

T.C.  
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PATOJENİK İKİ FARKLI *ACANTHAMOEBA* TÜRÜNÜN  
KOZMETİK KONTAKT LENSLERE ADEZYONUNUN  
*İN VİTRO* DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Berna BAYSAL BAKAY**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**PARAZİTOLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof.Dr. Zübeyda AKIN POLAT**

**SİVAS-2017**

**“Patojenik İki Farklı *Acanthamoeba* Türünün Kozmetik Kontakt Lenslere Adezyonunun *İn Vitro* Olarak Değerlendirilmesi”** adlı **Yüksek Lisans** Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Parazitoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye \_\_\_\_\_  
Üye (Danışman) \_\_\_\_\_

#### ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

## TEŞEKKÜR

Öncelikle tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulunduran, tez çalışmamın planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ilgi ve desteğini esirgemeyen; engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren, sabırla ve güleryüzüyle kendine hayran bırakan sayın hocam Prof.Dr. Zübeyda AKIN POLAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezin istatistiksel bulgularını değerlendirme konusunda yardımcı olan hiçbir zaman öğrenciyi geri çevirmeyip kıymetli zamanından fedakarlık eden sayın hocam Yrd.Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyler sırasında kontakt lens temini konusunda destek olan optisyen Abid TAN'a teşekkür ederim.

Yardımlarından dolayı doktora öğrencisi Necati ÖZPINAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca maddi manevi desteğini esirgemeyen, destek ve anlayışıyla her zaman yanımda olan AİLEME ve özellikle de CANIM ANNEM Birnur BAYSAL ve SEVGİLİ EŞİM Hakan BAKAY'a ve CANIM ABİM Celal İSMAİLVELİOĞLU'na sonsuz teşekkür ederim.

Bize her zaman sevgiyle kucak açan, öğrencilerine her konuda destek olan, çalışkan, sabırlı ve güçlü kişilikleriyle örnek olan Parazitoloji Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden sayın Prof.Dr Semra ÖZÇELİK ve sayın Prof.Dr. Serpil DEĞERLİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak hayatıma renk katan biricik kızım Duru BAKAY'a olan sevgimle çalışmamı ithaf eder emeği geçen herkese teşekkürlerimi sunarım.

## ÖZET

### **PATOJENİK İKİ FARKLI *ACANTHAMOEB*A TÜRÜNÜN KOZMETİK KONTAKT LENSLERE ADEZYONUNUN *İN VİTRO* OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Berna BAYSAL BAKAY  
Yüksek Lisans Tezi  
Parazitoloji Ana Bilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT  
2017, 58 Sayfa

Çevrede oldukça yaygın bir şekilde bulunan *Acanthamoeba* türlerinin, göze yerleşmesi sonucu oluşabilen *Acanthamoeba* keratiti; ağrılı, görme sağlığını tehdit eden, tedavide geç kalınması durumunda korneada ülserasyon, görme kaybı hatta körlük ve enükleasyon ile sonuçlanabilen bir enfeksiyondur. Bu enfeksiyonunun başlangıcında amiplerin oküler yüzeye adezyonu gerekmektedir. Oküler yüzeye adezyonda, korneal travma ve çoğunlukla da kontakt lens kullanımı ve özellikle de yumuşak kontakt lensler sorumlu tutulmaktadır. 1980’li yıllardan itibaren kontakt lens kullanımındaki artışa bağlı olarak, tüm dünyada *Acanthamoeba* keratiti görülme sıklığında önemli derecede artış olmuştur. Son yıllarda ise kontakt lensler, herhangi bir tedavi amacı olmadan sadece kozmetik sebeplerle göz rengini değiştirmek amacıyla kolay ve ucuz bir şekilde yetkisiz kişilerden elde edilmektedir. Bu şekilde bilinçsizce lens kullanımına bağlı olarak tanısı ve tedavisi zor olan bu enfeksiyonun görülme sıklığı da giderek artmaktadır.

Kozmetik kontakt lensler yüzeyine *Acanthamoeba* trofozoitlerinin adezyonu üzerine etki eden faktörleri belirlemek amacıyla yaptığımız çalışmada, üretim materyalleri ve su içerikler göz önünde bulundurarak; Hema copolimer (HM) (%38.5 H<sub>2</sub>O), Phemfilcon A (PF) (%55 H<sub>2</sub>O), Polymacon (PM) (%38 H<sub>2</sub>O), Polyhema (PH) (%42 H<sub>2</sub>O), Hema (HM55) (%55 H<sub>2</sub>O) üretim materyallerine sahip lensler seçilmiştir. Lensler üzerine *Acanthamoeba* türünün etkisi olup olmadığını görmek amacıyla *A. castellanii* (Pat06 suşu) ve *A. hatchetti* (2HH suşu) türleri kullanılmıştır. *Acanthamoeba* trofozoitlerinin lens yüzeyine yapışma sayıları zamana bağımlı olarak

(15. dakika, 1. ve 24. saat) değerlendirilmiştir. Ayrıca lens yüzey topolojisinin adezyona etkisini değerlendirmek amacıyla lens yüzeyinin scanning elektron mikroskobu (SEM) analizleri yapılmıştır.

Elde ettiğimiz verilere göre, her iki amip türünde de kontakt lens yüzeyine yapışan amip sayısı PF ve PH üretim materyaline sahip lenslerle HM, PM ve HM55 üretim materyaline sahip lenslerle kıyaslandığında düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Bütün kontakt lens türlerinde yapışan amip türleri açısından anlamlı fark belirlenmemiştir ( $p > 0.05$ ). Su içeriğinin amip adezyonuna etkisini görmek için Hema üretim materyaline sahip fakat su içerikleri farklı olan (%45 ve %55) kontakt lensler arasında yapışan amip ortalaması açısından anlamlı fark tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). SEM analizleri sonucunda yüzey topolojisinin adezyona etkisi olmadığı görölmüştür.

Elde edilen veriler ışığında; kozmetik kontakt lens yüzeyine *Acanthamoeba* adezyonunun, lenslerin su içeriğinden ve lensin yüzey özelliklerinden bağımsız olarak lensin doğal polimer yapısından ve/veya kimyasal çekiciliğinden kaynaklandığı ve buna ek olarak amip adezyonunda *Acanthamoeba* türlerine bağlı faktörlerin de etkili olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Acanthamoeba*, Kozmetik Kontakt Lens, Adezyon.

## ABSTRACT

### ***IN VITRO* EVOLUTION OF ADHESION OF TWO DIFFERENT *ACANTHAMOEBEA* STRAINS TO COSMETIC CONTACT LENSES**

Berna BAYSAL BAKAY

Master Thesis

Department of Parasitology

Supervisor: Prof. Dr.Zübeyda AKIN POLAT,

2017, 58 Pages

*Acanthamoeba* keratitis, which can occur as a result of the settlement of *Acanthamoeba* species, that are very common in the environment, is a painful, vision-health threatening infection that can result in corneal ulceration, vision loss even blindness and enucleation in case of late treatment. At the beginning of this infection, amoeba need to be adhered to the ocular surface. Corneal trauma and the mostly contact lenses use, especially use of soft contact lenses, are responsible for ocular surface adhesions. Due to the increased use of contact lenses since the 1980s, the incidence of *Acanthamoeba* keratitis has increased significantly all over the world. In recent years, contact lenses are obtained from unauthorized people, easily and inexpensively, simply to change the eye color cosmetically, without any therapeutic aim. With this unconscious usage of contact lenses, the incidence of this infection which is difficult to diagnose and treat is increasing more and more.

In our study to determine the factors affecting the adhesion of *Acanthamoeba* trophozoites to the surface of cosmetic contact lenses, considering production materials and water content, Hema copolymer (HM) (38.5% H<sub>2</sub>O), Phemfilcon (PF) (55% H<sub>2</sub>O), Polymacon (PM) (38% H<sub>2</sub>O), Polyhema (PH) (%42 H<sub>2</sub>O), Hema HM55 Production materials were selected. *A. castellanii* (Pat06 strains) and *A. hatchetti* (2HH strains) were used to determine whether the lenses were affected by the *Acanthamoeba* strains. Adhesion numbers of *Acanthamoeba* trophozoites to lens surface were assessed as time dependent (15 minutes, 1st and 24 hours). In addition, scanning electron microscopy (SEM) analyzes of the lens surface were performed in order to evaluate the effect of lens surface topology on adhesion.

According to our results, in both amoebic strains, the number of amoeba adhered to the contact lens surface was found lower with PF and PH production materials, than lenses with HM, PM and HM55 production materials ( $p < 0.05$ ). No significant difference was detected in terms of amoebic strains adhered in all the contact lenses types ( $p > 0.05$ ). No significant difference was found on average amoeba adhesion between contact lenses with Hema production material but different water contents (45%, 55%), to see the effect of water content on amoebic adhesion ( $p > 0.05$ ). As a result of SEM analyzes, surface topology showed no effect on adhesion.

According to the obtained data; it has been reached the results of that, *Acanthamoeba* adhesion to cosmetic contact lens surface is being originated by the natural polymer structure and / or chemical attractiveness of the lens, as irrespective of the water content and the surface properties of the lenses, in addition *Acanthamoeba* species-related factors may be effective in amoebic adhesion.

**Key words:** *Acanthamoeba*, Cosmetic Contact Lens, Adhesion



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
<b>İÇ KAPAK</b> .....	i
<b>ONAY</b> .....	ii
<b>YÖNERGE</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>ABSTRACT</b> .....	vii
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	ix
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	xi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	xii
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	xiii
<b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Sınıflandırma.....	4
2.3. Morfoloji ve Yaşam Döngüsü.....	5
2.4. Bulaşma Yolları.....	8
2.5. Epidemiyoloji.....	10
2.6. Patogenez ve Klinik.....	12
2.7. Tanı.....	15
2.8. Tedavi.....	16
2.9. Kontakt Lensler.....	18
2.9.1. Kontakt Lens Çeşitleri.....	19
2.9.1.1. Sert Kontakt Lensler.....	19
2.9.1.2. Gaz Geçirgen Sert Kontakt Lensler.....	19
2.9.1.3. Yumuşak Kontakt Lensler.....	19
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b> .....	23
3.1. Kontakt Lensler.....	23
3.2. Amip Suşlarının Elde Edilmesi ve Üretilmesi.....	24
3.2.1. Amip suşları.....	24
3.2.2. Amiplerin Üretilmesi.....	24
3.3. Amiplerin Kontakt Lensler Üzerine Adezyonun Değerlendirilmesi.....	25
3.4. Scanning Elektron Mikroskobu İncelemeleri.....	27
3.5. İstatistiksel Analiz.....	27

<b>4. BULGULAR</b> .....	28
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	42
<b>6. SONUÇLAR</b> .....	51
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	52
<b>ÖZGEÇMİŞ</b> .....	58



## TABLÖLAR

	<u>Sayfa No</u>
<b>Tablo 1:</b> Kontakt lens tarihindeki ana gelişmeler.....	21
<b>Tablo 2:</b> alışmada Kullanılan Kontakt Lenslerin zellikleri.....	23



## ŞEKİLLER

### Sayfa No

<b>Şekil 1:</b> Özgür Yaşayan Amiplerin Sınıflandırılması.....	5
<b>Şekil 2:</b> Çalışmada Kullanılan Kontakt Lenslerin X8 Büyütmedeki Konfügurasyonları.....	24
<b>Şekil 3:</b> <i>Acanthamoeba</i> Trofozoitlerinin Kozmetik Kontakt Lensler Üzerine Adezyonunun Değerlendirme Basamakları.....	26
<b>Şekil 4:</b> İki Farklı <i>Acanthamoeba</i> suşunun 15. Dakikada Kontakt Lenslerin Yüzeylerine Yapışma Sayısı .....	29
<b>Şekil 5:</b> 15. Dakikada Farklı Üretim Materyaline sahip Kontakt Lens Yüzeyine Yapışan Amiplerin X20 Büyütmedeki Görünümü.....	30
<b>Şekil 6:</b> İki Farklı <i>Acanthamoeba</i> suşunun 1. Saatte Kontakt Lenslerin Yüzeyine Yapışma Sayısı.....	31
<b>Şekil 7:</b> 1. saatte Farklı Üretim Materyaline sahip Kontakt Lens Yüzeyine Yapışan Amiplerin X20 Büyütmedeki Görünümü.....	32
<b>Şekil 8:</b> İki Farklı <i>Acanthamoeba</i> suşunun 24. Kontakt Lenslerin Yüzeylerine Yapışma Sayısı.....	33
<b>Şekil 9:</b> 24. saatte Farklı Üretim Materyaline sahip Kontakt Lens Yüzeyine Yapışan Amiplerin X20 Büyütmedeki Görünümü.....	34
<b>Şekil 10:</b> 15. Dakika 1. Saat ve 24. Saat dilimlerinde farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeyine yapışan amip sayıları.....	36
<b>Şekil 11:</b> Farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 500X büyütmede SEM görüntüsü.....	38
<b>Şekil 12:</b> Farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 2000X büyütmede SEM görüntüsü.....	39
<b>Şekil 13:</b> Farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 10000X büyütmede SEM görüntüsü.....	40

## KISALTMALAR/SİMGELER

<i>A. castellanii</i>	<i>Acanthamoeba castellanii</i>
<i>A. hatchetti</i>	<i>Acanthamoeba hatchetti</i>
<b>ÖYA</b>	Özgür Yaşayan Amipler
<b>GAE</b>	Granülamatöz Amibik Ensefalit
<b>DNA</b>	Deoksiribo Nükleik Asit
<b>ISO</b>	International Organization for Standardization
<b>CDC</b>	Disease of the Centers for Disease Control
<b>IgA</b>	İmmün Globulin A
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>TNF</b>	Tümör Nekroz Faktör
<b>TLR</b>	Toll Benzeri Reseptör
<b>NNA</b>	Besleyici Değeri Olmayan Agar
<b>PPYG</b>	Proteaz pepton- maya özütü- glukoz besiyeri
<b>PHMB</b>	Polyhexamethylene Biguanide
<b>HM</b>	Hema Copolimer
<b>PH</b>	Polihema
<b>PM</b>	Polimacon
<b>PF</b>	Phemfilcon
<b>PMMA</b>	Polimetilmetakrilat
<b>HEMA</b>	Hidroksietilmetakrilat
<b>HM55</b>	%55 Su içerikli hema
<b>NaCl</b>	Sodyum Klorid
<b>MgCl<sub>2</sub></b>	Magnezyum Klorid
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Su
<b>FeSO<sub>4</sub></b>	Demir sülfat
<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	Monopotasyum Fosfat
<b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	Disodyum Fosfat
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	Kalsiyum Klorid
<b>SEM</b>	Scanning Electron Microscop
<b>SANTİGRAT</b>	°C

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Özgür yaşayan protozoonlardan olan patojen özellikteki *Acanthamoeba* türleri insan korneasına invaze olarak *Acanthamoeba keratiti* meydana getirirler. Özellikle 1980'li yıllara kadar nadir görülen bu enfeksiyon, o yıllardan itibaren yumuşak kontakt lens kullanımının artışından dolayı *Acanthamoeba keratiti* insidansında da artışa neden olmuştur. *Acanthamoeba keratiti* gelişiminden kontakt lensler özellikle de yumuşak kontakt lensler sorumlu tutulmaktadır. Kontakt lenslerin uygun olmayan şekilde dezenfekte edilmesi, musluk suyu kullanımı, kontakt lensle yüzme, duş alma, kontakt lenslerle uyuma, kontakt lens kullanım süresinin aşılması gibi yanlış uygulamalar lens ilişkili enfeksiyon nedenleridir. Ayrıca korneada meydana gelen travmalar ve kornea cerrahisi de *Acanthamoeba keratiti*'nden sorumlu tutulmaktadır. Enfeksiyonda çok şiddetli oküler ağrı, kızarıklık, aşırı gözyaşı üretimi, bulanık görme ve halka şeklinde stromal infiltrasyonlar olabilmektedir. Tanıda erken dönemde korneal kazıntı örneği, ilerlemiş evrelerde ise korneal biyopsi örnekleri üzerinden paraziti saptamak hala altın standart olma özelliğini korumaktadır. *Acanthamoeba keratiti* tedavisinde farklı suşların değişken patojenite göstermesi ve bireysel özellikler nedeniyle etkili bir tedavi yöntemi kurmak oldukça zordur. Tedavide etkili ilaçlar olarak biguanidler, chlorhexidine, propamidine isethionate, dibromopropamidine, hexamidine, desomedine ve özellikle hexadecylphosphocholine (milfestone)'un etkili olduğu gösterilmiştir. Enfeksiyon tedavi edilmezse körlükle veya enükleasyonla sonuçlanmaktadır.

