözyaşının stabilitesi bileşiminin uygunluğu ile yakından ilişkilidir. Eğer yeterli gözyaşı hacmi ve müsin yoksa gözyaşı filmi iki göz kırpma arasındaki sürede parçalanır ve evaporatif tipte kuru göz klinik tablosu ortaya çıkar. Lipid tabakanın heterojen dağılımı, gözyaşı film kalınlığının azalması ve gözyaşının içeriğinin değişmesi azalmış gözyaşı kırılma zamanını açıklayan faktörler olarak bildirilmiştir.(176) Çalışmamızda adenoviral keratokonjoktivit'e bağlı konjonktival goblet hücre sayısındaki azalmaya bağlı gözyaşı hacminin ve musin sekresyonunun azalacağını öngördük. Adenoviral keratokonjoktivit geçirmiş grupta saptadığımız düşük GKZ değerleri goblet hücre sayısındaki azalmaya sekonder müsin sekresyonunun azaldığı ve buna bağlı olarak GKZ değerlerinin düştüğü düşüncemizi desteklemektedir.

Oküler yüzey, lakrimal bezler ve bu yapıları innerve eden sinir lifleri homeostatik fonksiyonel üniteyi oluşturmakta, göz yaşı salınımı bu hassas denge sayesinde düzenlenmektedir. Normal bir gözde oküler yüzey keratinize olmayan çok katlı epitel ile döşelidir ve konjonktivada gözyaşı film tabakasının viskozitesini ve direncini artıran müsin

salgılayan goblet hücreleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarla kuru göze neden olduğu belirlenen oküler skatrisyel pemfigoid, keratokonjonktivitis sicca, Sjögren sendromu, Stevens-Johnson sendromu, kimyasal yanıklar, kontakt lens kullanımı, izoretinoin kullanımı ve vitamin A eksikliğinin de içinde bulunduğu bir grup hastalıkta oküler yüzey özellikleri değişir. Epitelin sekretuar olmayan keratinize forma dönmesiyle skuamoz metaplazi adı verilen, konjonktivadaki goblet hücrelerinin sayısında azalmanın da eşlik ettiği patolojik bir değişim süreci ortaya çıkmaktadır.

Birçok farklı hastalıkta ortaya çıkabilmekle birlikte,goblet hücre yoğunluğundaki değişiklikler, oküler yüzey hasarının ilk bulgusu olduğu için kuru göz hastalığında ayrı bir tanısal öneme sahiptir (177). Kuru göz hastalığında goblet hücre yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir. Goblet hücrelerinin kuru göz.hastalığında önemli bir indikatör olmasından dolayı, tedavi etkinliğini değerlendiren birçok çalışmada, parametre olarak goblet hücre sayısı, morfolojik yapısı, gibi kriterler belirlenmiştir (178).

Konjonktival impresyon sitolojisi tekniği ile, konjonktivadaki hücrelerin yapısal değişikliği ayrıntılı olarak incelenmektedir.

Albietz ve ark. 134 kuru göz hastasının dahil edildiği çalışmalarında impresyon sitolojisi yöntemiyle aldıkları konjonktival örneklerde goblet hücre yoğunluğunu gözlemlədiler. Kuru gözü olmayanlar (21 hasta, kontrol grubu), tedavi almayan kuru göz hastaları (57 hasta), 3 aydır prezervan içeren topikal ilaç kullanmakta olanlar (47 hasta, betaksolol hidroklorid %0.56 içeren anti-glokomatöz ajan ve polivinil alkol %1,4, povidon %0,6, klorbutanol %0,5 içeren suni gözyaşı kullanımı) ve 3 aydır prezervan içermeyen topikal ilaç kullanmakta olanları (30 hasta, karboksimetil sellüloz 5 mg/ml, polivinil alkol %1,4) kapsayan 4 ayrı grup oluşturdular. Gruplardan hiçbirinin tedavisine anti-inflamatuar ajan ya da punktum tıkacı yöntemi eklenmedi. Tedavi uygulanmayan grupla kontrol grubu karşılaştırıldığında goblet hücre yoğunluğunun belirgin derecede az olduğu gözlenmiştir. Prezervan içermeyen topikal tedavi uygulanan grupla tedavi uygulanmayan grup arasında goblet hücre yoğunluğunda anlamlı farklılık bulunamamıştır. Prezervan içeren topikal tedavi uygulanan grupla,prezervan içermeyen topikal tedavi uygulanan grup karşılaştırıldığında goblet hücre yoğunluğunda belirgin azalma dikkati çekmiştir.(181) Bu çalışmadan farklı olarak bizim çalışmamızda vaka grubunu oluşturan hastalar ilaç kullanım öykülerine göre sınıflandırılmadı. Bu nedenle adenoviral keratokonjonktivit geçiren grupta prezervan içeren ilaç kullanan kuru göz hastalarına benzer şekilde goblet hücre sayısında azalma görülürken ilaç kullanan ve ilaç kullanmayan hastalarda saptanan histolojik

değişimlere ilaç kullanımının etkisinin ne düzeyde olduğu ile ilgili çıkarımlar yapmak mümkün olmadı.

Götz ve arkadaşları 1986 yılında sağlıklı gözlerdeki konjunktiva epitel ile primer ve sekonder Sjögren sendromuna bağlı keratokonjunktivitis siccalı hastalar ve kontakt lens takan hastaları konjunktiva epitel değişikliğini sitolojik bası yöntemiyle inceleyerek kıyaslamışlardır(182). Sjögren sendromunda ve kontakt lens uygulanan hastalarda skuamöz metaplazi, goblet hücre yoğunluğunda azalma ve bazı hastalarda yılan vari kromatin değişikliğini göstermişlerdir. İncelemelerini milipor VSWP tip sellüloz asetat kağıtlarını limbustan 3-5 mm uzaklıktaki üst bulber konjunktivaya uygulayarak yaptılar. Aldığı örnekleri fikse ettikten sonra modifiye PAS hematoksilen ile boyamışlar, alkol ile dehidrate edip havada kuruttuktan sonra incelemişlerdir. Sjögren'e bağlı kuru gözde düşük çevresel tetiklemenin de etkisi olmakla birlikte esas patolojinin sistemik otoimmünite olduğu, buna karşılık Sjögren'e bağlı olmayan kuru gözde patolojinin sistemik otoimmünite değil kronik oküler yüzey inflamasyonundan kaynaklandığı düşünülmüştür. Kontakt lensler ise gözyaşı film tabakasının buharlaşmasında artışa ve kornea duyarlılığında azalmaya neden olarak gözyaşı yapımının azalmasına ve gözyaşının daha konsantre olmasına neden olurlar. Artmış gözyaşı ozmolaritesinin kontakt lense bağlı kuru gözün temel özelliğini oluşturduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda adenoviral keratokonjunktivit geçirmiş hastalarda Sjögren ve kontakt lens kullanımında olduğu gibi goblet hücre sayısı anlamlı bir şekilde azalmış bulundu. Ancak adenoviral keratokonjunktivit geçirenlerde kuru gözün Sjögren ve kontakt lens kullanımından farklı olarak kronik oküler yüzey inflamasyonuna sekonder meydana geldiği düşünüldü. Ancak hangi enflamatuar süreçlerin ve sitokinlerin kronik enflamasyonda rol aldığı bilinmemektedir. Kuru göz sendromuna yol açan bu enflamatuar süreçlerin açıklanabilmesi için adenoviral keratokonjunktivit geçirenlerde rol alan enflamatuar mediatörlerinin saptanmasına yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

Çakmak ve arkadaşları yumuşak kontakt lenslerin konjunktiva yüzeyine etkisini impresyon sitoloji tekniği ile incelemiş ve yumuşak kontakt lens kullanan 50 kişinin 100 gözü ile yumuşak kontakt lens kullanmayan 40 kişinin 80 gözünü karşılaştırdılar. Kontakt lens kullanan bireylerde Götz ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi kontrol grubuna oranla belirgin derecede skuamöz metaplazi, goblet hücre yoğunluğunda azalma ve epitel hücrelerinde chromatin like değişiklik saptanmıştır (183).