Bu araştırmadaki amacımız temel olarak dört başlık altında toplanabilir:

- I. Farklı üretim materyallerine sahip kontakt lens yüzeyine amip adezyonunun değerlendirilmesi.
- II. Kontakt lenslerin içerdikleri su miktarlarının amip adezyonuna etkisinin değerlendirilmesi.
- III. Adezyonda amip türünün etkisini görmek amacıyla iki farklı *Acanthamoeba* türünün (*A. castellanii*, Pat06 suşu ve *A. hatchetti*, 2HH suşu) adezyon potansiyellerinin karşılaştırılması.
- IV. Scanning elektron mikroskobu (SEM) analizleri ile lens yüzey topolojisinin *Acanthamoeba* trofozoitlerinin adezyonuna etkisinin değerlendirilmesi.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.TARİHÇE

Cole'ye göre özgür yaşayan amipler (ÖYA) ilk defa 1755 yılında Roesel von Rosenhof tarafından bulunmuştur ve araştırmacı "The Small Proteus" olarak tanımladığı amibin hareketini, protoplazmasının kısımlarını tanımlamış ancak bu amibin karyozom ve kontraktıl vaküolünü tanımlamamıştır (Cole, 1926). ÖYA'lerin başta biyolojileri olmak üzere çeşitli yönlerden ele alınıp incelenmeleri en çok 1930 ile 1990 yılları arasında olmuştur. Bu dönemin başlarında bu amiplerin, bakteriyolojik, mikolojik kültürlerde, sonraları da doku kültürlerinde üredikleri saptanmış fakat bu durum genelde kontaminasyon olarak değerlendirilmiştir. 1930'da Castellani maya kültür plaklarında kontaminasyon olarak meydana gelen bir amip elde etmiş ve araştırmacı bu amibi *Hartmanella* olarak isimlendirmiştir. 1931'de cins ismi olarak Volkonsky tarafından *Acanthamoeba* olarak adlandırılmıştır. 1967'de ise Page bu amibi *Acanthamoeba polyphaga* olarak tanımlamıştır (Visvesvara ve ark., 2007, Visvesvasra, 1991). Özellikle 1960'lı yıllarda ÖYA'lerin ince yapılarının incelenmesi, antijenik yapılarının belirlenmesi, serolojik özellikleri ve bu özelliklerinin sınıflamada kullanımı, DNA komponentlerinin ve enzimlerinin belirlenmesi, beslenmeleri, sitokimyasal ve biyokimyasal özelliklerinin saptanması gibi birçok konuda araştırmalar yapılmıştır (Saygı, 2003). 1990'dan sonra ÖYA'lerle ilgili olarak en önemli gelişme bir gorilin beyninden izole edilen ve başlangıçta "*Leptomyxid amip*" olarak adlandırılan amiptir (Visvesvara ve ark., 1990). Bu amip daha sonra *Balamuthia* cinsine alınmış ve ilk soyutulduğu hayvandan esinlenilerek *B. mandrillaris* tür ismi verilmiştir (Visvesvara ve ark., 1993). Özellikle 1890'lı yılların ortalarından



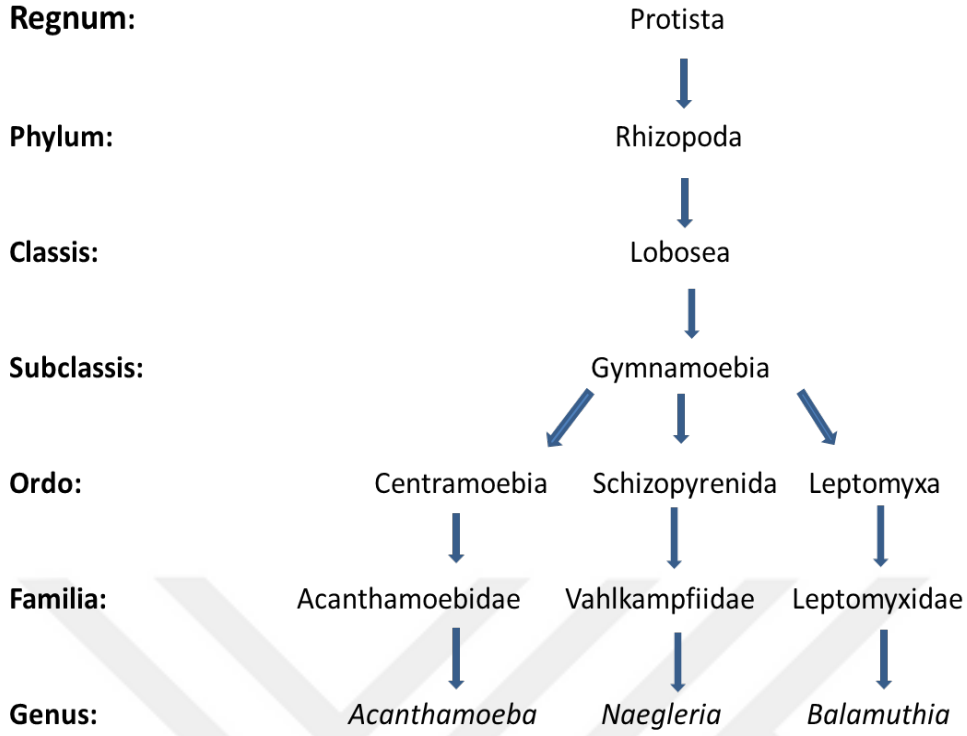
günümüze kadar kontakt lens kullanımının artması ile keratit bu amiplerin beyin yerleşimine bağlı olarak gelişen Granülomatöz Amibik Ensefalit (GAE) ile ilgili birçok olgu bildirilmiştir. Buna ek olarak, yine bu yıllar içinde, ÖYA'nın beyin ve göz dışında, deri, kemik, akciğerler, ürogenital sistem ve böbrek üstü bezlerinde de yerleşebildikleri saptanmıştır (Saygı, 2003).

*Acanthamoeba keratiti* ilk olarak 1970'li yılların başlarında tanımlanmıştır ve 1980'li yılların başlarından ortalarına kadar dramatik bir şekilde lens kullanımının artmasıyla birlikte vaka sayısında da artış gözlenmiştir

( Alkharashi ve ark., 2015).

## **2.2. SINIFLANDIRMA**

ÖYA'lerin sınıflandırılması Şekil 1'de verilmiştir. Bu sınıflandırma şemasına göre *Acanthamoeba* cinsi Acanthamoebidae familyası, Centramoebia takımı, alt sınıfı, Lobosea sınıfı, Rhizopoda şubesi (filumu) ve Protista alemi içerisinde yer almaktadır (Visvesvara ve ark., 2007).



Şekil 1. Özgür yaşayan amiplerin sınıflandırılması (Visvesvara ve ark., 2007).

### 2.3. MORFOLOJİ VE YAŞAM DÖNGÜSÜ

*Acanthamoeba* türleri, morfolojilerine ve kist halindeki ölçülerine göre ilk kez 1977 yılında Pussard ve Pons tarafından 3 ayrı gruba ayrılmışlardır. Grup 1’de 4 tür amip bulunmaktadır, türlerin tümü geniş amiplerdir, kist halinde 16-30 µm büyüklüğündedir ve ektokist ile endokist arasında geniş boşluk vardır. Grup 2 en fazla türdeki amipleri içermektedir (11 tür), kist ölçüleri ise yaklaşık 18 µm veya daha azdır. Grup 3’te 5 tür bulunmaktadır, kist ölçümleri 28 µm veya daha azdır, ektokist ve endokist incedir ve 3-5 adet az belirgin köşeye sahip olan türlerden oluşmuştur. Grup türleri her ne kadar morfolojik özelliklere dayandırılarak oluşturulsa da güvenilir olmadığı düşünülmektedir çünkü kist morfolojisindeki değişimler, türlerin kimliğinde hassas karakteristik özellikler ortam koşullarından da kaynaklanabilmektedir. Bu

sebeple non-morfolojik kriterler örneğin protein ve isoenzim profilleri, tür tayininde morfolojik kriterlere ek olarak kullanılmıştır. Patojenik ve non-patojenik *Acanthamoeba* ayırımında fizyolojik farklılıklar olduğu kadar protein ve antijen profilleri de kullanılmaktadır (De Jonckheere, 1983, Visvesvara ve ark., 2007).

Günümüzde *Acanthamoeba* türleri rRNA gen dizi analizi temellerine dayandırılarak 19 farklı genotipte ( T1-T19) ayrılmıştır. (Martin-Navarro ve ark., 2015). Önceleri sadece T4, T3 ve T2 genotipindeki *Acanthamoeba* suşlarının patojen olabileceği düşünülürken, sonraları farklı genotiplerinde (T11, T13, T15) *Acanthamoeba* keratitine sebep olabileceği gösterilmiştir (Fuerst, 2014, Niyyati ve ark., 2014, Niyyati, 2015).

*Acanthamoeba* cinsinin yaşam döngüsünde iki dönem tanımlanmıştır: Birincisi aktif olarak beslenen, büyüyen, bölünen ve hareketlerini, parmak şeklinde olan lopopod ve akantapod (acanthapodium) denilen dikensi yalancı ayakları ile gerçekleştiren, boyutları 25-56 µm arasında değişiklik gösteren trofozoit formu, ikincisi ise dış çevre koşullarına daha dirençli olan kist formudur. Kistlerin boyutları 13-20 µm arasında değişiklik gösterir, çekirdekçiği merkezi konumda olan tek çekirdeğe sahiptir ve çekirdeğin şekli yuvarlaktır. Hücre çeperleri endokist ve ektokist denilen iki tabakadan oluşur ve çoğunlukla dış tabaka kıvrık, iç tabaka polihedral bir görünüme sahiptir; bu dönemin morfolojisi tür ayırımında kullanılmaktadır (Akın Polat, 2005, Byers ve ark., 1991).

Trofozoitler; kendi hareketleriyle bakteri, alg ve mantarları fagosite ederek beslenebilirler ve sıvı ortamda erimiş halde bulunan besinleri de pinositoz yoluyla hücre içine alabilmektedirler. Hücre sitoplazmasında çeşitli besin

vakuolleri bulunmaktadır ve trofozoitlerde yer alan organellerin tipik bir ökaryotik hücre yapısında olduğu; trofozoitlerinde düzgün ve kıvrımlı endoplazmik retikulum, golgi cisimcikleri, serbest ribozomlar, besin vakuolleri, mitokondri ve mikrotübüllerin olduğu yapılan elektron mikroskobu çalışmalarıyla gösterilmiştir. Trofozoitteki stoplazmik içerik üç katmanlı bir plazma membranı ile çevrilidir ve sitoplazmada bulunan, hücrenin su içeriğini belirli bir seviyede tutan kontraktıl vakuoller (bir veya birden fazla olabilir) ve büyük merkezi bir nukleolusu bulunan çekirdek, trofozoitin diğer farklı özelliklerindedir. Genelde tek bir çekirdeğe sahip olan trofozoitler, sıvı kültürlerde çok çekirdekli olarak görülebilir (Üstüntürk, 2014).

*Acanthamoeba* trofozoitleri sıcaklık, besin azlığı, kuruluk ve pH kültür ortamında metabolik toksinlerin birikiminden kaynaklı durumlarda ve çevre şartlarına uyum sağlamak için kist formuna dönebilmektedirler. Aynı zamanda bu süreç muhtemelen *Acanthamoeba* keratiti patogeneğinde önem taşımaktadır (Üstüntürk, 2014, Carnt, 2016).

Kistlerin asitle çözülmeyen proteinler ve selüloz içeren çift katlı duvarları vardır ve bu yapılar kistleri kurumaya, ultraviyole, radyasyon ve kimyasal ajanlara karşı dirençli hale getirir (Kobayashi ve ark., 2015, Mazur ve ark., 1995). Kistlerin su, oksijen, karbondioksit gibi küçük moleküllere göre karşı geçirgen, diğer çeşitli kimyasallara karşı yalıtkan olan çift katlı duvara sahip olması, farklı dezenfektanlara karşı da yüksek dirence sahip olduğunu göstermiştir (Kobayashi ve ark., 2015). Ancak, *Acanthamoeba* kistlerinin çeşitli kimyasallara karşı duyarlılığını araştırdıkları çalışmalarında %20 isopropil alkole karşı duyarlı olduklarını bildirmişlerdir (Aksozek ve ark., 2002).

## 2.4. BULAŞMA YOLLARI

Amipler; deniz suyunda, doğal su kaynaklarında, toprakta, havada, içme sularında, yüzme havuzlarında, kontakt lens sıvıları gibi birçok ortamdan izole edilmişlerdir (Khan ve ark., 2002, Markel ve ark., 1992, Seal, 2003).

*Acanthamoeba keratiti* her ne kadar korneal yaralanmalarla oluşsa da vakaların %85'i kontakt lens kullanımından kaynaklanmaktadır (Radford ve ark., 1995). Yumuşak kontakt lens kullanımı *Acanthamoeba keratiti* gelişimi için en yaygın ve en önemli risk faktörüdür. Araştırmalar, gelişmiş ülkelerde görülen *Acanthamoeba keratiti* olgularının %64-93.3 oranlarında yumuşak kontakt lens kullanımıyla ilişkili olduğunu göstermiştir (Jonathan ve ark., 2014, Page, 2013).

Genellikle kontamine lens kabı ve yumuşak kontakt lense dokunmadan önce elleri yıkamamak, lenslerin musluk suyuyla yıkanması, ev yapımı tuzlu su kullanma *Acanthamoeba keratiti* bulaşımında en etkili faktörlerdir. Ayrıca bulaşlı suların kornea dokusuna direkt olarak temas etmesi *Acanthamoeba keratiti* için hazırlayıcı faktörlerdendir. Araştırmalar, asemptomatik kontakt lens kullanıcılarının lens saklama kutularında bakteri kontaminasyonun, *Acanthamoeba*'ların gelişimi için uygun ortam hazırladığını göstermiştir (Cheung ve ark., 2016, Kobayashi ve ark., 2015, Saygı, 2003, Beattie, 2009). Bu şekilde kötü hijyen uygulamaları organizmanın lense yapışmasına imkan verir, enfeksiyon için ön koşul oluşturur. Çünkü lens bir mekanik vektör olarak organizmanın kornea yüzeyine yayılmasına ve enfeksiyon meydana gelmesine sebep olabilir (Lakhundi ve ark., 2016).

Sağlıklı bir kornea, zaman içinde gelişen sayısız patojenle savaşmak için güçlü ve çok katmanlı bir savunma sistemine sahip olsa bile kontakt lens kullanımı korneal fizyolojiyi önemli ölçüde değiştirebilir. Örneğin, korneal doku hipoksisi korneal metabolizma hızını azaltarak mikrobiyal enfeksiyonlara karşı direnci bozabilir. Ayrıca, lensin kornea yüzeyine sürekli sürtünmesi genellikle küçük epitelyal erozyonlara neden olarak amip yapışmasını ve dokuya invaze olmasını kolaylaştırabilir. Bu durumun, *Acanthamoeba* patojenik mekanizması için kritik bir adım olduğu düşünülmektedir (Omana-Molina ve ark., 2014, Woo ve ark., 2014). Kontakt lens kullanımı sırasındaki aşınım ve büyük olasılıkla çok amaçlı dezenfektan solüsyonlarının bileşenleri, gözyaşı filmi bileşenlerine yaptığı olumsuz etki de enfeksiyonun gelişiminde etkilidir. Bununla birlikte, kozmetik kontakt lenslerin diğer lenslere kıyasla her iki yüzeyi de daha serttir. Ayrıca eğer renk pigmentleri ön yüzeyde ise palpebral konjunktivaya yaptığı mekanik tahrişten dolayı kontakt lens ilişkili komplikasyonların riskini daha fazla arttırdığı bildirilmektedir (Chan ve ark., 2014).