Tomatir ve ark.16 40 gözde hidroksimetilmetakrilat, 70 gözde polymacon olmak üzere

iki farklı geleneksel hidrojel KL ile 40 gözde sert gaz geçirgen olmak üzere üç farklı kontakt lens materyalinin konjonktiva yüzeyinde yaptığı değişimleri impresyon sitolojisi ile karşılaştırdılar. Tüm lens materyallerinde konjonktivada epitel hücre değişiklikleri ve goblet hücre dansitesinde azalma saptanmış, ancak bu değişiklikler her üç grup kontakt lens arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmamıştır.(184) Çalışmamızda kontakt lens kullanıcıları çalışma dışı bırakılmıştır. Kontakt lens kullanıcılarında saptanan skuamöz metaplazi ve goblet hücre sayısındaki azalmalar gibi histolojik değişimler adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş kuru göz hastalarında elde ettiğimiz sonuçlarla paralellik göstermekle beraber bu değişimlere yol açan temel mekanizmalar farklıdır.

Wittpenn ve arkadaşları sitolojik bası yöntemini A vitamini eksikliğinin erken tanısını da kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Hafif kseroftalmili okul öncesi çocukların Vitamin A tedavisinden önceki ve Vitamin A tedavisin 3.ve 8. haftasında alınan konjonktival impresyon sitolojilerini karşılaştırdılar. Vitamin A tedavisinden önceki örneklerde goblet hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı kayıp,goblet hücrelerinde genişleme ve epitel hücrelerinde artmış keratinizasyon saptadılar. Tedavi sonrası alınan örneklerde ise goblet hücre sayısının arttığı ve goblet hücrelerinin daha küçük olduğu görülmüştür. Vitamin A tedavisinden sonra alınan konjonktiva örneklerinde histolojik iyileşmenin impresyon sitolojisi yöntemi ile gösterilebileceğini bildirmişlerdir(185, 186). Vitamin A eksikliğinde kuru gözün (kseroftalmi), iki mekanizma ile görüldüğü saptanmıştır. Vitamin A müköz membranlardaki goblet hücre gelişimi için gerekli olduğu düşünülmüş, eksikliğinde goblet hücre gelişimi bozulmuş ve müsün tabakası eksikliği oluşmuştur. Gözyaşı bezinde asiner hücreler de A vitamini eksikliğinden etkilenerek fonksiyonları bozulmuş,aköz yetmezlik gelişmiştir. Vitamin A eksikliğinde aköz ve müsün tabakanın bozulduğu saptanmıştır. A vitamini eksikliği tanısı alan hastalar çalışmamızın kapsamına alınmadı. Vitamin A tedavisiden önce alınan örneklerde uygulanan impresyon sitolojisi sonucunda saptanan goblet hücre sayısında istatistiksel olarak anlamlı kayıp, goblet hücrelerinde genişleme ve epitel hücrelerinde artmış keratinizasyon gibi bulgular çalışmamızda adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş grupta da izlendi. Görüldüğü üzere kuru gözle sonuçlanan süreçler farklı olmasına rağmen benzer sonuçlar doğurmuştur.

Karalezli ve ark. çalışmalarında hastaların izotretinoinle tedavi sonrası impresyon sitoloji skorlarında tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit ettiler, ancak tedavi

kesildikten 1 ay sonra hastaların impresyon sitoloji skorlarının tedavi öncesi değerlerine döndüğünü göstermişlerdir.(187 )Bu durum gözyaşında bulunan izotretinoinin konjonktiva epiteli ve goblet hücreleri üzerine olan direkt toksik etkisiyle ve meibomian bez disfonksiyonu ile ilişkili olarak gözyaşındaki lipid profilindeki bozulma ile ilişkili olabilir. Bizim çalışmamızda da Karalezli ve ark.'ın çalışması ile benzer şekilde hastaların impresyon sitoloji skorları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Ancak impresyon sitolojisi skorları izoretinoin kullananlarda ve adenoviral keratokonjonktivit geçirenlerde yüksek saptanmasına rağmen adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda izoretinoin kullananlarda olduğu gibi meibomian bez disfonksiyonu ve gözyaşındaki lipid profilinin etkilenip etkilenmediği bilinmemektedir. Adenoviral keratokonjonktivitin kuru göze goblet hücre sayısını azaltmak dışında hangi ek mekanizmalarla sebebiyet verdiğinin anlaşılması için kuru göz fizyolojisinde rol alan diğer parametrelerin de dahil edilip inceleneceği çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ohji ve arkadaşları konjonktival epitel hasarı olan 10 şiddetli kimyasal ve termal yanık hastası, 8 Steven Jhonson Sendromu hastası, 5 skatrisyel okuler pemfigoid hastası ve 13 normal bireyin konjonktival goblet hücre sayısını impresyon sitolojisi yöntemiyle karşılaştırdılar. Konjonktival goblet hücre sayısının tüm hastalık gruplarında normal bireylere nispeten istatistiksel açıdan anlamlı bir düzeyde azalmış olduğu görülmüştür. Kimyasal-termal yanık,Steven Jhonson Sendromu ve skatrisyel okuler pemfigoid hastalarının goblet hücre sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.(188) Skatrisyel pemfigoid, Steven Jhonson Sendromu, kimyasal ve termal yanıklar; inflamasyona sekonder skatris oluşturarak; gözyaşını oküler yüzeye ulaştıran kanallarda obstruksiyona sebep olurlar. Bu olgularda, göz kapaklarında oluşan deformite tabloya eklenebilir ve gözyaşının oküler yüzeyde uygun dağılımı gerçekleşemez. Bizim çalışmamızda yapılan eksternal muayenede hastaların hiçbirinde sikatris ve kapak deformitesi olmamasına özen gösterildi. Adenoviral keratokonjonktivite bağlı kuru gözde bu patolojilerde olduğu gibi sikatrisin yol açtığı mekanik etkiyle oluşan bir kuru göz tablosu yoktur.

Görüldüğü gibi adenoviral keratokonjonktivitte ve diğer kuru göz yapan patolojilerde Gkz, schirmer ve impresyon sitolojisi gibi objektif testlerin sonuçları paralellik göstermesine rağmen kuru göze neden olan süreçler ve fonksiyonel değişimler farklılık arzedeabilmektedir

Çalışmamızda adenoviral keratokonjonktivitin konjonktiva üzerine olan etkilerini görmek için kliniğimize başvuran adenoviral konjonktivit geçirmiş hastalardan GKZ ve

Schirmer testleriyle beraber impresyon sitolojisi örnekleri alındı. Örnek aldığımız bireylerin hiçbirinde adenovral keratokonjonktivit dışında yukarıda örneklerle açıkladığımız ve kuru göze neden olan hiçbir patoloji saptanmadı. Çalışmamız adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş hastalarda kuru gözün etiyojisine yönelik yapılan ve konjonktival goblet hücre sayısına bakılan ilk çalışma oldu. İmpresyon sitolojisi bulguları adenoviral keratokonjonktivitin okuler yüzeyi etkilediğini, hastaların önemli bir bölümünde kornea lezyonları tamamen düzelmesine rağmen konjonktiva epitelinde skuamöz metaplazi ve goblet hücrelerinde azalma mekanizmasıyla kuru göze neden olduğu yönündeki hipotezimizi desteklemektedir.



## 6.SONUÇ

Bu çalışma adenoviral keratokonjonktivitin konjonktival epitelyal hücreler, bazal gözyaşı sekresyonu ve gözyaşı kalitesini belirgin şekilde etkilediğini ve okuler yüzeyde hasara yol açtığını göstermiştir. Adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş olan hastalarda kuru göz ile ilgili şikayetlerde artış olduğu objektif testlerle saptanmıştır. Adenoviral keratokonjonktivitin konjonktivada goblet hücrelerini etkileyerek gözyaşı filminin müköz komponentinde azama ile gözyaşı filminde instabilite yaparak kuru göze neden olduğu düşünüldü. Ancak hastalarda saptanan kuru göze tek başına goblet hücre sayısının azalmasının neden olduğu iddia edilemez. Çünkü bu durumda yardımcı göz yaşı bezleri ve lakrimal glandın etkilenip etkilenmediği bilinmemektedir. Adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda görülen kuru gözün etyolojisinin detaylı bir şekilde aydınlatılabilmesi için hastalığın erken ve geç evresinde alınacak örneklerle yapılması gereken çok sayıda logaritmik çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamız adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda normal bireylere nispeten goblet hücre sayısının istatistiksel açıdan anlamlı bir oranda azaldığını gösteren ilk çalışmadır.

## 7.ÖZET

Adenovirüsler insanda solunum sisteminde gözde, üriner sistemde ve gastrointestinal sistemde enfeksiyonlara neden olabilmektedirler. Bunlar arasında en sık rastlanan keratokonjonktivitlerdir. Keratokonjonktivite sıklıkla genotip 3, 4, 8, 19 ve 37 neden olur. Adenovirüs keratokonjonktivitleri çok bulaşıcıdır ve epidemilere neden olabilir. Bu yüzden tanının hızlı ve doğru yapılması önemlidir. Tanıda sıklıkla hızlı, duyarlı ve özgül bir yöntem olan PCR kullanılmaktadır. Genotipin belirlenmesi, spesifik tiplerle klinik tablo arasındaki ilişkiyi belirlemek ve virüsün coğrafi dağılımını takip edebilmek açısından önemlidir. Bu çalışmada Kocaeli Üniversitesi Hastanesi'ne başvuran adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş hastalarda adenoviral keratokonjonktivit uzun vadede konjonktival goblet hücre sayı ile morfolojisine etkisi ve adenoviral keratokonjonktivit geçirmiş hastalarda görülen kuru gözün etyolojisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Muayene öncesi hastaların oküler anamnezleri alındı. Tüm hastalara schirmer 1 testi (topikal anestezili), gözyaşı kırılma zamanı (GKZ), konjonktival impresyon sitolojisini içeren oftalmolojik muayene yapıldı. İstatistiksel değerlendirme, IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) paket programı ile yapıldı.

Vaka grubunun ortalama impresyon sitolojisi skoru 2.0(1.0-2.0), kontrol grubunun ortalama impresyon sitolojisi skoru 1.0(0.0-1.75) olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (**p<0,001**) Vaka grubunda 1 mm kareye düşen ortalama goblet hücre sayısı 4.0(2.0-10.0), kontrol grubunda 1 mm kareye düşen ortalama goblet hücre sayısı 16.0(4.25-36.75) olarak saptanmış olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (**p<0,001**) Vaka grubunun ortalama schirmer değerleri 10.0 mm(8.0-13.0), kontrol grubunun ortalama schirmer değerleri 14.0 mm(10.25-17.0) olarak saptanmıştır. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (**p<0,001**) Vaka grubunun ortalama GKZ değerleri 8.16±2.98 sn, kontrol grubunun ortalama GKZ değerleri 11.1±3.20 sn olarak bulunmuştur. GKZ arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. (**p<0,001**)

Bu çalışmada adenoviral keratokonjonktivit geçirenlerde kuru göz semptom ve bulgularında artış ve gözyaşı fonksiyon testlerinde anlamlı değişiklikler olduğu gözlemlendi. İmpresyon sitoloji değerlendirmesinde konjonktivada goblet hücre sayısında azalma ve epitel hücrelerinde skuamöz metaplazi olduğu saptandı.



Çalışmamız bu konuda Türkiye’de yapılan ve adenoviral keratokonjonktivit geçiren hastalarda konjonktival goblet hücre sayı ile morfolojisini araştıran ve bu hastalardaki kuru gözün etyolojisine yönelik yapılmış ilk kapsamlı çalışmadır. Çalışmanın kısıtlılıkları, tek merkezli olması ve hastaneye başvuran olguları değerlendirmesidir. Türkiye’de adenoviruslara bağlı göz enfeksiyonlarının epidemiyolojisi ve doğurduğu sonuçları değerlendirmek için daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** adenovirus, kuru göz, keratokonjonktivit



## 8. ABSTRACT

Adenoviruses may cause infections in respiratory system, eyes, urinary system and gastrointestinal system of humans. Keratoconjunctivitis is the most common one among these. Keratoconjunctivitis is generally caused by genotypes 3, 4, 8, 19 and 37. Adenovirus keratoconjunctivitis is very infectious and may lead to epidemics. Therefore; it is important to make a rapid and accurate diagnosis. PCR, that is a rapid, sensitive and specific method, is frequently used in diagnosis. Determination of genotype is important for determining the relationship between specific types and clinical manifestation and for following geographical distribution of the virus. The aim of this study was to investigate the long-term effect of adenoviral keratoconjunctivitis on the number and morphology of goblet cells and the etiology of dry eyes among the patients who experienced adenoviral keratoconjunctivitis and admitted to Kocaeli University Hospital.

Ocular anamnesis were taken from the patients before examination. All patients underwent schirmer 1 test (with topical anaesthesia), tear breakup time (TBUT) and ophthalmological examination including conjunctival impression cytology. Statistical analysis was performed by using IBM SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) package program.

Mean impression cytology score of the study group was found to be 2.0 (1.0-2.0), and it was found to be 1.0 (0.0-1.75) in the control group. The difference between patient and control groups was found to be statistically significant (**p<0,001**). Mean number of goblet cells in 1 mm<sup>2</sup> was 4.0 (2.0-10.0) in the study group; and it was 16.0 (4.25-36.75) in the control group; and the difference between both groups was statistically significant (**p<0,001**). Mean schirmer value of the study group was 10.0 mm (8.0-13.0) and it was 14.0 mm (10.25-17.0) in the control group; and the difference was statistically significant (**p<0,001**). Mean TBUT value of the study group was 8.16±2.98 seconds while it was 11.1±3.20 seconds in the control group; the difference between both groups was found to be significant (**p<0,001**).

In this study, it was observed that there was an increase in dry eyes symptoms and findings among the patients who experienced adenoviral keratoconjunctivitis and there were significant changes in tear function tests. A decrease was observed in the number of goblet cells in conjunctiva and squameous metaplasia was detected in epithelial cells

during impression cytology assessment.

Our study is the first comprehensive study which was performed in Turkey and investigating number and morphology of conjunctival goblet cells among the patients who experienced adenoviral keratoconjunctivitis and the etiology of dry eyes in these patients. The limitations of the study are that it is a single-center study and evaluates only the patients who admitted to the hospital. More comprehensive studies are required to evaluate the epidemiology of adenovirus-associated eye infections and their consequences in Turkey.