Ticari piyasada çok çeşitli temizleme ve/veya dezenfektan solüsyonları bulunmasına rağmen daha sık olarak yumuşak kontakt lenslerin rutin bakımında temizleme, ovma ve dezenfeksiyon işlemlerini bir arada sunan çok amaçlı solüsyonlar kullanılmaktadır (Kobayashi ve ark., 2015). Piyasadaki kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının, kontakt lenslerin hijyenik bir ortamda muhafaza edilmesine ve gözün enfeksiyonlara karşı korunmasına yardımcı olması gerekir. Bu sebepten ötürü, kontakt lens dezenfektan solüsyonları kontakt lenslerin tüm yüzeyinde ve lens muhafaza kaplarında oluşabilecek patojen mikroorganizmaların üremelerini engellemelidir. Buna

rağmen yapılan pek çok çalışmada kontak lens kullanan kişilerin dezenfektan solüsyonlar kullansalar bile, lens kaplarında mikrobiyal kontaminasyon mevcudiyeti bildirilmiştir. Yapılan çalışmalar, *Acanthamoeba* kistlerinin kontakt lens dezenfektan solüsyonlarına karşı oldukça dirençli olduğunu ve kontakt lens muhafaza kaplarında bulunan bakteriler ve mantarlar, bu amipler tarafından besin kaynağı olarak kullanılıp sayılarını arttırabileceklerini göstermiştir (Üstüntürk, 2014). Farklı temizlik işlemleri ve çözümleri farklı çalışmalarda ele alınmıştır. Örneğin, *Acanthamoeba castellanii* durulama ve ovma prosedürü kullanıldığında yapışması önemli ölçüde azalmıştır (Reverey ve ark., 2014).

## **2.5. EPİDEMİYOLOJİ**

*Acanthamoeba keratiti* gelişimi; epitelyal travma, etkenin korneaya teması, organizmanın virülen gücü, organizma sayısı gibi çeşitli faktörlerle bağlantılı olduğu yapılan araştırmalarla ortaya koyulmuştur (Carnt, 2016, Gökpınar, 2010). Literatürde *Acanthamoeba keratiti* vakalarının çoğu kontakt lens kullanımıyla ilgilidir (Pacella ve ark., 2013). Kontakt lens kullanıcılarında *Acanthamoeba keratiti* için epidemiyolojik olarak risk: kirlenmiş su kaynakları, bölgesel su taşkınları ve yaygın bir şekilde kullanılan yetersiz kontakt lens dezenfeksiyon solüsyonları da dahil olmak üzere birçok olası kaynakla ilişkilendirilmiştir (Omana-molina ve ark., 2014).

*Acanthamoeba keratiti* ile ilgili ilk olgu 1970'lerde meydana gelmiştir. Üç vakadan ikisi erkek çiftçilerde korneal travma nedeniyle meydana gelmiştir. 1980'lerde kontakt lens kullanımının artmasıyla vaka sayısı da artmıştır. CDC (Disease of the Centers for Disease Control)'nin 1973-1988 yılları arasındaki

verileri sunduğu rapora göre risk faktörleri olarak: kontakt lens kullanımı, kontamine sularla temas, kuyu suyu kullanımı, su sporları ve özellikle kontakt lenslerle yüzme olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak, rapora göre lens kullanıcı yaşı, organizmaya maruziyet riski (26 yaşından daha küçük ve 55 yaşından daha büyükler için), ilk kez lens kullananlar ve günlük 12 saatten fazla kullananlarda riskinin arttığı vurgulanmıştır (Carnt, 2016).

Yurdumuzda ilk *Acanthamoeba* keratiti olgusu ise 1996 yılında Elazığ'dan (Akyol ve ark., 1996) ikinci olgu ise İzmir'den 1999 yılında bildirilmiştir (Akisu ve ark., 1996). 2009 yılında da Eskişehir'de 5 aydır kontakt lens kullanan, her iki gözde kızarıklık, batma, yanma ve görmede bulanıklık şikayetiyle göz hastalıkları kliniğine başvuran bir hastaya yapılan klinik ve laboratuvar incelemeleri sonucunda *Acanthamoeba* keratiti tanısı konulmuştur (Ertabaklar ve ark., 2009).

Dünya çapındaki son çalışmalarda *Acanthamoeba* keratiti enfeksiyonunun sayısının arttığı gözlenmiş; kontakt lens kullananlarda milyonda 17 ila 70 arasında olgu olduğu rapor edilmiştir (Omana-Molina ve ark., 2014). İngiltere'de vaka oranı her yıl 0 ila 85 milyon lens kullanıcılarında bir olduğu bildirilmiştir. Orandaki farklılığın kireçli su oranına bağlı olarak değiştiği, sıhhi tesisatta kireç kalıntısı olan bölgelerde bu amiplerin daha yoğun olarak bulunduğu bildirilmiştir. İngiltere'de yaygın olarak banyo suyu tedariki için kullanılan su depolama tanklarının da organizmanın çoğalmasını desteklediği düşünülmektedir (Carnt, 2016). Amerika ve İngiltere'nin merkezinde Moorfields Göz Hastanesinde *Acanthamoeba* keratiti vakalarının sayısının son yıllarda artış gösterdiği kaydedilmiştir (Chawla ve ark., 2014). Nedeni bilinmemekle birlikte bir vakadan bildirilen alışılmamış patojen T5 suşunun



ilaçlara karşı daha dirençli olması ve enükleasyon olgularının sayısındaki artış; son zamanlarda görülen vakaların şiddetinin arttığını gözlenmesi organizmanın virulansının arttığı izlenimini uyandırmıştır (Carnt , 2016).

## 2.6. PATOGENEZ VE KLİNİK

*Acanthamoeba* keratitinde, enfeksiyonunun başlangıcında organizmanın oküler yüzeye adezyonu gerekmektedir. Sıklıkla ilk yapışma kornea epitel yüzeyi ile mevcut spesifik reseptörler veya hasarlı hücreler üzerinde gerçekleşmektedir. Korneal savunmanın eksikliğinde spesifik olmayan savunma (gözyaşı) vasıtasıyla birçok mikroorganizma hızlı bir şekilde oküler yüzeye hareket eder. Kontakt lens kullanımı esnasında ellerden, su kaynaklarından veya lens saklama kaplarından alınan amipler lens aracılığıyla vektör görevi görür. Lensin arka yüzü kullanım esnasında nispeten daha hareketsizdir böylelikle oküler yüzeyde organizmalar uzun süre tutulur ve çoğalabilir. Organizmanın virulansına bağlı olarak oküler yüzeye yapışma ve içine girme potansiyeli değişir (Willcox, 2001).

Bakteriyal enfeksiyonlar gibi, kornea epiteline yapışma *Acanthamoeba* keratiti patogenezi başlangıcı için önemli bir adım olarak görünür. Amibin kornea ile temas süresi uzadıkça amip daha derin doku tabakalarına ulaşır. *Acanthamoeba* keratiti oluşması için korneal travma ön koşuldur. Mannoza bağlayıcı glikoprotein reseptörlerinin artması kornea epitel hücrelerine hasar verir, membran yüzeyindeki mannoza bağlayıcı glikoproteinler hasarlı epitel hücreler vasıtasıyla trofozoitlere bağlanır. Mannozların neden olduğu trofozoitlere maruziyetten MIP133 salınır, bu molekül düşük moleküler ağırlıkta proteazdır ve kornea epitel hücreleri için sitolitikdir. Bağlanma ve

patojenite, büyük oranda *Acanthamoeba* mannoz bağlayıcı proteinleriyle ilişkilidir. T4 genotipi diğer genotiplere kıyasla daha güçlü bir şekilde konak hücrelerine bağlanarak daha büyük sitotoksik etki oluşturmaktadır. Bu yüzden insan korneal keratitinde en fazla bu genotip temsil edilebilmektedir (Garate ve ark., 2006, Noorjahan, 2010). *Acanthamoeba* enfeksiyonlarına karşı savunma kapsamında insan göz yaşı spesifik IgA hücreleri içermektedir ve bunlar mannoz bağlayıcı proteinlerin konak hücrelerine tutunmasını engellemektedir. İnsan gözyaşı ayrıca IgA bağımsız faktörlerini içerir ki bunlar indüklenmiş *Acanthamoeba* sitopatik etkisine karşı sitotoksik protezları engelleyerek koruma sağlar. Enteresan bir şekilde, sağlıklı kişilerle *Acanthamoeba* keratitli bireylerin gözyaşı içerikleri karşılaştırıldığında, *Acanthamoeba* antijenlerine karşı gözyaşı spesifik IgA antijenleri seviyesinin azaldığı gösterilmiştir (Campos-Rodriguez ve ark., 2004).

*Acanthamoeba* temas bağımsız birçok serin proteaz üretir. Hem temasa bağlı hem de temasa bağlı olmayarak türetilen proteazların güçlü sitopatik etkileri vardır ve kornea epitel hücrelerinde yıkıma neden olurlar. Epitelyal bazal membran ve altında yatan stromal matriks ve sonuçta amibin korneanın daha derin tabakalarına nüfuz etmesi ile sonuçlanır. Trofozoitler korneal stromanın dissolüsyonuna katkı sağlamak için stromada birçok proteaz üretir. Bunları MIP133, bir kollajenaz, bir matriks metalloproteinaz ve bir *Acanthamoeba* plazminojen aktivatörü içerir. MIP133 *Acanthamoeba* keratiti patogeneğinde anahtar rol oynar, büyük olasılıkla kaspaz-3'e bağlı yol vasıtasıyla kornea epitel hücreleri ve keratositler apoptosis için indüklenir. MIP133 izolatlarının eksikliğinde düşük virulans ve patojenite göstermektedir (Garate ve ark., 2006).

Ratlarla ve doku kültürlerinde yapılan çalışmalarda *Acanthamoeba* enfeksiyonlarına Toll-like Reseptör 4 (TLR4) sayısı artmaktadır. Bu ise daha sonra IL-8 ve TNF- $\alpha$  üretimini uyarır. İnsan kornea epitel hücrelerinin *Acanthamoeba* trofozoitleri tarafından uyarılması sonucunda, insan beta defensin-2 ve 3, karaciğerden açığa çıkan antimikrobial peptid 1 ve 2 ve ribonukleazı içeren birçok antimikrobial peptidin sayısı artar. Ayrıca serin proteazlar konak matriks metalloproteinazın yıkımına yol açarak kornea ülserasyonuna da katkı sağlar (Ren, 2011).

*Acanthamoeba* keratitinin karakteristik klinik görünümü, beyazımsı, yangısal ve sıklıkla korneal ülserin etrafında halka yada yüzük şeklinde stroma infiltrasyonu ve stromada yangı hücrelerinin alanda toplanmasıyla karakterizedir (Gökpınar S. 2010). “Granülamatöz yangı” olarak tanımlanan bu durumda, hücrelerin çoğunluğu polimorf çekirdekli lökositler olup bazı lenfositlerle birlikte, makrofajlar da bulunmaktadır. Enfeksiyonda nötrofillerin yoğunlukta olduğu, lenfositlerin sayısının ise yüksek olmadığı bildirilmiştir. Zaman içerisinde korneal ülserasyon perfore olabilmektedir (Özcel ve ark., 2007).

Klinik olarak konjonktivada kızarıklık, korneada enflamasyon, episklerit ve sklerit oluşumu görülür. Nadiren trofozoitler, kornea sinirlerine infiltre olursa nörit ve nekroz meydana gelebilmektedir. Bu durumda koroidoretinit meydana gelerek kornea duyu refleksi azalabilir ve sonraki dönemlerde görmenin azalması, şiddetli ağrı, konjonktival ödem, hypopion ve üveit görülebilir. Kornea epitelindeki infiltrasyonlar tarafından üretilen stromal defektler sık görülür (Akın Polat ve ark., 2007, Khan ve ark., 2002).

## 2.7. TANI

*Acanthamoeba keratiti* klinik olarak bazı bakteriyel ve viral enfeksiyonlarla karıştığı için çoğunlukla yanlış tedavilere ve buna bağlı olarak ta tedavide gecikmelere sebep olmaktadır. Eğer enfeksiyona erken dönemde tanı konulursa enfeksiyonu tedavi etme olasılığı daha yüksektir (Akın Polat, 2005).

Tanıda inceleme materyali, enfeksiyon erken dönemde ise korneal kazıntı örneği, ilerlemiş enfeksiyonlarda ise korneal biyopsi örneğidir. Kornea kültürü *Acanthamoeba keratiti* tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. *Acanthamoeba* türleri üzerine bakteri sürülmüş olan (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* gibi) besleyici değeri olmayan agar (NNA) plaklarında kolaylıkla kültür elde edilebilir. Amipler, agar yüzeyinde bulunan bakterilerle beslenerek çoğalırlar. Agar plakları mikroskop altında trofozoit ve/veya kist varlığı yönünden incelenir (Carnt, 2016).

Boyama çeşitli örneklerde kist ve trofozoit tespiti ve amiplerin ayrıntılı incelenmesi açısından pratik bir yöntemdir. Hızlı ve kolay boyama için Laktofenol mavisi, giemsa, kalcoflor beyazı, akridin oranj genellikle iyi sonuçlar ortaya çıkarmaktadır. Eğer morfolojik detaylar çalışılacaksa gümüş boyama tavsiye edilmektedir ki bu boyama bilhassa kistler için oldukça uygundur. Spesifik immün boyanma olarak; anti –*Acanthamoeba* antikorları kullanılabilir ayrıca dokular hematoksilen-eosin ile boyanabilir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015).

Konfokal mikroskopi, özellikle hastalığın ileri evresinde kistleri tanımlamada ve tedaviyi izlemede yararlı bir yöntemdir. Bu mikroskopiye yaparken kistler kolaylıkla nötrofil, makrofaj gibi hücrelerle karıştırılabilir.

Trofozoitler sabit bir şekle sahip olmadıklarından konfokal mikroskopisinde tanınmaları zordur. Bu tanı yöntemi, *Acanthamoeba keratiti* tanı panelinin bir parçası olarak görülür ve hasta öyküsü, hasta bulguları ve laboratuvar sonuçlarıyla birlikte tanıya yardımcıdır (Carnt, 2016). Günümüzde kullanılan moleküler teknikler güvenilirliği yüksek yöntemlerdir. PCR amplikonlarının sekansları doğrudan dizileme ile ya da klonlama ile elde edilebilen yöntemler tanıda kullanılabilir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015).

## 2.8. TEDAVİ

*Acanthamoeba keratiti* tedavisi geciktiği takdirde ise amipler, korneanın derin tabakalarına yayılır ve bu durumda tedavi süresi birkaç ay, bir yıl ya da daha uzun olabilmektedir. Dokudaki trofozoitlerin kist haline geçmesi durumunda nüks etme olasılığı artar. Bu durumda kullanılan ilaçların bir çoğunun kistlere etkili olmamasından dolayı tedavi daha zor bir hal alır ( Akın Polat, 2005).

*Acanthamoeba keratiti* tedavisi, 1985 yılında ilk tedavinin raporundan beri gelişmektedir. Bu zor enfeksiyonun yönetimi; erken tanı ve medikal tedaviyle birliktedir. Tıbben dirençli olgularda erken epitel debridmanı ve penetran keratoplastiyi de kapsayan durumlar medikal tedaviyi kolaylaştıran yöntemler olabileceği bildirilmiştir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015). Şimdiye kadar genotipi ne olursa olsun *Acanthamoeba keratiti*ne karşı hiçbir kemoteropatik ajan tek başına etkili olamamıştır. Farklı suşların değişken patojenite göstermesi ve kişiye bağlı özellikler nedeniyle etkili bir tedavi yöntemini kurmak kolay değildir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015).