**Key Words:** adenovirus, dry eyes, keratoconjunctivitis



## **9.KAYNAKLAR:**

- 1.** Romanowski EG, Yates KA, Gordon YJ. The in vitro and in vivo evaluation of ddC as a topical antiviral for ocular adenovirus infections. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50: 5295-5299
- 2.** Chang C, Sheu M, Chern C, Lin K, et al. Epidemic keratoconjunctivitis caused by a new genotype of adenovirus type 8 (Ad8)-a chronological review of Ad8 in Southern Taiwan. *Jpn J Ophthalmol.* 2001;45: 160-166
- 3.** Kowalski RP, Karenchak LM, Romanowski EG, Gordon YJ. Evaluation of the shell vial technique for detection of ocular adenovirus. *Community Ophthalmologists of Pittsburgh, Pennsylvania. Ophthalmology.* 1999;106: 1324-132
- 4** Foulks GN. Pharmacological Management of Dry Eye in the Elderly Patient. *Drugs Aging* 2008;25: 105–118
- 5.** Pflugfelder SC, Solomon A, Stern ME. The Diagnosis and Management of Dry Eye. *Cornea* 2000;19: 644–649
- 6.** Pflugfelder SC. Antiinflammatory Therapy for Dry Eye. *American Journal of Ophthalmology* 2004;137: 337–342
- 7.** Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet Cell Numbers and Epithelial Proliferation in the Conjunctiva of Patients With Dry Eye Syndrome Treated With Cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120: 330–337
- 8.** Goncalves MA, de Vries AA. Adenovirus: from foe to friend. *Rev Med Virol.* 2006;16: 167- 186
- 9.** <http://www.wikimedia.org/wiki/Category:Adenovirus> ( Erişim tarihi : 11/04/2012 )
- 10.** Rein DT, Breidenbach M, Curiel DT. Current developments in adenovirus-based cancer gene therapy. *Future Oncol.* 2006;2: 137-143
- 11.** Murray PR, Jorgensen HJ, Baron JE, Pfaller MA. *Klinik Mikrobiyoloji. Atlas Kitapçılık.* 2009;2: 1589-1600
- 12** Fields BN, Knipe, D.M. and Howley, P.M. *Fields Virology.* Lippincott Williams&Wilkins. 2007; 2395-2437
- 13.** Russell WC. Update on adenovirus and its vectors. *J Gen Virol.* 2000;81: 2573-2604
- 14** Miura-Ochiai R, Shimada Y, Konno T, Yamazaki S, et al. Quantitative detection and rapid identification of human adenoviruses. *J Clin Microbiol.* 2007;45: 958-967

- 15.** Lenaerts L, De Clercq E, Naesens L. Clinical features and treatment of adenovirus infections. *Rev Med Virol.* 2008;18: 357-374
- 16.** Vorburgen SA, Hunt KK. Adenoviral gene therapy. *Oncologist.* 2002;7: 46-59
- 17.** McConnell MJ, Imperiale MJ. Biology of adenovirus and its use as a vector for gene therapy. *Hum Gene Ther.* 2004;15: 1022-1033
- 18.** Tollefson AE, Scaria A, Hermiston TW, Ryerse JS, et al. The adenovirus death protein (E3- 11.6K) is required at very late stages of infection for efficient cell lysis and release of adenovirus from infected cells. *J Virol.* 1996;70: 2296-2306
- 19.** Ustaçelebi Ş, Abacıoğlu H, Badur S. Moleküler, Klinik ve Tanısal Viroloji. Güneş Kitabevi. 2004; 29-30
- 20.** <http://www.klinikmikrobiyoloji.com/indir/adenovirusvepoxviruslar.pdf> (Erişim tarihi 22/03/2012)
- 21.** Matsui K, Saha S, Saitoh M, Mizuki N, et al. Isolation and identification of adenovirus from conjunctival scrapings over a two-year period (between 2001 and 2003) in Yokohama, Japan. *J Med Virol.* 2007;79: 200-205
- 22.** Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect.* 2003;9: 247-262
- 23.** Schmitz H, Wigand R, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. *Am J Epidemiol.* 1983;117: 455-466
- 24.** Kolavic-Gray SA, Binn LN, Sanchez JL, Cersovsky SB, et al. Large epidemic of adenovirus type 4 infection among military trainees: epidemiological, clinical, and laboratory studies. *Clin Infect Dis.* 2002;35: 808-818
- 25.** Blasirole DA, Metzgar D, Daum LT, Ryan MA, et al. Molecular analysis of adenovirus isolates from vaccinated and unvaccinated young adults. *J Clin Microbiol.* 2004;42: 1686-1693
- 26.** Chmielewicz B, Benzler J, Pauli G, Krause G, et al. Respiratory disease caused by a species B2 adenovirus in a military camp in Turkey. *J Med Virol.* 2005;77: 232-237
- 27.** Klauss V, Schaller UC, Bialasiewicz AA. Importance and epidemiology of infectious eye diseases. In: Kramer A, Behrens-Baumann W, ed. Antiseptic prophylaxis and therapy in ocular infections. *Dev Ophthalmol* 2002; 33:145-190.
- 28.** Mueller AJ, Klauss V. Main sources of infection in 145 cases of epidemic keratoconjunctivitis *Ger J Ophthalmol* 1993; 2:224-227.

- 29.** Aoki A, Isobe K, Ohno S. Nationwide surveillance program of epidemic conjunctivitis in Japan. In: Bi- alasiewicz AA, Schaal KP, ed. Infectious diseases of the eye. Philadelphia: Butterworth-Heinemann, 1994. p. 309-316.
- 30.** D'Angelo LJ, Hierholzer JC, Holman RC, Smith JD. Epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 8: epidemiologic and laboratory aspects of a large outbreak. *Am J Epidemiol* 1981; 113:44-49.
- 31.** Bialasiewicz AA, Jahn GJ. Augenbefunde bei Virusin- fektionen. *Dtsch Arztebl* 1994; 91B:685-694.
- 32.** Chang CH, Lin KH, Sheu MM, Huang WL, Wang HZ, Chen CW. The change of etiological agents and clinical signs of epidemic viral conjunctivitis over an 18-year period in southern Taiwan. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2003; 241:554-60.
- 33.** Gottsch JD, Froggatt JW 3rd, Smith DM, et al. Preven- tion and control of epidemic keratoconjunctivitis in a teaching eye institute. *Ophthalmic Epidemiol* 1999; 6:29-39.
- 34.** Takeuchi S, Itoh N, Uchio E, et al. Adenovirus strains of subgenus D associated with nosocomial infection as new etiological agents of epidemic keratoconjunctivi- tis. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3392-3394.
- 35.** Chaberny IE, Schnitzler P, Geiss HK, Wendt C. An outbreak of epidemic keratoconjunctivitis in a pediat- ric unit due to adenovirus type 8. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2003; 24:514-519.
- 36.** Kemp MC, Hierholzer JC, Cabradilla CP, Obijeski JF. The changing etiology of epidemic keratoconjunctivi- tis: antigenic and restriction enzyme analyses of ade- novirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period. *J Infect Dis* 1983; 148:24-33.
- 37.** Adhikary AK, Inada T, Banik U, et al. Serological and genetic characterization of a unique strain of adeno- virus involved in an outbreak of epidemic keratocon- junctivitis. *J Clin Pathol* 2004; 57:411-416.
- 38.** Majeed A, Naeem Z, Khan DA, Ayaz A. Epidemic adenoviral conjunctivitis report of an outbreak in a military garrison and recommendations for its man- agement and prevention. *J Pak Med Assoc* 2005; 55:273-275.

39. Bialasiewicz AA. Infektionskrankheiten des Auges. G Fischer Verlag,1995.
40. CDC. Respiratory and Enteric Viruses Branch: Ad- enovirus. National Center for Infectious Diseases. [www.cdc.gov/ncidod/](http://www.cdc.gov/ncidod/) Accessed 20 June 2006.
41. Ford E, Nelson KE, Warren D. Epidemiology of epi- demic keratoconjunctivitis. *Epidemiol* 1987; 9:244- 261
42. Garner JS, Simmons BP. Guideline for isolation pre- cautions in hospitals. Atlanta: US Department of Health and Human Services, Public Health Service, CDC. DHHS publication No. 83, 1985. p. 8314.
43. Reilly S, Dhillon BJ, Nkanza KM. Adenovirus type 8 keratoconjunctivitis - an outbreak and its treatment with topical human fibroblast interferon. *J Hygiene* 1986; 96:557-575.
44. Anonymous. Epidemiologic Notes and Reports: Epi- demic Keratoconjunctivitis in an Ophthalmology Clinic – California. *Morbidity Mortal Wkly Rep* 1990; 39:598-601.
45. Cheung D, Bremner J, Chan JT. Epidemic keratocon- junctivitis - do outbreaks have to be epidemic? *Eye* 2003; 17:356-363.
46. Wegman DH, Guinee VE, Millian SJ. Epidemic kerato- conjunctivitis. *Am J Pub Health* 1970; 60:1230-1237.
47. Gordon YJ, Gordon RY, Romanowski E, Araullo-Cruz TP. Prolonged recovery of desiccated adenoviral sero- types 5, 8, 19 from plastic and metal surfaces in vitro. *Ophthalmology* 1993; 100:1835-1839.
48. Wu E, Trauger SA, Pache L, et al. Membrane cofactor protein is a receptor for adenoviruses associated with epidemic keratoconjunctivitis. *J Virol* 2004; 78:3897-3905.
49. Bialasiewicz AA, Richard G. Nosokomiale Infektionen am Auge und krankenhaushygienische Massnahmen in der Augenheilkunde. In: Beck EG, Eikmann T, Tilkes F, ed. *Hygiene in Krankenhaus und Praxis*. Landshut: Ecomed Verlag, 1997. Bd. 8, III/3.19, p. 1-16.

- 50.** Knappe S, Stave J, Guthoff RF. Epidemic keratoconjunctivitis. In vivo images of corneal structures with the confocal Rostocker laser scanning microscope (RLSM)]. *Ophthalmologie* 2005; 102:798-801.
- 51.** Freyler H, Sehorst W. The fate of corneal infiltrations in cases of epidemic keratoconjunctivitis. *Wien Klin Wochenschr* 1976; 28:341-343.
- 52.** Elnifro EM, Cooper RJ, Dady I, Hany S, Mughal ZM, Klapper PE. Three non-fatal cases of neonatal adenovirus infection. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5814-5815.
- 53.** Brooks GF, Carroll KC, Butel SJ, Morse AS. *Jawetz, Melnick ve Adelberg Tibbi Mikrobiyoloji. Lange. Nobel Tıp Kitabevleri.* 2010; 419-427.
- 54.** Allard A, Albinsson B, Wadell G. Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *J Clin Microbiol.* 2001;39: 498-505.
- 55.** Terletskaia-Ladwig E, Leinmuller M, Schneider F, Meier S, et al. Laboratory approaches to the diagnosis of adenovirus infection depending on clinical manifestations. *Infection.* 2007;35: 438-443
- 56.** Kowalski RP, Gordon YJ. Comparison of direct rapid tests for the detection of adenovirus antigen in routine conjunctival specimens. *Ophthalmology.* 1989;96: 1106-1109
- 57.** Percivalle E, Sarasini A, Torsellini M, Bruschi L, et al. A comparison of methods for detecting adenovirus type 8 keratoconjunctivitis during a nosocomial outbreak in a Neonatal Intensive Care Unit. *J Clin Virol.* 2003;28: 257-264
- 58.** Wood SR, Sharp IR, Caul EO, Paul I, et al. Rapid detection and serotyping of adenovirus by direct immunofluorescence. *J Med Virol.* 1997;51: 198-201
- 59.** Kojaoghlanian T, Flomenberg P, Horwitz MS. The impact of adenovirus infection on the immunocompromised host. *Rev Med Virol.* 2003;13: 155-171
- 60.** Fields BN, Knipe, D.M. and Howley, P.M. *Fields Virology.* Lippincott Williams&Wilkins. 2007; 2395-2437
- 61.** <http://pathmicro.med.sc.edu/adenocdc.jpg> (Erişim tarihi : 09 / 04 / 2012)



- 62.** Van Rij G, Klepper L, Peperkamp E, Schaap GJ. Immune electron microscopy and a cultural test in the diagnosis of adenovirus ocular infection. *Br J Ophthalmol.* 1982;66: 317-319
- 63.** Suparno C, Milligan DW, Moss PA, Mautner V. Adenovirus infections in stem cell transplant recipients: recent developments in understanding of pathogenesis, diagnosis and management. *Leuk Lymphoma.* 2004;45: 873-885
- 64.** Sarantis H, Johnson G, Brown M, Petric M, et al. Comprehensive detection and serotyping of human adenoviruses by PCR and sequencing. *J Clin Microbiol.* 2004;42: 3963-3969
- 65.** Madisch I, Wolfel R, Harste G, Pommer H, et al. Molecular identification of adenovirus sequences: a rapid scheme for early typing of human adenoviruses in diagnostic samples of immunocompetent and immunodeficient patients. *J Med Virol.* 2006;78: 1210-1217
- 66.** Echavarria MS, Ray SC, Ambinder R, Dumler JS, et al. PCR detection of adenovirus in a bone marrow transplant recipient: hemorrhagic cystitis as a presenting manifestation of disseminated disease. *J Clin Microbiol.* 1999;37: 686-689
- 67.** Echavarria M, Forman M, van Tol MJ, Vossen JM, et al. Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR. *Lancet.* 2001;358: 384-385
- 68.** Walls T, Shankar AG, Shingadia D. Adenovirus: an increasingly important pathogen in paediatric bone marrow transplant patients. *Lancet Infect Dis.* 2003;3: 79-86
- 69.** Pingoud A, Alves J, Geiger R. Restriction enzymes. *Methods Mol Biol.* 1993;16:107-200
- 70.** Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74: 560-564
- 71.** Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74: 5463-5467
- 72.** Hillenkamp J, Reinhard T, Ross RS, et al. Topical treatment of adenoviral keratoconjunctivitis with 0.2% cidofovir and 1% cyclosporine: a controlled clinical pilot study. *Arch Ophthalmol* 2001; 119:1487-1491