Literatürde tedavi protokolü hastalığın derecesine, korneanın genel sağlık durumuna bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Tedavide enfeksiyon bölgesinde yaygın olarak topikal antimikrobiyal ajanlar kullanılmaktadır. Ayrıca kist formu oldukça dirençli olduğundan genellikle kombine ilaçlar kullanılmaktadır. Güncel olarak kullanılan, hem *Acanthamoeba* kistlerine hemde trofozoitlerine karşı etkili olan topical ajan biguanidlerdir. Biguanidler düşük konsantrasyonda (%0.02) etkilidir fakat insan kornea epitel hücreleri için toksiktir. Chlorhexidine %0.02, aromatic diamidinlerle örneğin: %0.1 propamide isethionate, %0.15 dibromopropamide, hexamide, %0.1 desomedine ve neomycin ile eğer hastalığın erken evresinde uygulanırsa iyi sonuçlar edildiği bildirilmiştir. Polyhexamethylene Biguanide (PHMB ve chlorhexidine kombinasyonu *Acanthamoeba* keratiti tedavisinde hem kistlere hemde trofozoitlere karşı en etkili tedavi olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Chlorhexidine ve PHMB'nin her ikisi de yüksek derecede amiplere bağlanma özelliği olan mukopolisakkaritlerle yüklü pozitif moleküller içerir. İlaçlar daha sonra hücre membranının fosfolipid bariyerine olumsuz etkiler yaratarak hücre yıkımı ve ölümüne sebep olur Brolene tedavisinde ilaç toksisitesi ve ilaç direnci olabilir ve miconazole ile topikal tedavide epitelyal toksisiteye yol açabilir. Eğer ilaç direnci gelişirse keratoplasti uygulanabilir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015, Lim ve ark., 2008, Ficker ve ark., 1990, Lorenzo-Morales ve ark., 2013, Marciano-Cabral, 2003).

*Acanthamoeba* keratiti tedavisinde steroid kullanımı hususunda net bir fikir birliği yoktur. Uzmanların çoğu bu enfeksiyonun tedavisinde steroid kullanımından kaçınılmasını, başka nedenlerle steroid tedavisi alan hastalar için ise steroid tedavisi tamamlandıktan birkaç hafta sonra anti-amoebik

tedaviye devam edilmesi gerektiğini vurgulamaktadırlar. Ayrıca steroidler amiplerin enkiste ve ekskiste olma süreçlerini kısıtladığından dolayı tedaviye direnç sorunlarının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Dahası, steroid kullanımıyla amiplerin patojenitesinin arttığını gösteren kanıtlar da vardır. McClellan ve ark. tarafından yapılan kortikosteroid ilaveli yapılan bir *in vivo* çalışmada düşük dozlarda steroid kullanılsa bile amip trofozoitlerinin sayısında bir artış olduğu, enfekte kornea stromasından üretilen enkiste olmuş hücreler saptanmıştır (Lorenzo-Morales ve ark., 2015, Robaei ve ark., 2014, Tryzyna ve ark., 2008). Ayrıca son yapılan çalışmalarda *Acanthamoeba* türlerine karşı özellikle hexadecylphosphocholine (miltefosine) yüksek derecede etkili olduğu gösterilmiştir (Akın Polat ve ark., 2014, Akın Polat ve ark., 2012).

Maksimum anti-amibik tedaviye rağmen enfeksiyon kornea stromasına doğru yayılım gösterdiğinde teröpatik penetran keratoplasti önerilmektedir. Ameliyat sonrasında dokularda kalabilecek amipler için medikal tedaviye en azından birkaç ay daha devam edilmesi gerektiği de belirtilmektedir (Lorenzo-Morales ve ark., 2015, Abdulhalim ve ark., 2015, Cohen ve ark., 1987).

## **2.9. KONTAKT LENSLEER**

Kontakt lensler, gözlüğe alternatif olarak piyasaya sunulan, korneaya yerleştirilerek bazı hastalıkların tedavisi veya kozmetik amaçlı olarak da kullanılabilen protezlerdir. Kullanım amaçları arasında miyop, hipermetrop, astigmatizmayı düzeltmek veya kozmetik olarak da göz rengini değiştirmek, değişik bir ifade sağlamak, korneal kusurları gizlemek ve ayrıca oyuncular tarafından sahnede körlük, katarakt gibi etkiler ortaya çıkarmak sayılabilir.

Gözlüğün çevresel görüşü sınırlaması, spor yaparken kayması ve buğulanması gibi dezavantajlarının olmasından dolayı ve ayrıca lenslerin kozmetik açıdan güzel görünüm sağlaması nedeniyle kontakt lenslerin kullanımı giderek daha yaygın hale gelmiştir. Doğru bir şekilde kullanıldığında gözlüğe göre daha geniş bir görme alanı sunabilen kontakt lensler, bilinçsiz ve ehliyetsiz kişiler tarafından yanlış bir şekilde kullanımında ise sağlık açısından büyük riskler ortaya çıkarabilmektedir (İnal, 1998, Özsu, 2007).

### **2.9.1. Kontakt Lens Çeşitleri**

#### **2.9.1.1. Sert Kontakt Lensler**

PMMA (polimetilmetakrilat) adı verilen materyalden üretilmektedir, oksijen ve sıvı geçirgenlikleri azdır. Kişilerin bu lense uyum süreci oldukça uzun sürmektedir. Günümüzde bu lenslerin kullanımı oldukça azdır (Özsu, 2007).

#### **2.9.1.2. Gaz Geçirgen Sert Kontakt Lensler**

Saf silikon veya selüloz asetat butirat gibi materyalden üretilirler. Lens üzerinden korneaya oksijen geçişi sağlanabilmektedir. Korneanın şeklini almadıkları için keratokonus ve astigmatizm tedavisinde tercih edilirler. Günümüzde bu lenslerin kullanımı bazı özel durumlar haricinde tercih edilmemektedir. Çünkü, uyum süresi uzun olan bu lensler yerine astigmatizma tedavisi için özel olarak üretilen yumuşak lensler kullanılmaktadır (Özsu, 2007).

#### **2.9.1.3. Yumuşak Kontakt Lensler**

Hidroksietilmetakrilat (HEMA) gibi yapay organik bileşiklerden üretilen yumuşak yapılı lenslerdir. Daha kolay uygulanan uyum süresi kısa olan bu lensler aynı zamanda yüksek su içerikli ve gaz geçirgen özelliğe de sahiptirler.



Ancak, bu lenslerde mikroorganizmalar kolaylıkla ürediğinden önerilen dezenfeksiyon önlemlerine dikkatle uyuması gerekmektedir (Özsu, 2007).

Yumuşak lenslerin günümüzde günlük kullan at, günlük kullanılan 1 ay ömürlü, günlük kullanılan 3 ay ömürlü, günlük kullanılan 1 yıl ömürlü, 1 hafta kullanılan 1 hafta ömürlü, 1 ay kullanılan 1 ay ömürlü, bifokal lensler ve tedavi edici lensler (astigmatizma) şeklinde çeşitleri bulunmaktadır (Özsu, 2007).

Renkli kozmetik kontakt lens kullanımı genç neslin yeni bir trendidir. Üreticilerin amacı, kontakt lensleri çeşitli renk ve desende üreterek insanların dikkatini çekmektir. Etkili reklam ve lenslerin kolay ulaşılabilirliği kozmetik lens kullanımını alt ve orta ekonomik sınıf gençlerinde bile dramatik şekilde arttırmıştır (Sauer, 2011).

**Tablo 1.** Kontakt lens tarihindeki ana gelişmeler (Üstüntürk, 2014).

YIL	KONTAKT LENS TARİHİNDEKİ ANA GELİŞMELER
1508	Leonarda da Vinci kontakt lensi çizdi ve tanımladı.
1636	Rene Descartes korneayı nötralize etmek için göze tutunan bir su tübü tanımladı.
1801	Dr. Thomas Young kırınım sorunlarını çözmek için göz ve mikroskopik lensler arasında yerleşik bir su filmi tanımladı.
1823	John F.W. Herschel kırınım sorunlarını çözmek için lensin gözle temasını önerdi.
1887	F. G. Muller hasta göz kapağından korneayı korumak için transparan korneal kısmı olan bir ince cam kabuk icat etti.
1888	A. Eugene Fick kırınım gücü olan ilk skleral kontakt lensi tanımladı. E. Kalt kerataconusu düzeltmek için korneal kontakt lensleri kullanmayı amaçladı.
1892	Carl Zeiss Company (Jena, Almanya) optik spesifikasyonları tam olan ilk kontakt lensi üretti.
1936	William Feinbloom sentetik plastikten yapılmış ilk skleral kontakt lensi geliştirdi.
1938	John Muller ve Theodore Obrig PMMA'dan skleral kontakt lens yaptılar, böylece daha hafif ve oküler duyumu daha az olan lensler ortaya çıktı.
1943	Norma Bier geçirgen skleral lensleri tanımladı.
1944	Kevin M. Tuohy günümüz sert lenslerinin habercisi olan PMMA plastik korneal lensleri üretti
1952	Mikrokornealler tanındı.
1956	Kornea kavisine uygun, kavisli " Contour Lens'ler piyasaya çıktı.
1960	Prof. Otto Winchterle ve Dr. Drahoslav Lim lens yapımında HEMA'yı önerdiler. Polymacon lensler (%38 H2O) piyasaya çıktı.
1969	Griffin Contact Lens Company tarafından %58 su içeren 'Lathe-cut' Softcon Lens üretildi. (Uzun kullanımlık lensler)
1978	Gaz geçirgen lensler piyasaya çıktı.
1980	Silikon lens yapımında kullanılmaya başladı. (Silsight 8 Dow Corning) ilk silikon lenstir.

Kontakt lensler hangi amaçla kullanılıyor olursa olsun hepsi göz için yabancı madde etkisi gösterir. Kontakt lens kullanımıyla korneada enfeksiyon gelişmesine neden olan bazı patolojik değişimler oluşabilir ve bu enfeksiyonlardan korunmak için kontakt lens kullanımı sırasında hijyen

kurallarına uyulmasının yanında firmalar tarafından önerilen kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının doğru ve etkin bir şekilde kullanımı da son derece önem taşımaktadır (Üstüntürk, 2014).

Yapılan çalışmalarda kontakt lens kullanan gençlerde risk alma ve uyumsuz davranışların daha sık görüldüğü belirtilmiştir. Kontakt lenslerin göz doktorunun onayı olmaksızın bir satıcıdan alınmasının kontakt lensler konusundaki eğitimin önemli bir eksikliğini göstermektedir. Sonuç olarak dikkatsiz lens kullanımı görme bozukluğu ve kornea iltihaplanması, kornea incilmesi gibi patolojik sonuçlara neden olmaktadır (Singh ve ark., 2012). Buna ek olarak, bütün kontakt lenslerin yüzeyinde lokal veya sistemik tedaviler sırasında kullanılan ilaçlar ve kullanıcının olumsuz tutumlarından kaynaklanan kalıntılar lens yüzeyinde ve korneada farklı problemlere neden olabilmektedir. Kontakt lenslerde gözyaşı ve korneal materyalden ileri gelen lipid, protein, lizozim, mukoprotein gibi yapılar; başta kalsiyum olmak üzere çeşitli iki/üç değerli tuzlar; atmosferik kirlilikler, kozmetikler ve ilaç etkin maddeleri kontakt lens yüzeyinde birikinti oluşturabilmekte ve bu depozitler lenste renk değişimi, lens kullanım süresinde kısılma, koruyucunun inaktivasyonu veya lokal tahriş etkisi oluşturması, denatüre protein birikimi sonucu oluşan alerjik reaksiyonlar, kalsiyum ve protein çökmesi ile oluşan kalıntıların uzaklaştırılması sırasında lenste meydana gelen ufak oyuklar oluşturabilmektedir. Lenste protein ve lizozim birikmesi, daha sonra mikrobiyal yatkınlığı arttırmaktadır. Kozmetik kontakt lensler refraktif düzeltme için kullanılan lenslerden aşınmaya daha yatkındır (İnal, 1998, Singh ve ark., 2012).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

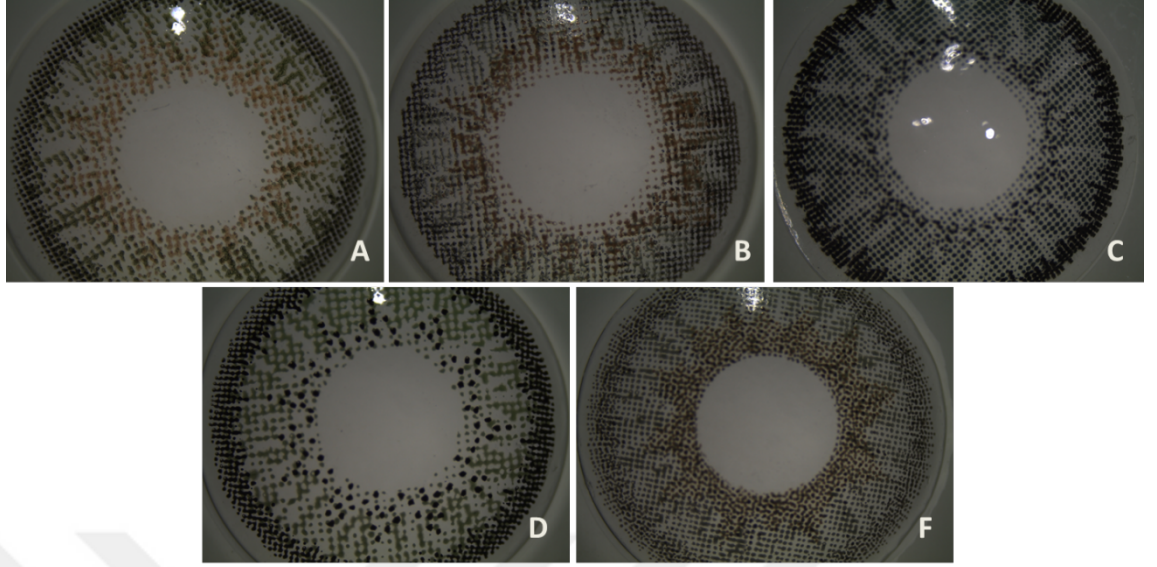
#### 3.1. Kontakt lensler

Bu çalışmada ticari olarak satılan, kullanılmamış ve steril olan ve üretim materyalleri hema copolimer (HM) (%38.5 H<sub>2</sub>O), phemfilcon A (PF) (%55 H<sub>2</sub>O), polymacon (PM) (%38 H<sub>2</sub>O), polyhema (PH) (%42 H<sub>2</sub>O), hema (HM55) (%55 H<sub>2</sub>O) olan beş farklı kontakt lens kullanılmıştır. Araştırmada kullanılan kontakt lensler ve özellikleri Tablo 2’de verilmiştir. Bütün lensler günlük kullanılan ve yeşil renk tercih edildi. Çalışmada kullanılan kontakt lenslerin konfigürasyonları Şekil 2’de verilmiştir.

**Tablo 2.** Çalışmada kullanılan kontakt lenslerin özellikleri.

Marka ismi	Üretici firma	Lens Üretim materyali	Su içeriği (%)	BC (mm)/DIA (mm)	Renk
<b>Elegans</b>	MI Gwang Contact	Hema	45	8.6/14.5	Yeşil
<b>Gold</b>	Lens./Korea				
<b>Freshlook</b>	Ciba Vision/USA	Phemfilcon	55	8.5/14.5	Yeşil
<b>Colorblends</b>					
<b>SofLens</b>	Bousch&Lomb/UK	Polymacon	38.6	8.7/14.1	Yeşil
<b>Elegans</b>	Interejo/Korea	Polyhema	42	8.6/14.5	Yeşil
<b>Soft Color</b>					
<b>Amazon</b>	Waicon Vision/usa	Hema	55	8.6/14.2	Yeşil

BC: Eğrilik, DIA: Çap



**Şekil 2.** Çalışmada kullanılan kontakt lenslerin X8 büyütmedeki görüntüleri. (A)Elegans Gold (Hema), (B) Freshlook (Phemfilcon), (C) Bausch&Lomb (Polymacon), (D) Elegans (Polyhema) , (F) Amazon (Hema).

### 3.2. Amip suşlarının elde edilmesi ve üretilmesi

**3.2.1. Amip suşları:** Deneyde şiddetli *Acanthamoeba* keratitli hastalardan izole edilen iki tür kullanılmıştır.

**I.** Korneal izolat olan *A. hatchetti*, 2HH suşu, 18S rDNA dizilimi T4 genotipine sahiptir. GenBank giriş numarası AF260722 şeklindedir.