- 73.** Nagel M, Teuchner B, Pottinger E, Ulmer H, Gottardii, W. Tolerance of N-chlorotaurine, a new antimicrobial agent, in infectious conjunctivitis – a phase II pilot study. *Ophthalmologica* 2000; 214:111-114.
- 74.** Romanowski EG, Yates KA, Teuchner B, Nagl M, Irschick EU, Gordon YJ. N-chlorotaurine is an effective antiviral agent against adenovirus in vitro and in the Ad5/NZW rabbit ocular model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006; 47:2021-2026.
- 75.** Teuchner B, Nagl M, Schidlbauer A, et al. Tolerability and efficacy of N-chlorotaurine in epidemic keratoconjunctivitis - a double-blind, randomized, phase-2 clinical trial. *J Ocul Pharmacol Ther* 2005; 21:157-165.
- 76.** Dudgeon J. Treatment of adenovirus infection of the eye with 5-iodo-2'-deoxyuridine. *Br J Ophthalmol* 1969; 53:530-533.
- 77.** Hecht SD, Hanna L, Sery TW, Jawetz E. Treatment of epidemic keratoconjunctivitis with idoxirine. *Arch Ophthalmol* 1965; 73:49-64
- 78.** Ward JB, Siojo LG, Waller SG. A prospective masked clinical trial of trifluridine, dexamethasone and artificial tears in the treatment of epidemic keratoconjunctivitis. *Cornea* 1993; 12:216-221.
- 79.** Romanowski EG, Zates KA, Gordon YJ. Topical corticosteroids of limited potency promote adenovirus replication in the Ad5/NZW rabbit ocular model. *Cornea* 2002; 21:289-291.
- 80.** Quentin CD, Tondrow M, Vogel M. Phototherapeutische Keratektomie nach Keratokonjunktivitis Epidemica. *Ophthalmologe* 1999; 96:92-96.
- 81.** Bales S, Baumann HG, Schnitzler N. Infektionsschutzgesetz: Kommentar und Vorschriftensammlung. 2. Auflage. Stuttgart-Berlin: Kohlhammer Verlag, 2003.
- 82.** Nagington J, Stehall GM, Whipp P. Tonometer disinfection and viruses. *Br J Ophthalmol* 1983; 67:674-676.
- 83.** Rutala WA, Peacock JE, Gergen MF, Sobsey MD, Weber DJ. Efficacy of hospital germicides against adenovirus 8, a common cause of epidemic keratoconjunctivitis in health care facilities. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:1419-1424.

- 84.** Buehler JW, Finton RJ, Goodman RA. Epidemic keratoconjunctivitis: report of an outbreak in an ophthalmology practice and recommendations for prevention. *Infect Control* 1984; 5:390-394.
- 85.** Ankers HE, Klapper PE, Cleator GM, Bailey AS, Tulo AB. The role of a rapid diagnostic test (adenovirus immune dot-blot) in the control of an outbreak of adenovirus type 8 keratoconjunctivitis. *Eye* 1993; 7:15-17.
- 86.** Montessori V, Scharf S, Holland S, Werker DH, Roberts FJ, Bryce E. Epidemic keratoconjunctivitis outbreak at a tertiary referral eye care clinic. *Am J Infect Control* 1998; 26:399-405.
- 87.** RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten Keratoconjunctivitis epidemica und andere Konjunktivitiden durch Adenoviren. Merkblätter für Ärzte. Robert Koch Institut, 2004.
- 88.** EPA. Antimicrobial Pesticide Products. [www.epa.gov](http://www.epa.gov), Accessed on 20 June 2006.
- 89.** Klein M, Deforest A. Principles of viral inactivation. In: SM Block, ed. *Disinfection, sterilization and preservation*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1983. p. 422-434.
- 90.** Warren D, Nelson KE, Farrar JA. A large outbreak of epidemic keratoconjunctivitis: problems in controlling nosocomial spread. *J Infect Dis* 1989; 160:938-943.
- 91.** Draeger J, Hinzpeter T, Mai K. Tonometer sterilization. *Doc Ophthalmol* 1969; 26:648-663.
- 92.** Clarke SKR, Hart JCD, Barnard DL. The disinfection of instruments and hands during outbreaks of epidemic keratoconjunctivitis. *Trans Ophthalmol Soc U K* 1972; 92:613-618.
- 93.** Wood RM. Prevention of infection during tonometry. *Arch Ophthalmol* 1962; 68:202-218.
- 94.** Corboy JM, Goucher CR, Parnes CA. Mechanical sterilization of the applanation tonometer. Pt 2. Viral study. *Am J Ophthalmol* 1971; 71:891-893.
- 95.** Schmitz H, Draeger J, Emmerich P. Tonometer sterilization. The inactivation of HSV 1 and Ad 2 by ultraviolet irradiation. *Klin Mbl Augenheilkd* 1990; 196:225-227

- 96.** Hutchinson AK, Coats DK, Langdale LM, Steed LL, Demmler G, Saunders RA. Disinfection of eyelid specula with chlorhexidine gluconate (Hibiclens) after examinations for retinopathy of prematurity. *Arch Ophthalmol* 2000; 118:786-789.
- 97.** Katowitz A.J et al: *Fundamentals and Principles of Ophthalmology*. American Academy of Ophthalmology. 2007; 1:143-9.
- 98.** Sansoy N, Konjonktiva, Aydın P, Akova Y. *Temel Göz Hastalıkları*, Güneş Kitapevi, Ankara. 2001; 125-126.
- 99.** Dilly PN: Structure and function of the tear film. *Adv Exp Med Biol* 1994; 350:239–47.
- 100.** Chao CC, Vergnes JP, Freeman IL, Brown SI. Biosynthesis and partial characterization of tear film glycoproteins. Incorporation of radioactive precursors by human lacrimal gland explants in vitro. *Exp Eye Res* 1980; 30:411–25.
- 101.** Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Gipson IK. Human corneal and conjunctival epithelia express MUC1 mucin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995; 36:1818–1827
- 102.** Pflugfelder SC, Liu Z, Monroy D, Li DQ, Carvajal ME, Price-Schiavi SA, Idris N, Solomon A, Perez A, Carraway KL. Detection of sialomucin complex (MUC4) in human ocular surface epithelium and tear fluid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:1316–1326.
- 103.** Corrales RM, Galarreta DJ, Herreras JM, Calonge M, Chaves FJ. Normal human conjunctival epithelium expresses muc, MUC13, MUC15, MUC16 and MUC17 mucin genes. *Arch Soc Esp Oftalmol* 2003; 78:375–382.
- 104.** Corfield AP, Carrington SD, Hicks SJ, Berry M, Ellingham R. Ocular mucins: purification, metabolism and functions. *Prog Retin Eye Res* 1997; 16: 627–656.
- 105.** Carraway KL, Rossi EA, Komatsu M, Price-Schiavi SA, Huang D, Guy PM, Carvajal ME, Fregien N, Carraway CA. An intramembrane modulator of the ErbB2 receptor tyrosine kinase that potentiates neuregulin signaling. *J Biol Chem* 1999; 274:5263–5266.
- 106.** Inatomi T, Spurr-Michaud S, Tisdale AS, Zhan Q, Feldman ST, Gipson IK. Expression of secretory mucin genes by human conjunctival epithelia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37:1684–1692.