**II.** *A. castellanii*, Pat06 suşu, 18S rDNA dizilimi T4 genotipine sahiptir. GenBank giriş numarası EF429131 dir.

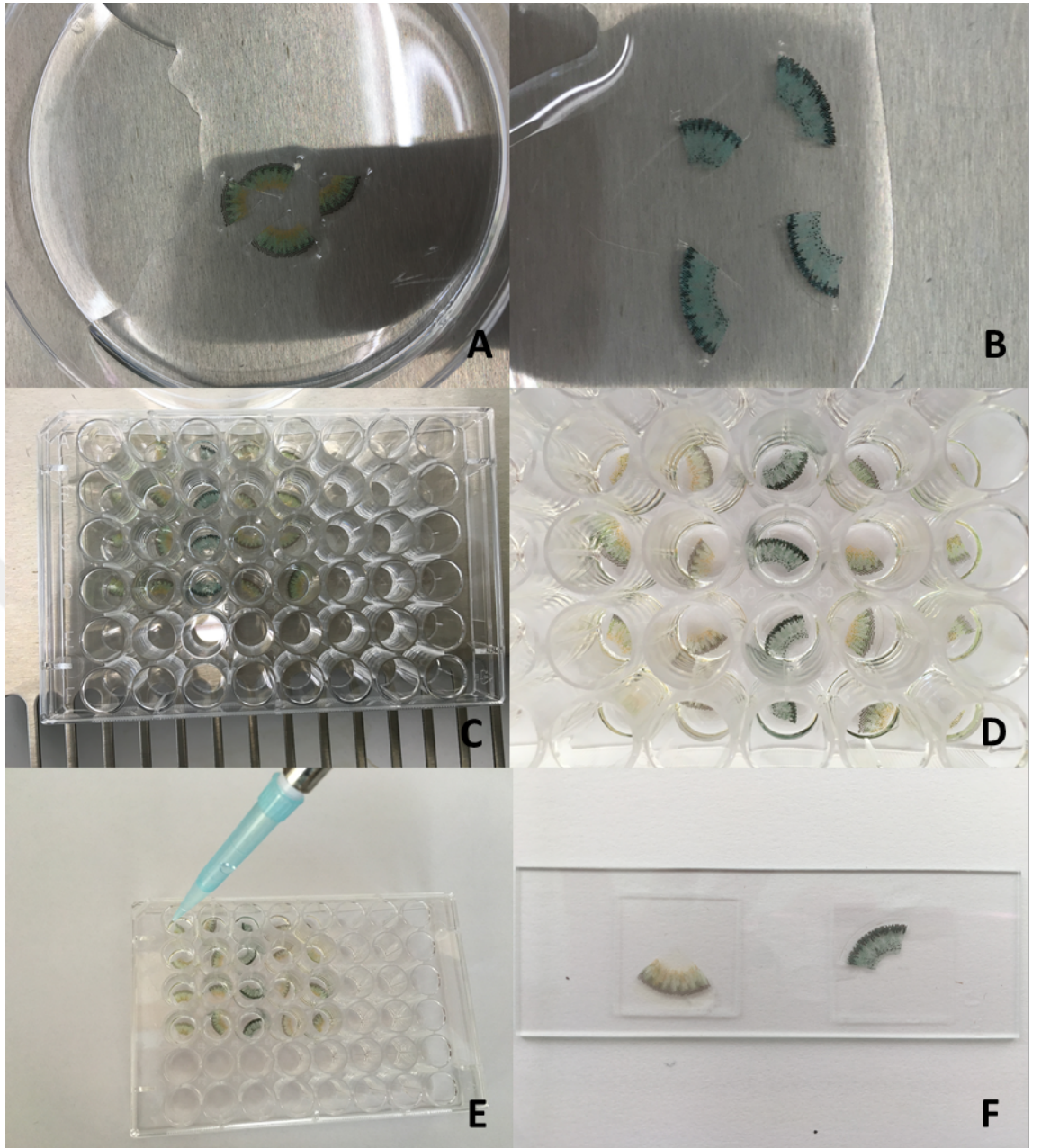
**3.2.2. Amiplerin Üretilmesi:** *Acanthamoeba* suşlarının aksenik kültürlerini sağlamak için PPYG besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyeri tamponlu tuzlu su eriyiği (0.120 g NaCl, 3 mg MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O, 3 mg FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0.1 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1L damıtık su) içerisinde 0.75% protease peptone (w/v),

0.75% yeast extract , (w/v) 1.5% glucose (w/v) çözümlenerek hazırlandı. Hazırlanan bu besiyerinin pH'ı, 7 olarak ayarlandıktan sonra ve otoklavda ( 121°C'de 15 dakika) steril edildi. Hazırlanan besiyeri steril koşullarda hücre kültürü şişelerine 15-20 mL olacak şekilde dağıtıldı ve kullanılıncaya kadar +4 derecede tutuldu.

### **3.3. Amiplerin kontakt lensler üzerine adezyonunun değerlendirilmesi**

Aksenik kültürde üretilen trofozoitler toplandı ve 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve amipler üç kere Page'in tuzlu su eriyiği (0.120 g NaCl, 0.004 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.004 g CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O, 0.14 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.136 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1L damıtık su) ile yıkanandıktan sonra yine aynı solüsyon içinde Thoma lamında sayılarak mililitresinde 2x10<sup>5</sup> trofozoit olacak şekilde ayarlandı.

Lensler steril koşullarda paketten çıkarıldıktan sonra öncelikle PBS ile yıkandı ve yine steril koşullarda dört eşit parçaya ayrıldı (Şekil 3.A,B). Her bir lens parçası 48 bölmeli steril hücre kültürü plaklarının tabanına yerleştirildikten sonra (Şekil 3.C,D) üzerine hazırlanan amip solüsyonundan 200 µl eklenerek (Şekil 3.E), 30 °C'de 15 dakika, 1 ve 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kontakt lensler çıkarılarak Page'in tuzlu su eriyiği içine üç kere daldırılıp çıkartılarak yıkandı. Yıkanan lensler lam üzerine yerleştirildi ve hem kurumaması için hem de düz şekilde durmasını sağlamak için üzerine lamel kapatıldı (Şekil 3.F). Bu şekilde hazırlanan preparatlar X20'lik büyütmede incelenerek bütün lenslerde aynı bölgelerden olmasına dikkat edilerek beş alanın fotoğrafları çekildi ve daha sonra fotoğraflar üzerinden amipler sayıldı.



**Şekil 3.** *Acanthamoeba* trofozoitlerinin kozmetik kontakt lensler üzerine adezyonunun değerlendirilme basamakları. **A,B.** Kontakt lensler steril koşullarda dört parçaya bölünmüş görünümü. **C,D.** Lens parçalarının 48 bölmeli steril hücre kültürü plaklarına yerleştirilmiş görünümü. **E.** Lensler üzerine amip süspansiyonu eklenirken görünümü. **F.** Mikroskopta incelemeden önce lam üzerine yerleştirilmiş lenslerin görünümü.

### **3.4. Scanning elektron mikroskobu incelemeleri**

Araştırmada kullanılan kozmetik kontakt lenslerin SEM görüntüleri lenslerin konkav yüzeyinden alındı. Örnekler yüzde sıfırdan başlayarak yüzde yüze kadar etil alkol serisinde dehidre edildikten sonra polaron E3000 cpd cihazında kurutuldu. Daha sonra numune tutuculara yapıştırılan lens örnekleri ve polaron SC7620 mini sputter coater cihazı ile yaklaşık 90 angstrom au/pd ile kaplandı. Kaplanan rnekler SEM cihazında incelenerek 100 ile 10.000 büyütme aralığında fotoğrafları alındı.

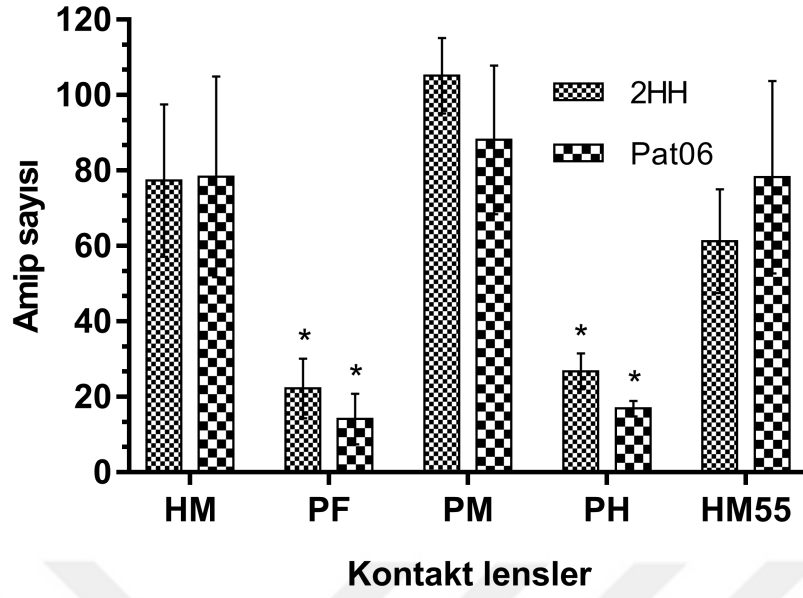
### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Araştırmada kullanılacak suş tipi 2, lens tipi 5 ve ölüm sayısı 3 olduğundan ve araştırmanın ana verisi olarak elde edilecek yapışan amip sayısı sayısal bir veri olarak toplanacağından kullanılacak istatistiksel analiz testinin tekrarlayıcı ANOVA testi olması nedeni ile örneklem büyüklüğü hesabında ANOVA testine uygun hesaplama yapılmıştır. Bu hesaplamada alfa değeri 0,05, çalışma grupları yapışma ortalamaları arasında beklenen en büyük fark 20 ve beklenen standart sapma 15 alındığında elde edilen power değeri 0.95 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçtan yola çıkarak deneylerin 10 tekrarlı olarak yapılmasının parametrik testlere uygun verilerin toplanmasına yeterli olacağı öngörülmüştür. Verilerin değerlendirilmesinde spss ver 15 kullanılmıştır. Karşılaştırma yapmak için ANOVA testi kullanılacak ve post hoc test olarak Tukey testi uygulanmıştır. İstatistiksel değerlendirmede frekans, ortalama ve standart sapma gibi tamamlayıcı ltler de araştırmanın istatistik değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Araştırmada P değerinin <0.05 olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

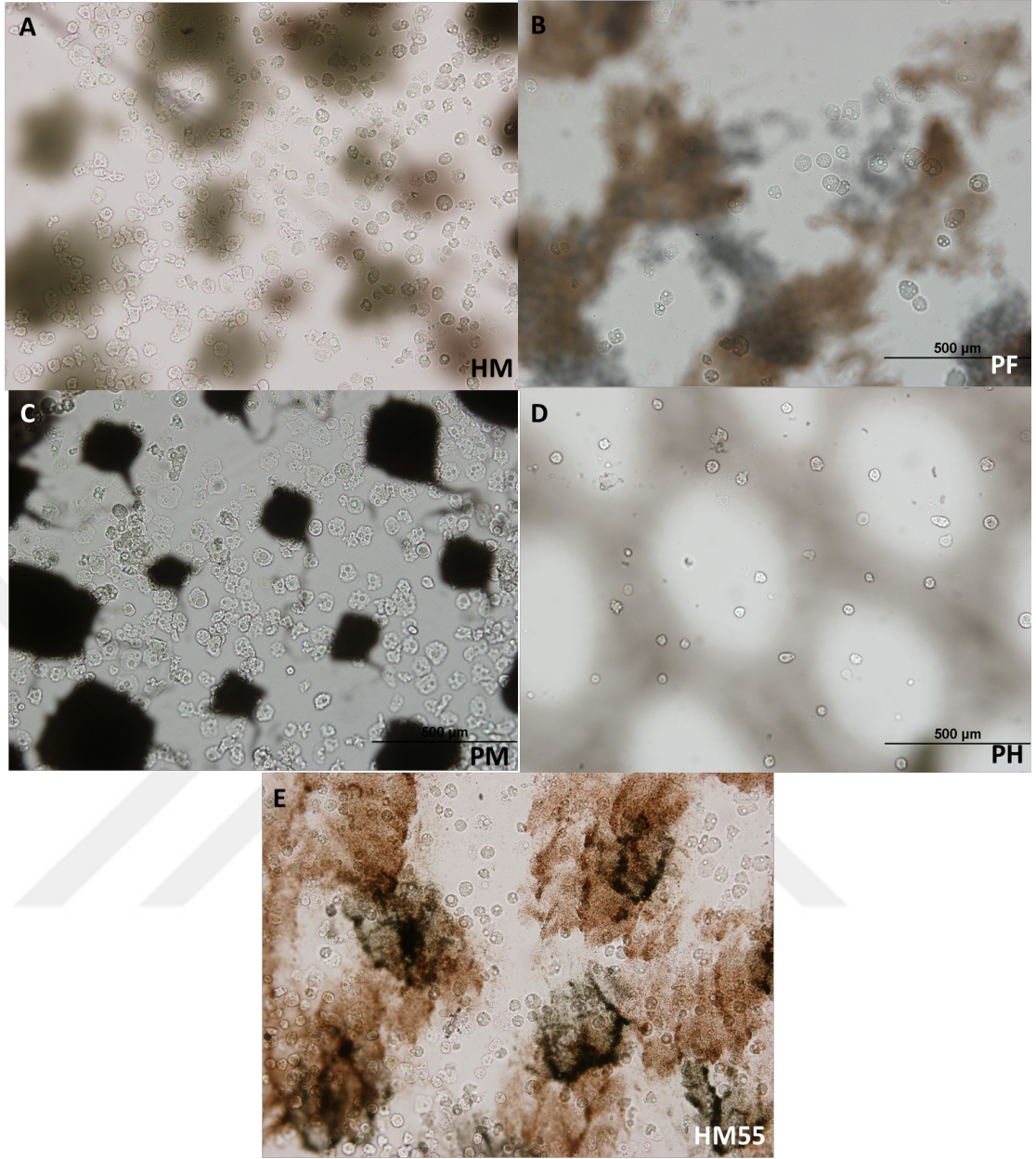


#### 4. BULGULAR

Çalışmada üretim materyalleri ve su içerikleri göz önünde bulundurularak seçilen 5 farklı kozmetik kontakt lens yüzeyine, zamana bağlı olarak (15. dakika, 1. saat ve 24. saat) patojenik *A. castellanii* ve *A. hatchetti* türlerinin adezyonu değerlendirilmiştir. 15. dakikada elde edilen verilerde, genel olarak her iki amip türünde de kontakt lens yüzeyine yapışan amip sayısı PF ve PH üretim materyaline sahip lenslerle HM, PM ve HM55 üretim materyaline sahip lenslerle kıyaslandığında düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Bütün kontakt lens türlerinde yapışan amip türleri açısından anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ). Su içeriğinin amip adezyonuna etkisini görmek için Hema üretim materyaline sahip fakat su içerikleri farklı olan (%45 ve %55) kontakt lensler arasında yapışan amip ortalaması açısından anlamlı fark yoktu ( $p>0.05$ ) (Şekil 4, 5).

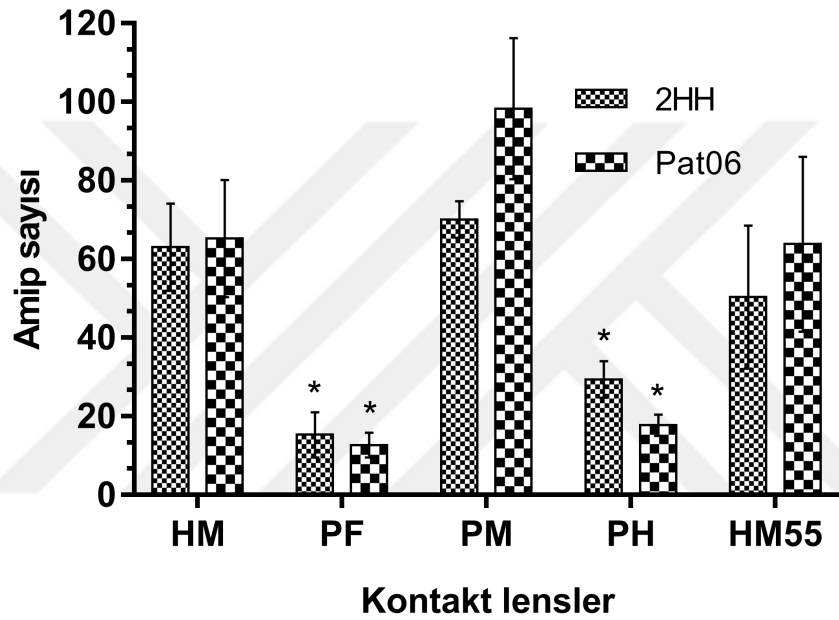


**Şekil 4.** *A. castellanii* (Pat06) ve *A. hatchetii* (2HH) türü amiplerin 15. dakikada farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerine yapışma sayısı (mean±SEM). Her iki amip suşunda da PF ve PH ile HM, PM ve HM55 karşılaştırıldığında \*p<0.05'dir. HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.