- 107.** Jumblatt MM, McKenzie RW, Jumblatt JE. MUC5AC mucin is a component of the human precorneal tear film. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40: 43–49.
- 108.** Jumblatt MM, McKenzie RW, Steele PS, Emberts CG, Jumblatt JE. MUC7 expression in the human lacrimal gland and conjunctiva. *Cornea* 2003; 22:41–45.
- 109.** McKenzie RW, Jumblatt JE, Jumblatt MM. Quantification of MUC2 and MUC5AC transcripts in human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41:703–708
- 110.** Tiffany JM. Composition and biophysical properties of the tear film: knowledge and uncertainty. *Adv Exp Med Biol* 1994; 350:231–8.
- 111.** Nguyen DH, Beuerman RW, Meneray MA, Maitchouk D. Sensory denervation leads to deregulated protein synthesis in the lacrimal gland. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438:55–62.
- 112.** Sullivan DA, Krenzer KL, Sullivan BD, et al. Does androgen insufficiency cause lacrimal gland inflammation and aqueous tear deficiency? *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40:1261–1265.
- 113.** Tiffany JM. The lipid secretion of the meibomian glands. *Adv Lipid Res* 1987; 22:1-62.
- 114.** Tomlinson A, Trees GR, Occhipinti JR. Tear production and evaporation in the normal eye. *Ophthalmic Physiol Opt* 1991; 11: 44–47.
- 115.** Franck C. Fatty layer of the precorneal film in the 'office eye syndrome'. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 1991;69:737–43.
- 116.** Thody AJ, Shuster S. Control and function of sebaceous glands. *Physiol Rev* 1989; 69: 383.
- 117.** Korb DR, Baron DF, Herman JP, et al. Tear film lipid layer thickness as a function of blinking. *Cornea* 1994; 13:354–9.
- 118.** McCulley JP, Shine WE. A compositional based model for the tear film lipid layer. *Trans Am. Ophthalmol Soc* 1997; 95:79–88.
- 119.** Shine WE, McCulley JP. Keratoconjunctivitis sicca associated with meibomian secretion polar lipid abnormality. *Arch Ophthalmol* 1998; 116:849–852.

- 120.** Nagyova B, Tiffany JM. Components responsible for the surface tension of human tears. *Curr Eye Res* 1999; 19:4–11.
- 121.**76- Dursun D, Monroy D, Knighton R, et al. The effects of experimental tear film removal on corneal surface regularity and barrier function. *Ophthalmology* 2000; 107:1754–60.
- 122.**Ashley Behrens, John J. Doyle et al. Dysfunctional Tear Syndrome. A Delphi Approach to Treatment Recommendations. *Cornea* 2006; 25:900–907.
- 123.**Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop 2007 2007; 5(2):75- 92.
- 124.**Research in dry eye: report of the Research Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf.* 2007 Apr; 5(2):179-93.
- 125.**Nichols KK, Mitchell GL, Zadnik K. The repeatability of clinical measurements of dry eye. *Cornea* 2004; 23:272-85.
- 126.**Watanabe H, Tanaka M: Rose bengal staining and expression of mucin-like glycoprotein in cornea epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37:357.
- 127.**Norn MS. Lissamine green vital staining of the cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmol(Copenh)*1973;51:483–91
- 128.**Lemp MA, Hamil JR. Factors Affecting Tear Film Breakup in Normal Eyes. *Arch Ophthalmol* 1973; 89:103-5.
- 129.**Guillon JP. Use of the Tearscope Plus and attachments in the routine examination of the marginal dry eye contact lens patient. *Adv Exp Med Biol* 1998; 438:859–67
- 130.**Vitali C, Bombardieri S, Johnson R, et al. Classification criteria for Sjogren’s syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American- European Consensus Group. *Ann Rheum Dis* 2002; 1:554-8.
- 131.**Gupta A, Heigles TJ, Pflugfelder SC. Nasolacrimal stimulation of aqueous tear production. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37:851.
- 132.**Chiang B, Asbell PA, Franklin B. Phenol red thread test and Schirmer test for tear production in normal and dry eye patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29:337.

- 133.**Mainstone JC, Bruce AS, Golding TR. Tear meniscus measurement in the diagnosis of dry eye. *Curr Eye Res* 1996; 15:653–61.
- 134.**Yokoi N, Bron A, Tiffany J. Reflective meniscometry: a noninvasive method to measure tear meniscus curvature. *Br J Ophthalmol* 1999; 83:92–7
- 135.**Pflugfelder SC, Tseng SC, Sanabria O, et al. Evaluation of subjective assessments and objective diagnostic tests for diagnosing tear-film disorders known to cause ocular irritation. *Cornea* 1998; 17:38–56.
- 136.**Nelson JD. Impression cytology. *Cornea* 1988; 7: 71- 81.
- 137.**Rolando M, Zierhut M. The ocular surface and tear film and their dysfunction in dry eye disease. *Surv Ophthalmol* 2001; 45 (Suppl. 2): 203–210.
- 138.**Kawasaki S, Kawamoto S, Yokoi N, Connon C, Minesaki Y, Kinoshita S, Okubo K. Up-regulated gene expression in the conjunctival epithelium of patients with Sjogren’s syndrome. *Exp Eye Res* 2003; 77:17–26.
- 139.**Schafer M, Carter L, Stein C. Interleukin 1 beta and corticotropin-releasing factor inhibit pain by releasing opioids from immune cells in inflamed tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:4219–4223.
- 140.**Hibino SH, Watanabe H. Mucins and ocular surface disease. *Adv Exp Med Biol* 2002; 506:275–281.
- 141.**Dana MR, Zhu SN, Yamada J. Topical modulation of interleukin- activity in corneal neovascularization. *Cornea* 1998; 17:403–409.
- 142.**Muller LJ, Marfurt CF, Kruse F, Tervo TM. Corneal nerves: structure, contents and function. *Exp Eye Res* 2003; 76:521–542.
- 143.**Wilson SE, Mohan RR, Mohan RR, Ambrosio JR, Hong J, Lee J. The cornea wound healing response: cytokine mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Prog Retin Eye Res* 2001; 20:625–637.
- 144.**Egbert PR, Lauber S, Maurice DM. A simple conjunctival biopsy. *Am J Ophthalmol* 1977; 84:798-801..

- 145.**Thatcher RW, Darougar S, Jones BR. Conjunctival impression cytology. Arch Ophthalmol 1977; 95:678-681
- 146.**Nelson JD, Wright JC. Conjunctival goblet cell densities in ocular surface disease. Arch.Ophthalmol 1984; 102:1049-1051
- 147.**Nelson JD, Havener VR, Cameron JD. Cellulose acetate impression cytology of the ocular surface dry eye state. Arch Ophthalmol 1983; 101:1869–1872.
- 148.**Nelson JD. Ocular surface impressions using cellulose acetate filter material ocular pemphigoid. Surv Ophthalmol 1982; 27:67-69.
- 149.**Tseng SC. Staging of conjunctival squamous metaplasia by impression cytology. Ophthalmol 1985; 92:728-733.
- 150.**Saini JS, Rajwanshi A, Dhar S. Clinicopathological correlation of hard contact lens related changes in tarsal conjunctiva by impression cytology. Acta Ophthalmol 1990; 68:65-70.
- 151.**Casas I, Avellon A, Mosquera M, Jabado O, Echevarria JE, Campos RH, Rewers M, Perez-Breña P, Lipkin WI, Palacios G.Molecular identification of adenoviruses in clinical samples by analyzing a partial hexon genomic region. J Clin Microbiol. 2005 Dec;43(12):6176-82
- 152.**Banik U, Adhikary AK, Suzuki E, Inada T, Okabe N. Multiplex PCR assay for rapid identification of oculo-pathogenic adenoviruses by amplification of the fiber and hexon genes. J Clin Microbiol. 2005 Mar;43(3):1064-8.
- 153.**Butt AL, Chodosh J. Adenoviral keratoconjunctivitis in a tertiary care eye clinic. Cornea. 2006;25: 199-202
- 154.**Melendez CP, Florentino MM, Martinez IL, Lopez HM. Outbreak of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus in medical residents. Mol Vis. 2009;15:557-562
- 155.**Cheung D, Bremner J, Chan JT. Epidemic kerato-conjunctivitis--do outbreaks have to be epidemic? Eye (Lond). 2003;17: 356-363
- 156.**Aoki K, Tagawa Y. A twenty-one year surveillance of adenoviral conjunctivitis in Sapporo, Japan. Int Ophthalmol Clin. 2002;42: 49-54