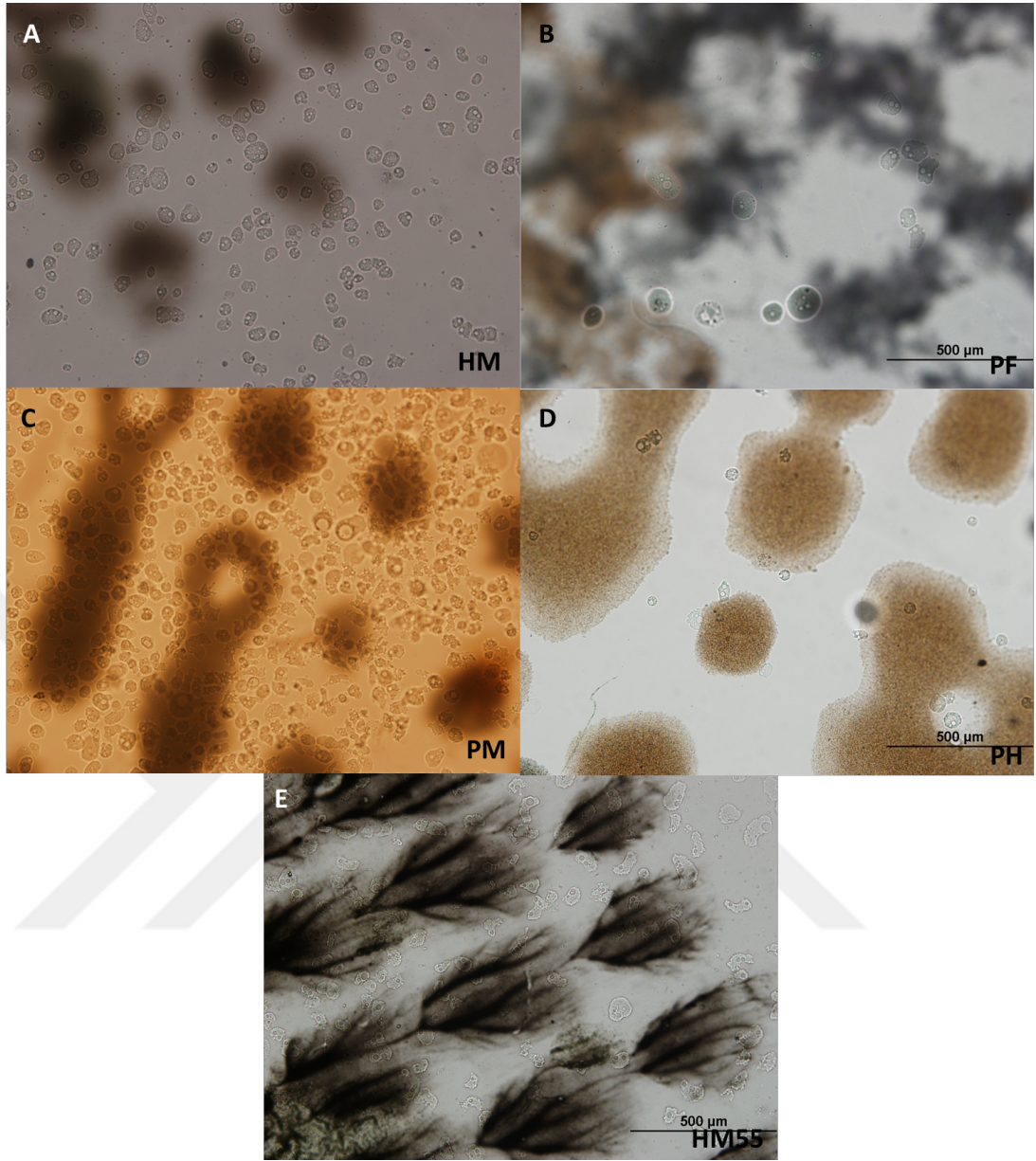


**Şekil 5.** 15. dakikada HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeyine yapışan amiplerin görünümü (20X). HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema. Araştırmada birinci saatte elde edilen veriler 15. dakikada elde edilen verilerle paralellik göstermiştir ( $p>0.05$ ). Hem 2HH suşunda hem de Pat06 suşunda kontakt lens yüzeyine yapışan amip sayısı PF ve PH üretim materyaline sahip lenslerle HM, PM ve HM55 üretim materyaline sahip lenslerle

kıyaslandığında düşük bulundu ( $p<0.05$ ). Araştırmada kullanılan bütün kontakt lens türlerinde yapışan amip türleri açısından anlamlı fark görülmedi ( $p>0.05$ ). Su içeriğinin amip adezyonuna etkisini görmek için seçilen Hema üretim materyaline sahip lenslerde 1. saatte de su içeriğinin amip adezyonuna etkisinin olmadığı görüldü. ( $p>0.05$ ) (Şekil 6, 7).



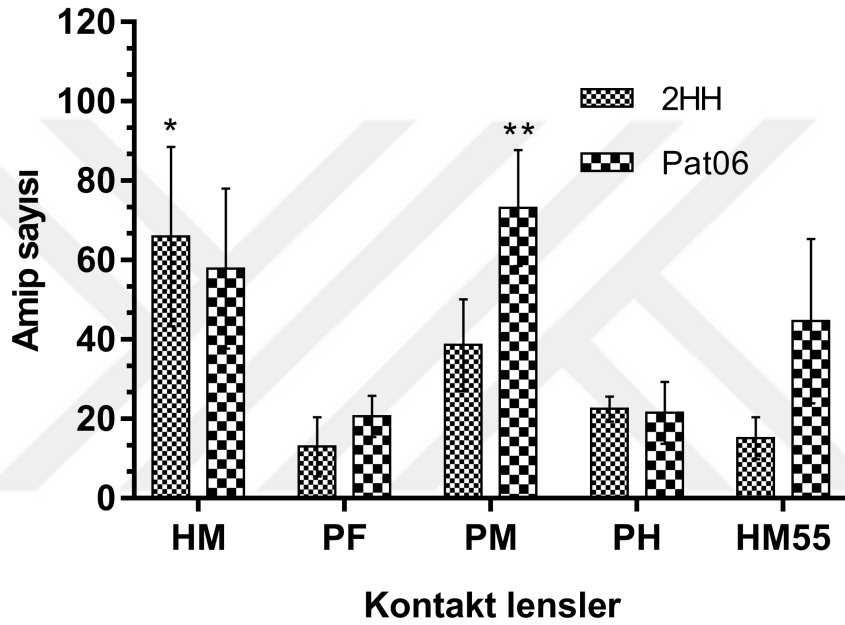
**Şekil 6.** İki farklı *Acanthamoeba* suşunun (Pat06 ve 2HH) 1. saatte farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerine yapışma sayısı (mean±SEM). Hem 2HH hem de Pat06 suşunda PF ve PH ile HM, PM ve HM55 karşılaştırıldığında  $*p<0.05$ 'dir. HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.



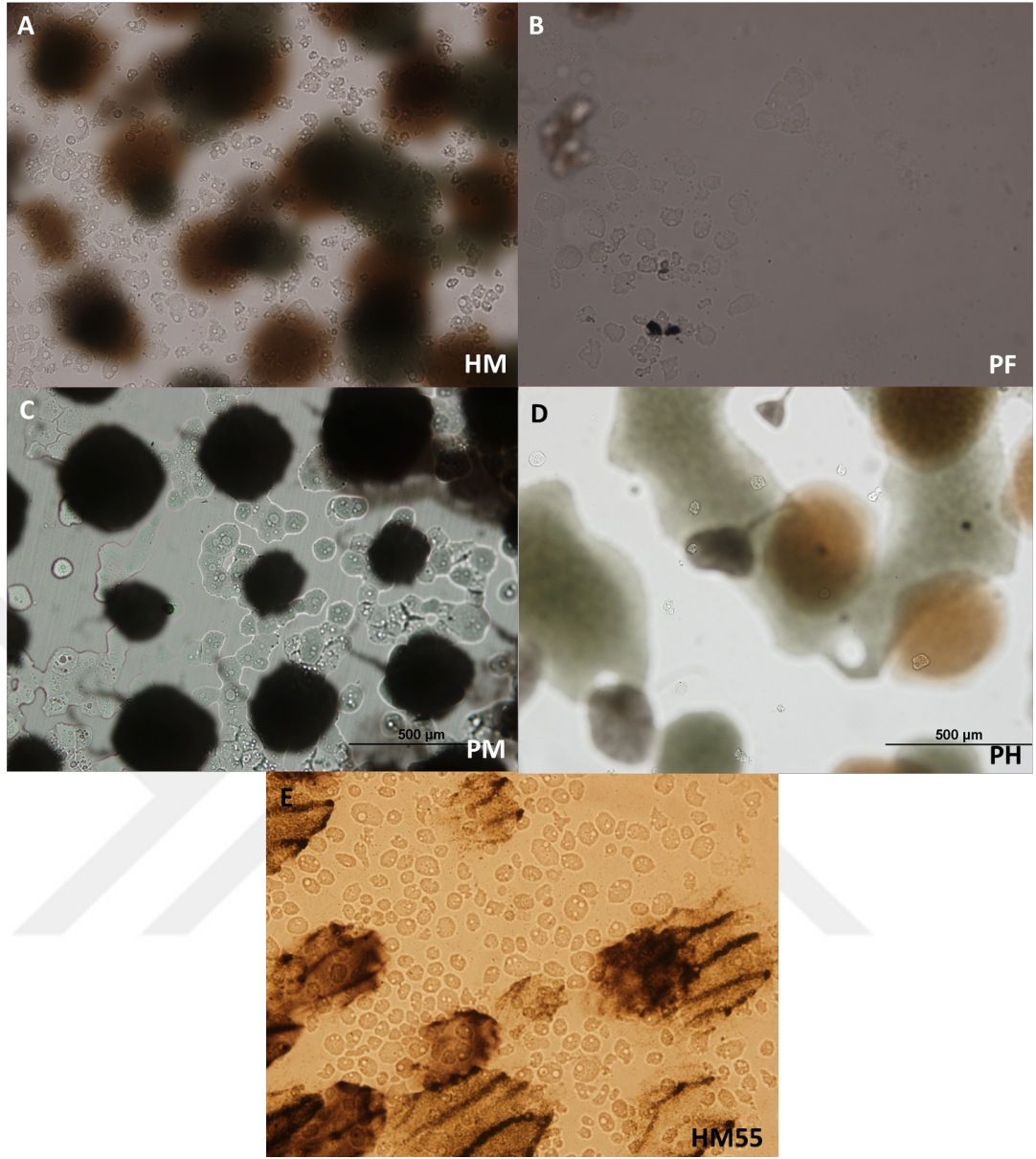
**Şekil 7.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeyine 1. saatte yapışan amiplerin görünümü (20X). HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.

24. saat bulguları 1. saat bulguları ile kıyaslandığında 2HH suşunda HM, PF ve PH lenslerinde elde edilen sonuçlar paralellik gösterirken ( $p>0.05$ ), PM yüzeyine yapışan amip sayısının arttığı ( $p<0.05$ ), HM55 yüzeyine yapışan amip sayısının ise azaldığı görülmüştür ( $p<0.05$ ). Pat06 suşunda ise yine 1.

saatle kıyaslandığında bütün lens tiplerinde verilerin paralellik gösterdiği görülmüştür ( $p>0.05$ ). 24. saatte 2HH suşunda, HM kontakt lensine yapışan amip sayısı PF, PH ve HM55 ile karşılaştırıldığında yüksek olduğu ( $p<0.05$ ), Pat06 suşunda ise PM yüzeyine yapışan amip sayısı PH ve PF ile karşılaştırıldığında yine yüksek olduğu belirlendi ( $p<0.05$ ) (Şekil 8, 9).



**Şekil 8.** *Acanthamoeba* suşlarının (Pat06 ve 2HH) 24. saatte farklı üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerine yapışma sayısı (mean±SEM). 2HH suşunda HM kontakt lensi yüzeyine yapışan amip sayısı PF, PH ve HM55 ile karşılaştırıldığında  $*p<0.05$ 'tir. Pat06 suşunda ise PH ile PM ve PF karşılaştırıldığında  $**p<0.05$ 'tir. HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM- Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.

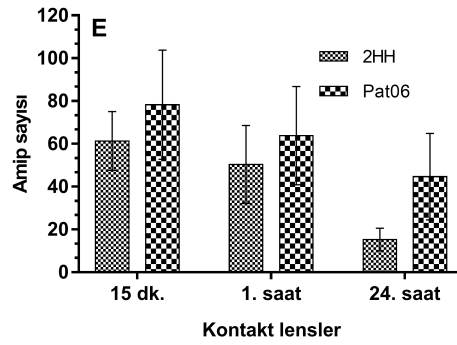
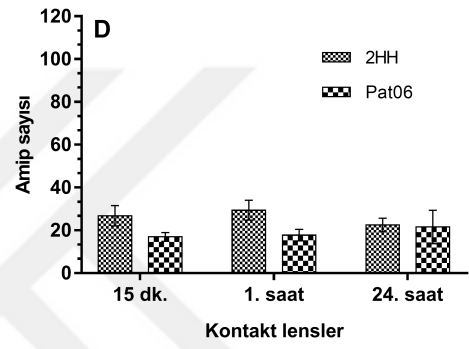
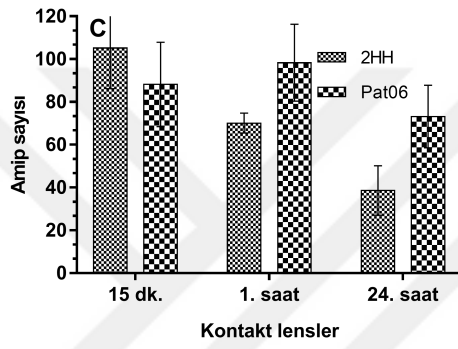
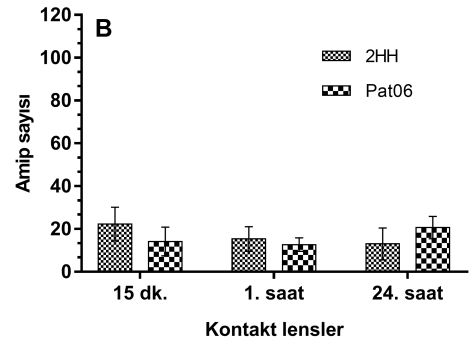
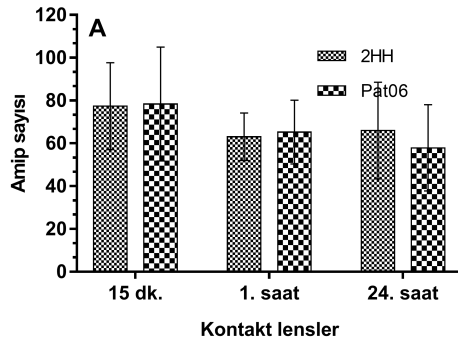


**Şekil 9.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeyine 24. saatte yapışan amiplerin görünümü (20X). HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.

Çalışmada kullanılan kontakt lenslerin zamana bağlı olarak lens yüzeyine yapışan amip sayıları değerlendirildiğinde HM, PF ve PH lenslerinde her iki suşta da bütün zaman dilimleri arasında anlamlı fark olmadığı belirlendi ( $p>0.05$ )(Şekil 10. A,B,D). PM ve HM55 kontakt lenslerinde 2HH suşunun 15. dakikası ile 24. saati arasındaki fark anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 10. C,E).

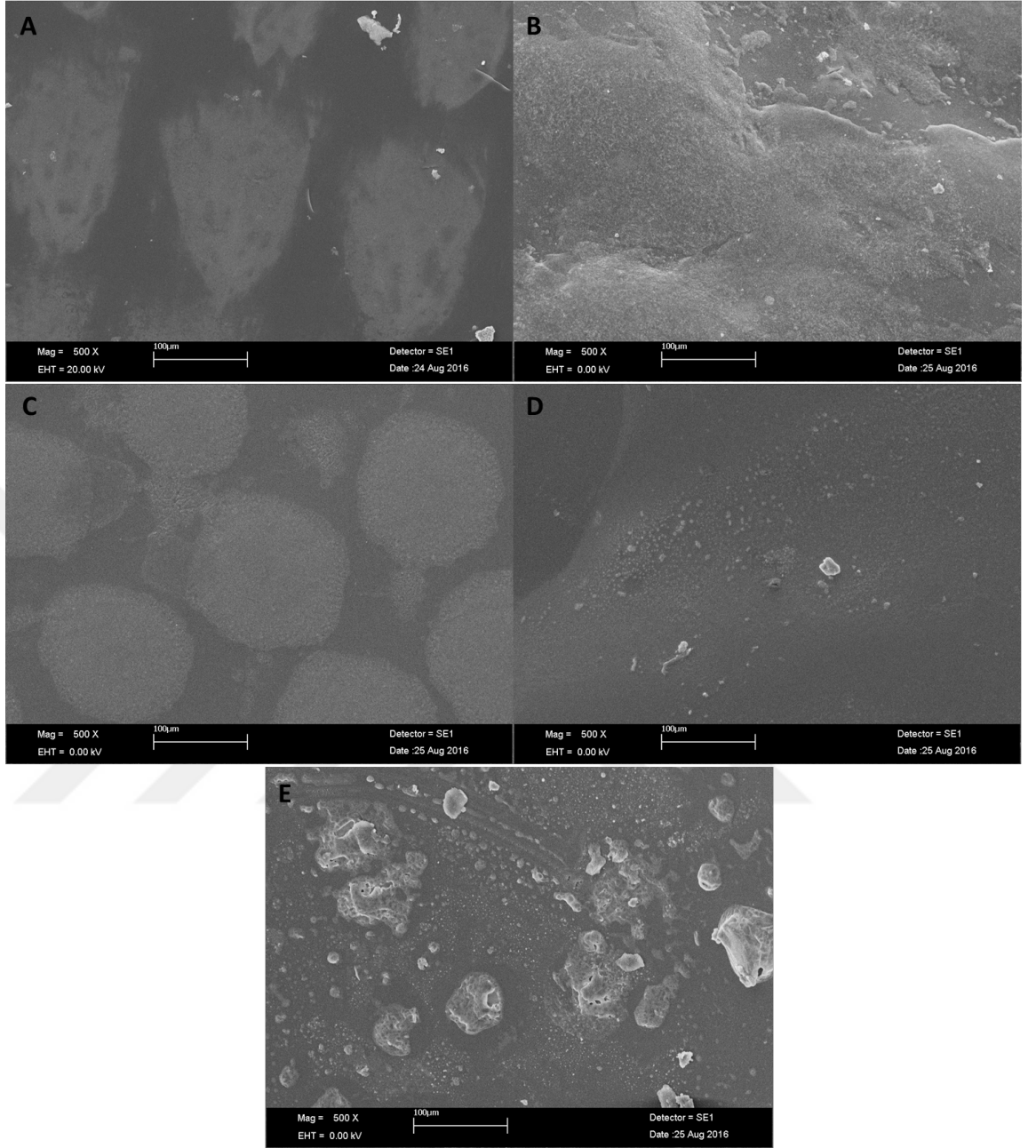




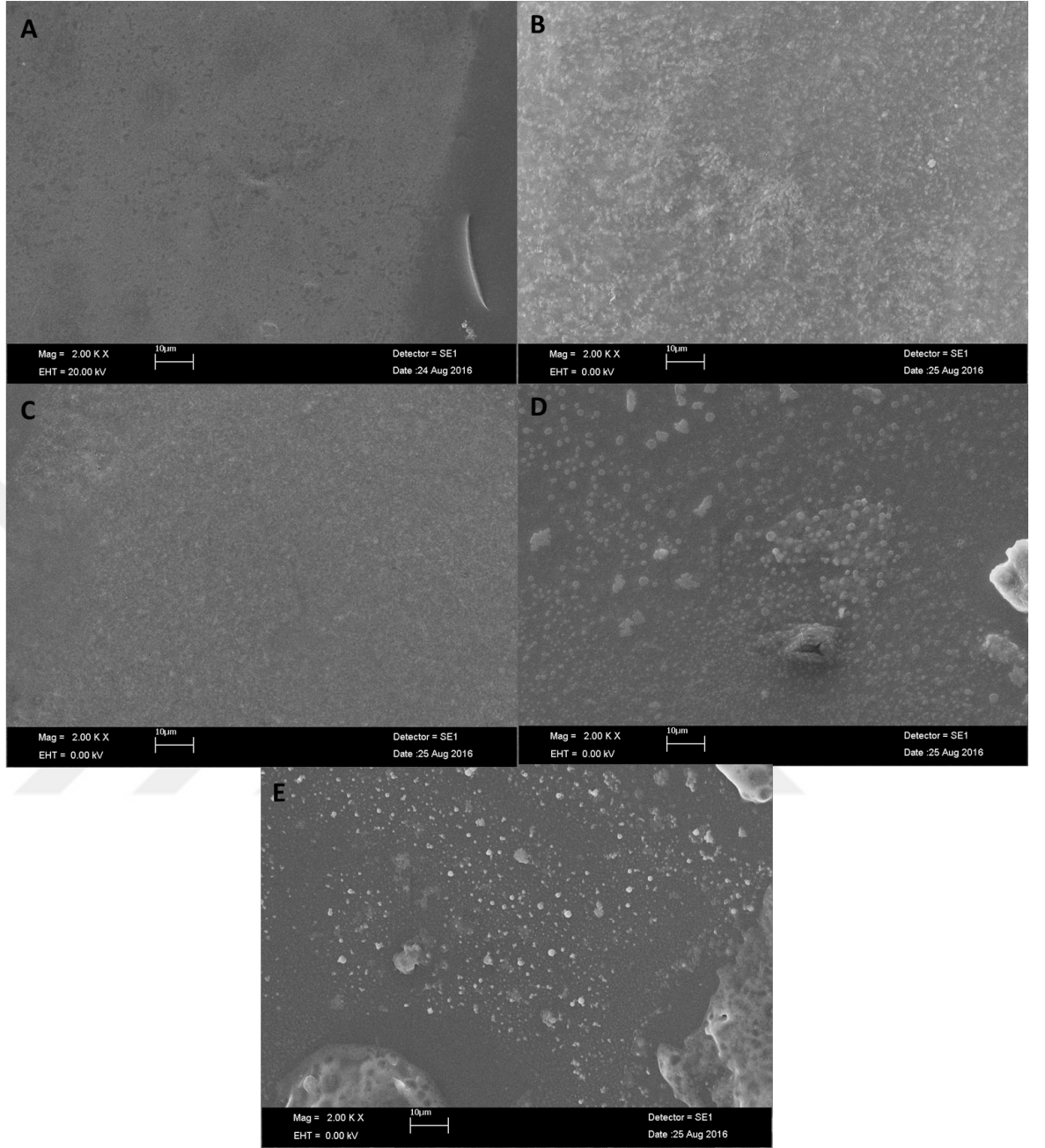


**Şekil 10.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lensler yüzeyine 15. dakika, 1. saat ve 24. saat dilimlerinde yapışan amip sayıları. HM-Hema, PF- Phemfilcon, PM-Polymacon, PH-Polyhema, HM55-Hema.

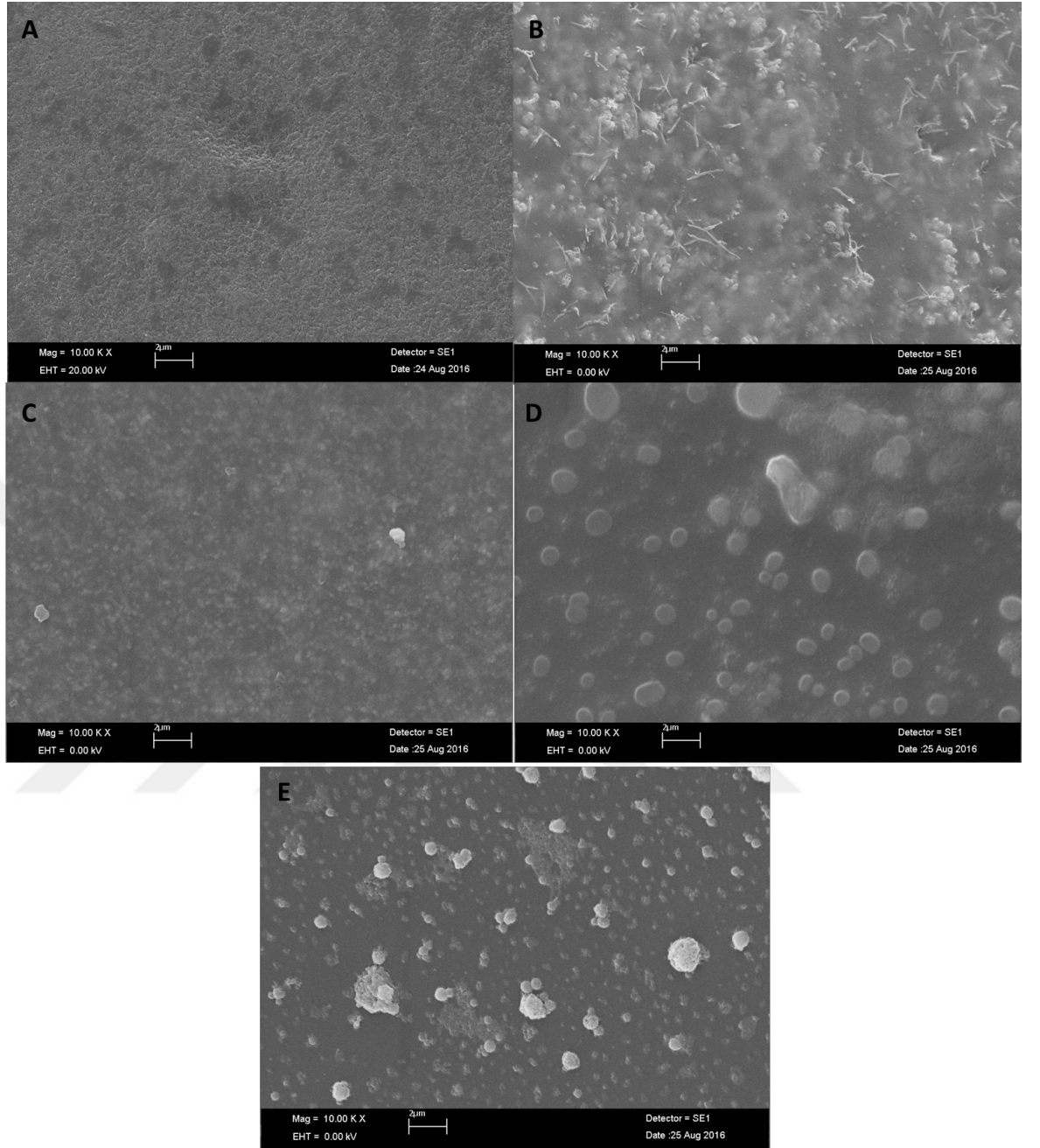
Araştırmada kullanılan ticari kontakt lenslerin yzey topolojilerini değerlendirmek amacı ile yaptığımız SEM analizlerinde en homojen yapının HM ve PM’de olduğu görülmektedir. Yzey topolajileri 10000x büyütmede değerlendirildiğinde homojen yapıdan heterojen yapıya doğru HM>PM>PF>HM55>PH sıralanmaktadır (şekil 13). Daha küçük büyütmedeki (500x ve 2000x) SEM görüntüleri değerlendirildiğinde lens yzeyinde renkli bölgeleri oluşturulurken eklenen maddelerin lens yzeyinde farklılaşmalara sebep olduğunu göstermektedir. SEM görüntüleri değerlendirildiğinde özellikle HM ve PM’de eklenen maddenin nanopartikül şeklinde yapıya düzenli bir şekilde dağılmış olduğu görülmektedir. Diğer lenslerde ise eklenen maddelerin belli bölgelerde yığılmış halde olduğu görülmektedir. Bu durum PH ve HM55’de belirgindir (şekil 11, 12, 13).



**Şekil 11.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 500X büyütmede SEM ile görüntüsü.



**Şekil 12.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 2000X büyütmede SEM ile görüntüsü.



**Şekil 13.** HM (A), PF (B), PM (C), PH (D) ve HM55 (E) üretim materyaline sahip kontakt lens yüzeylerinin 10000X büyütmede SEM ile görüntüsü.

Çalışmaya alınan kontakt lenslerden hema (HM) monomer, polihema (PH) ise hemanın polimer halidir. Bu iki kontakt lens amip adezyonu açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Bunun yanında, iyonik (PF) ve non-iyonik (PM) polimer özelliklerinin amip adezyonuna etkisi polimacon (PM) ve phemfilcon (PF) üretim materyaline sahip lenslerde karşılaştırılmıştır. Buna göre non-iyonik özellik taşıyan PM üretim materyaline sahip lens yüzeyine yüksek sayıda amip adezyonu gerçekleşmiş olup, PM ve PF amip adezyonu yönünden karşılaştırıldığında anlamlı farklıdır ( $p<0.05$ ). Aynı üretim materyaline sahip fakat fakat su içerikleri farklı olan HM (%45 su içeriği) ve HM55 (%55 su içeriği) lensleri karşılaştırıldığında amip adezyonu açısından iki lens arasında anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir ( $p>0.05$ ).

## 5. TARTIŞMA

*Acanthamoeba* keratiti nadir görülen fakat görme kaybına sebep olma potansiyeline sahip bir enfeksiyondur. *Acanthamoeba* keratiti ilk kez 1970 yılında bildirilmiştir. Bildirilen bu olguda keratit, korneal yaralanma ve ardından gözün, amiplerle kontamine suya maruz kalması sonucu gelişmiştir. Daha sonraki yıllarda kontakt lens kullanımının yaygınlaşması ile *Acanthamoeba* keratiti olgularının sayısı artarak devam etmiş ve son yıllarda önemli bir problem haline gelmiştir (Truong ve ark., 2016). *Acanthamoeba* keratitine sebep olan en önemli faktör kontakt lens kullanan kişilerin kontamine sularla temasıdır. Bunun yanında, aynı kontakt lensin uzun bir periyotta kullanılması, kişisel hijyen, kontakt lens temizleme sistemlerinin yetersiz kalması, kontakt lens yüzeyindeki biyofilm formasyonu enfeksiyonun oluşmasında temel sebeplerdendir. Yapılan bir çalışmada *Acanthamoeba* keratiti riski için gece lensle uyumanın, lens hijyen kurallarına uymaktan ve lensin yapısal özelliklerinden daha etkili olduğu öne sürülmüştür. (Radford ve ark., 1995). Bazı raporlarda, her 10.000 lens kullanıcılarından; kullanım süresini aşan ve gece lensle uyuyan kişilerde 5 kat daha fazla oranda enfeksiyöz keratit vakası olduğu bildirilmiştir (Barry ve ark., 2010). Belirtilen sebeplerin temelinde çoğunlukla minör bir travma rol oynar. Travma, toz veya kum gibi materyallerin rüzgar eşliğinde göze çarpması, böcek veya bitkisel ürünlerin göze zarar vermesi gibi faktörlerle gelişebildiği gibi kontakt lens kullanımı bu duruma yardımcıdır (Robaei ve ark., 2015). *Acanthamoeba* türü amiplerin yukarıda belirtilen sebeplerden herhangi biri ile göze bulaşması sonucu sırasıyla epitelyal bariyer yıkılır, *Acanthamoeba*'nın stromaya doğru

invazyonuyla, keratositlerin yıkılır, yoğun inflamasyon cevabının oluşur ve bunların sonucunda da stromal nekroz meydana gelir (Vemuganti ve ark., 2004).