- 157.**Gray GC, Chorazy ML. Human adenovirus 14a: a new epidemic threat. *J Infect Dis.* 2009;199: 1413-1415
- 158.**Gray GC, McCarthy T, Lebeck MG, Schnurr DP, et al. Genotype prevalence and risk factors for severe clinical adenovirus infection, United States 2004-2006. *Clin Infect Dis.* 2007;45: 1120- 1131
- 159.**Mejia-Lopez H, Santacruz-Valdes C, Matias-Florentino M. Genetic characterization of adenovirus isolated from follicular conjunctivitis and epidemic keratoconjunctivitis in a group of Mexican patients. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2008;83: 161-167
- 160.**Frantzydou F, Pavlitou A, Mataftsi A, Dumaidi K, et al. Molecular epidemiology of adenovirus strains isolated from patients with ocular disease in the area of Thessaloniki, Greece (1998-2002). *J Med Virol.* 2005;75: 440-446
- 161.**Yagci R, Akcali A, Yagci S, Konno T, et al. Molecular identification of adenoviral conjunctivitis in Turkey. *Eur J Ophthalmol.* 2010;20: 669-674,
- 162.**Ersoy Y, Otlu B, Turkcuoglu P, Yetkin F, et al. Outbreak of adenovirus serotype 8 conjunctivitis in preterm infants in a neonatal intensive care unit. *J Hosp Infect.* 2012;80: 144- 149
- 163.**Marangon FB, Miller D, Alfonso E. Laboratory results in ocular viral diseases: implications in clinical-laboratory correlation. *Arq Bras Oftalmol.* 2007;70: 189-194
- 164.**<http://idsc.nih.go.jp/iasr/prompt/graph/data11.41e.pdf>. (Erişim tarihi : 22/03/2012).
- 165.**Hamada N, Gotoh K, Hara K, Iwahashi J, et al. Nosocomial outbreak of epidemic keratoconjunctivitis accompanying environmental contamination with adenoviruses. *J Hosp Infect.* 2008;68: 262-268
- 166.**Adhikary AK, Numaga J, Kaburaki T, Kawashima H, et al. Genetic characterisation of adenovirus type 8 isolated in Hiroshima city over a 15 year period. *J Clin Pathol.* 2003;56: 120- 125
- 167.**Tanaka K, Itoh N, Saitoh-Inagawa W, Uchio E, et al. Genetic characterization of adenovirus strains isolated from patients with acute conjunctivitis in the city of Sao Paulo, Brazil. *J Med Virol.* 2000;61: 143-149

- 168.**Jernigan JA, Lowry BS, Hayden FG, Kyger SA, et al. Adenovirus type 8 epidemic keratoconjunctivitis in an eye clinic: risk factors and control. *J Infect Dis.* 1993;167: 1307-1313
- 169.**Sendra-Gutierrez JM, Martin-Rios D, Casas I, Saez P, et al. An outbreak of adenovirus type 8 keratoconjunctivitis in a nursing home in Madrid. *Euro Surveill.* 2004;9: 27-30
- 170.**Kemp MC, Hierholzer JC. Three adenovirus type 8 genome types defined by restriction enzyme analysis: prototype stability in geographically separated populations. *J Clin Microbiol.* 1986;23: 469-474
- 171.**Chastel C, Adrian T, Demazure M, Legrand-Quillien MC, et al. Molecular epidemiology of two consecutive outbreaks of adenovirus 8 keratoconjunctivitis. *J Med Virol.* 1988;24: 199-204
- 172.**Matsui K, Shimizu H, Yoshida A, Nagaoka E, et al. Monitoring of adenovirus from conjunctival scrapings in Japan during 2005--2006. *J Med Virol.* 2008;80: 997-1003
- 173.**Vainio K, Borch E, Bruu AL. No sequence variation in part of the hexon and the fibre genes of adenovirus 8 isolated from patients with conjunctivitis or epidemic keratoconjunctivitis (EKC) in Norway during 1989 to 1996. *J Clin Pathol.* 2001;54: 558-561
- 174.**Reuter G, Meleg E, Kiss G, Albert N, et al. Molecular detection of adenovirus type-8 epidemic keratoconjunctivitis in Hungary. *Orv Hetil.* 2007;148: 1311-1315
- 175.**Tabbara KF, Omar N, Hammouda E, Akanuma M, et al. Molecular epidemiology of adenoviral keratoconjunctivitis in Saudi Arabia. *Mol Vis.* 2010;16:2132-2136
- 176.**Saitoh-Inagawa W, Aoki K, Uchio E, Itoh N, et al. Ten years' surveillance of viral conjunctivitis in Sapporo, Japan. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1999;237: 35-38
- 177.**Liu H, Begley CG, Chalmers R, et al. Temporal progression and Spatial Repeatability of Tear Breakup. *Optom Vis Sci* 2006; 83:723-30.

- 178.** Moon WJ, Lee HJ, Shin KC, Wee WR, Lee JH, Kim MK. Short term effects of topical cyclosporine and viscoelastic on the ocular surface in patients with dry eye. *Korean Journal of Ophthalmology* 2007;21: 189–194
- 179.** Zhao H, Jumblatt JE, Wood TO, Jumblatt MM. Quantification of MUC5AC Protein in Human Tears. *Cornea* 2001;20: 873–877
- 180.** Argüeso P, Balaram M, Michaud SS, Keutmann HT, Dana MR, Gipson IK. Decreased Levels of the Goblet Cell Mucin MUC5AC in Tears of Patients with Sjogren Syndrome. *IOVS* 2002;43: 1004–1011
- 181.** Albietz JM, Bruce AS. The conjunctival epithelium in dry eye subtypes: Effect of preserved and non-preserved topical treatments. *Current Eye Research* 2001;22: 8–18
- 182.** Götz ML, Kruse FE, Jager W. Die impressions cytology der bindehaut-eine nichtinvasiveuntersuchungs-methodeII, lightmikroskopische befunde bei normaler conjunctiva, bei keratokonjunctivitis sicca und bei kontaktlinsentraegern. *Fortschr Ophthalmol* 1986; 83:34-38.
- 183.** Cakmak SS, Unlu MK, Karaca C, Nergiz Y, Ipek S. Effects of soft contact lenses on conjunctival surface. *Eye Contact lens*, 2003;29:230-233.
- 184.** Tomatir DK, Erda N, Gürlü VP. Effects of different contact lens materials and contact lens wearing periods on conjunctival cytology in asemptomatic contact lens wearers. *Eye Contact Lens*. 2008;34:166-8.
- 185.** Natadisastra GN, Wittpenn JR, West KP, Sommer A. Impression cytology for detection of vitamin a deficiency. *Arch Ophthalmol*, 1987; 105: 1224-1228
- 186.** Wittpenn JR, Tseng SCG, Sommer A. Detection of early xerophthalmi by impression cytology. *Arch Ophthalmol*, 1986; 104: 237- 239.
- 187.** Karalezli A, Borazan M, Altınörs DD, Dursun R, Kıyıcı H, Akova AY. Conjunctival impression cytology, ocular surface, and tear-film changes in patient treated with systemic isotretinoin. *Cornea* 2009; 28(1):46-50.
- 188.** Masahito Ohji, MD; Genjiro Ohmi, MD; Akira Kiritoshi, MD; Shigeru Kinoshita, MD .Goblet Cell Density in Thermal and Chemical Injuries. *Arch Ophthalmol*.1987;105(12):1686-1688