Amerika'da 18 yaşından büyük kişilerde 2002 yılında kontakt lens kullanan kişi sayısı 32 milyon iken, 2014 yılında 40.9 milyondur. Kontakt lens kullanımının artmasına bağlı olarak mikrobiyal keratit olgularının sayısı da artmıştır. *Acanthamoeba* keratitinin insidansı Amerika'da milyonda 0.15 iken, İngiltere'de milyonda 1.4'tür. Bu duruma paralel olarak İngiltere'de *Acanthamoeba* keratiti görülme oranı da 10-15 kat fazladır (Cope ve ark., 2015). Ağustos 2006'ya kadar Amerika'da 5000'den fazla *Acanthamoeba* keratiti vakası bildirilmiştir. Bununla birlikte, dünyada *Acanthamoeba* keratiti insidansı tam olarak bilinmemektedir (Dart ve ark., 2009). *Acanthamoeba* keratiti tanısı almış hastaların çoğunluğunu (%92.3) yumuşak kontakt lens kullananların oluşturduğu ve bunların %69.2'sinin genç bayanlardan oluştuğu bildirilmiştir (Chin ve ark., 2014). Ulusal Sağlık ve Beslenme İncelemeleri Anketi (NHANES) kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise yaşı 12 ve üzeri yaklaşık 18.6 milyon kişinin kontakt lens kullandığı belirlenmiştir. Gençler ve üniversite çağındaki kişiler (15-25 yaş arası) düşük kontakt lens uyumu ile birlikte ciddi korneal enfeksiyon olguları ile ilişkilendirilmiştir (Cope ve ark., 2015).

Araştırmalar, *Acanthamoeba* keratiti gelişiminin kritik adımının kontakt lens yüzeyinde oluşan biyofilm formasyonu olduğunu göstermiştir. Biyofilm formasyonunun temelinde kontakt lens kullananlarda sıklıkla görülen kontakt lensin ve/veya saklama kabının bakteriyel kontaminasyonu söz konusudur. Larkin ve arkadaşları 102 asemptomatik kontakt lens kullanıcısının kontakt lens



saklama kaplarını inceledikleri çalışmalarında 83'ünde bakteriyal kontaminasyon belirlemişlerdir. Yapılan çalışmalarda, yumuşak lensler diğer lenslere kıyasla plastik yüzeyinin antibiyotik ve antiseptiklere karşı daha dirençli olduğunu ve oluşan biofilm tabakasının da mikroorganizmaların birikimine yol açtığı belirtilmiştir. Biofilm tabakası; özgür yaşayan amipler de dahil olmak üzere birçok mikroorganizma için çekici olabilmektedir. Çalışmalarda kontakt lenslerde ve lens saklama kaplarında özgür yaşayan amiplerin varlığının bakterilerle birlikte uyum içinde olduğu birçok çalışmada teyit edilmiştir (Beattie ve ark., 2003, Larkin ve ark., 1990.).

Üretim materyalleri ve su içerikleri göz önünde bulundurularak seçilen kozmetik lenslerin yüzeyine iki farklı *Acanthamoeba* türünün yapışma potansiyellerini zamana bağımlı olarak karşılaştırdığımız çalışmamızda PF ve PH üretim materyaline sahip lenslerde amip yapışma oranı genel olarak daha düşük bulundu. Sonuçlarımıza göre, %55 gibi yüksek su oranına sahip lenslerden olan PF ve %42'lik su oranına sahip PH'in amip adezyonunun her iki amip türünde de düşük olması, buna karşın yine yüksek su içeriğine sahip HM55'in (%55 su içeriği) yüzeyine yüksek oranda amip adezyonu, su içeriğinin amip adezyonu üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir.

Reverey ve arkadaşları *Acanthamoeba castellanii* trofozoitlerinin farklı hidrojel ve silikon hidrojel lenslere adezyonunu değerlendirdikleri çalışmalarında, adezyonun malzemeden malzemeye farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar lens materyal özellikleri elastiklik sabitesi, silikon içeriği ve lensin iyonik özelliğinin adezyona etkisinin olmadığını, buna karşın su içeriğinin adezyonu arttırdığını vurgulamışlardır. Araştırmacılar, *Acanthamoeba castellanii* için 1. saat ve 24. saat sonra su içeriği en yüksek

olan lenste en fazla sayıda amip yapıştığını gözlemlemişler ve su içeriğinin lensin absorpsiyonunu etkilediğini öne sürmüşlerdir (Reverey ve ark., 2014). Kilvington ve ark. araştırmalarında gaz geçirgen veya düşük su içerikli lenslere oranla daha çok miktarda trofozoitin su içeriği yüksek olan Lidofilcon lenslere tutunduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca Lidofilcon materyalli lenslere kist adezyonu Polymacon materyalli lenslere göre daha yüksek bulunmuştur (Kilvington ve ark., 1990). Ancak bizim çalışmamızda kullanılan kozmetik kontakt lenslerin su içeriğinin amip adezyonuna etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Su içeriğinin etkisini daha iyi görmek amacı ile aynı üretim materyaline sahip fakat su içerikleri farklı olan lenslerde de (Hema %45 su içeriği, Hema%55 su içeriği) yapışan amip sayısında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Seal ve ark., kullanılmamış hidrojel kontakt lens ve sert gaz geçirgen kontakt lens materyallerine *Acanthamoeba* trofozoitlerinin yapışmasının lensin iyonik özelliğine ve su içeriğine bağlı olduğunu rapor etmişler ve amip adezyonu için lensin iyonik doğasının birinci derecede önemli olduğunu öne sürmüşlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlar doğrultusunda düşük su içerikli ve non-polimer lensler olsa bile tüm lenslere *Acanthamoeba* trofozoitlerinin yapışma yeteneğinin olduğu vurgulamışlardır. (Omana-Molina ve ark., 2014). Beattie ve ark. ise lens hidrofobitesini azaltmak için Iotrafilcon A materyal kullanılan lenslerde *Acanthamoeba* yapışma potansiyelinin arttığını rapor etmişler ve silikon hidrojel lens kullanımının *Acanthamoeba* keratiti için en önemli risk faktörü olabileceğini belirtmişlerdir. Çünkü, bu materyalin kimyasal özelliğinin, organizmanın lense adezyonunu arttırdığını öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte, galyfilcon A ve comfilcon A materyalli

lenslere kıyasla birinci jenerasyon lens olan Iotrafilcon A lenslere bu protozoonların daha fazla afinite göstermesinin ise bu lenslerin yüzeylerinin daha pürüzlü olmasıyla ilişkilendirmişlerdir. Galyfilcon A ve Comfilcon A materyalli lenslerin yüzeyleri daha az pürüzlü ve hatta neredeyse dümdüz olduğundan bu lenslere ameobik adezyonun daha az olduğunu vurgulamışlardır. Uno ve ark. yaptıkları araştırmada 5 farklı materyalli silikon hidrojel lense (Asmofilcon A, Galifilcon A, Senofilcon A, Lotrafilcon B, Balafilcon A) *Acanthamoeba* trofozoitlerini 4 saat boyunca inkübe etmişler ve Lotrafilcon B, Balafilcon A materyalli lense diğer üç lense oranla 10 kat fazla sayıda *Acanthamoeba* trofozoitlerinin yapıştığını belirlemişlerdir (Uno ve ark., 2012). Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz veriler amip adezyonunda polimer yapısı ve/veya kimyasal özelliğinin birinci derecede rol oynadığını göstermiştir.

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre *Acanthamoeba* keratiti vakalarının %80'i yumuşak hidrojel lens kullanan kişilerde görülmektedir. Yumuşak kontakt lenslerin özgür yaşayan amipler için çekici olduğunu teyit eden çalışmalar mevcuttur. Bu durum lensin plastik yüzeyinden kaynaklandığı öne sürülmüştür (Cheung ve ark., 2016, Niyyati ve ark., 2014). Kontakt lenslerin yüzey özellikleri ve pürüzlülükleri hakkında detaylı bilgi atomik güç mikroskobu ve scanning elektron mikroskoplarıyla elde edilebilir. Benzer çalışmalarda değişik yüzeylere sahip kontakt lenslerde bakteriyel yapışma özellikleri değerlendirilmiştir. Giraldez ve ark. Senofilcon A, Nelfilcon A ve Ocufilecon B ile karşılaştırıldığında nispeten daha pürüzsüz bir yüzeye sahip olan Comfilcon A ve Omaficon A lens materyallerine *Staphylococcus epidermidis* bakterisinin daha zayıf bir şekilde yapıştığını rapor etmiştir.

Paralel şekilde, değişik yüzeylere sahip ve hidrofobisitesi farklı lenslere bakteriyal adezyon kıyaslaması yapılmış ve yüzey pürüzlülüğü arttıkça bakteriyal adezyonun arttığı bildirilmiştir (Giraldez, Resua ve ark., 2010, Giraldez, Serra ve ark., 2010).

Yüzey topolojisini değerlendirmek amacıyla yaptığımız SEM analizlerinde yüzey topolojisinin lensler arasında farklılık gösterdiği, en homojen yapıdaki lensin HM, en heterojen yapıdaki lensin ise PH olduğu görülmüştür. Bu iki lens amip adezyonu açısından değerlendirildiğinde HM yüzeyine yapışan amip sayısının bütün zaman dilimlerinde PH ile karşılaştırıldığında 2-4 kat fazla olduğu belirlenmiştir. Buradan yola çıkarak çalışmaya alınan ticari kontakt lenslerin yapısındaki homojen-heterojen yapının *Acanthamoeba* trofozoitlerinin lens yüzeyine adezyonuna etkisi olmadığı sonucunu göstermektedir.

Lenslerin renkli olma özelliğini sağlamak amacıyla eklenen maddeler lens yüzeyinde her lenste farklı olmak üzere yüzeylerinde farklılaşmalara sebep olduğu yine SEM analizlerinde görülmüştür. Özellikle, PF ve HM55'de amorf şekilli yüksek pürüzlülüğe sahip yapılar görülmektedir. Lensin göze temas eden yüzeylerinden aldığımız SEM analizlerine göre bu yapıların kornea üzerinde minör travmalara sebep olacağı ve patojenlerin yerleşmesi için bir kapı oluşturacağı kanısındayız. Yine, renk vermek amacıyla eklenen bu maddeler tüm lens yüzeyinde polimerleşme homojenitesini bozduğu SEM analizlerinde belirlenmiştir. Lens yüzeyinde amip adezyonu değerlendirilirken, renk veren maddelerin bulunduğu bölgelere daha yoğun olarak amip trofozoitlerinin biriktiği belirlenmiştir. Bu bulgu eklenen maddelerin amip adezyonuna etkisi olduğunu göstermektedir.

Araştırmada kullanılan ticari kontakt lensler hidrojel özellikli kopolimerlerdir. Hidrojel özellikli olduklarından su ile şişme ya da üç boyutlu ağlarına oldukça fazla miktarda suyu tutma özelliğine sahiptirler (Ahmed, 2015). Elbette ki söz konusu hidrojel yapıdaki kontakt lenslerin ticari formuna göre non-polar/non-iyonik ya da polar/iyonik bileşimleri de bu deney sonuçlarını etkilemektedir. Buna göre; PM non-iyonik bir polimerdir ve yüzey topolojisi düzdür. PF ise iyonik özelliğe sahip bir polimerdir ve bu iki lens amip adezyonu açısından karşılaştırıldığında PM yüzeyine daha fazla sayıda amip trofozoiti yapışmıştır ve ikisi arasında anlamlı fark vardır ( $p < 0.05$ ) Buradan yola çıkarak lensin non-iyonik özelliğinin amip adezyonuna negatif etkisi olabileceği kanısındayız.

Lee ve arkadaşları ticari olarak satılan üç farklı gaz geçirgenli sert kontakt lens üzerine *Acanthamoeba castellanii* trofozoitlerinin adezyonunu araştırmışlar ve SEM analizleri sonucunda da amip adezyonu üzerine kontakt lens yüzeyinin etkisi olduğu sonucuna varmışlardır.

Kullanılmış ve kullanılmamış kontakt lensler arasındaki moleküler farklılıkların araştırıldığı çalışmalarda 30 dakika kullanılan bir lenste mannoz içeren sakkaridler, glukoz, galaktoz, N-asetil glukozamin, N-asetil galaktozamin, siyalik asit, proteinler, glikoproteinler, lipidler, polisakkaridler, kalsiyum, magnezyum, sodyum, laktoferrin, immunglobulin moleküllerinin bulunduğu gösterilmiştir (Gudmundsson ve ark., 1985). Araştırmalar, kullanılmış kontakt lens yüzeyine *Acanthamoeba* trofozoit adezyonunun, kullanılmamış lenslere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu moleküllerin *Acanthamoeba* trofozoitleri için reseptör olarak rol aldığı düşünülmektedir. Bu nedenle de kullanılmış kontakt lenslerde kullanılmamışlara göre *Acanthamoeba* adezyonunun daha fazla olduğu

bildirilmiştir. Buna ek olarak, kullanılmış hidrojel ve silikon hidrojel lenslerin hiç kullanılmamış eş lenslere oranla daha yüksek derecede yüzey pürüzlülüğüne sahip olduğu gösterilmiştir. Silikon hidrojel lenslerinin kullanım sonrasında yüzey hidrofobitesinin ve lens yüzey özelliklerinde, lens kullanımı sırasında veya sonrasında meydana gelen bu değişimler nedeniyle mikrobiyal ve parazitik adezyonlara elverişli hale geldiği öne sürülmüştür (Beattie ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda kullanılmamış lensler işleme alınmıştır. Çalışmada kullanılan lenslerin kullanıldıktan sonra işleme alınması durumunda, lens yüzeyinde biriken moleküllerden ve lens yüzeyine meydana gelebilecek fiziksel değişikliklerden dolayı *Acanthamoeba* trofozoit adezyonunun artacağı kanısındayız.

Kontakt lensler üzerine *Acanthamoeba* trofozoitlerinin adezyonu ile ilgili olarak yapılan çalışmaların hepsinde tek tür amip değerlendirmeye alınmıştır. Araştırma amaçlarımızdan biri de kontakt lens yüzeyine adezyonda amiple ilgili faktörlerin de etkili olup olmadığını değerlendirmektir. Bu amaçla *A. hatchetti* (2HH suşu) ve *A. castellanii* (Pat06 suşu) türleri ayrı ayrı değerlendirmeye alınmıştır. *A. hatchetti* türünün PM üretim materyaline sahip olan lenste 24. saatteki yapışan amip sayısı 1. saate göre kıyaslandığında artma görülürken, HM55'de azalma görülmüştür. *A. castellanii* suşunda ise bütün lens tiplerinde 24. saat 1. saatle kıyaslandığında paralellik belirlenmiştir. Bu bulgu amip adezyonunda *Acanthamoeba* türüne bağlı faktörlerin etkisi olduğunun göstergesidir.

Renkli kontakt lensler refraktif düzeltme yapabilen veya refraktif düzeltme yapmayan şekilde iki türde dizayn edilmiş ve gözün görünüm ve rengini değiştirmek amaçlı kullanılan lenslerdir. Son zamanlarda sanatsal desenler,

resimler, kelime veya kelime grubu içeren bir dizi lensler sadece eğlence amaçlı piyasaya sürülmüştür. Dekoratif kontakt lensler de görme kusurlarını düzelteren lenslerden oküler yüzey fizyolojisini bozma yönünden farklı değildirler. Araştırmalar diğer kontakt lenslerden daha fazla oranda, mikrotravmalar, lens ve lens altına gözyaşı akışının engellenmesi, epitelyal hipoksi, enfeksiyöz kornea iltihaplanmasına sebep olduğunu göstermiştir. Araştırmacılar bu durumun, kozmetik lenslerin genellikle kontakt lens kullanımı için uygun olmayan ve çoğunlukla riskleri göz ardı edebilen gençler tarafından tercih edilmesi, lenslerin göz doktorları dışında herhangi bir satıcıdan kolaylıkla elde edilebilmeleri gibi nedenlerden dolayı olabileceğini belirtmişlerdir. Lensler uygun bir şekilde göz uzmanı tarafından verilse bile hastalardan yarısı temizlik ve bakım talimatlarını, lensleri değiştirme programlarını düzgün bir şekilde yapmadıkları gösterilmiştir (Singh ve ark., 2012).

## 6. SONUÇLAR

Sonuç olarak, kozmetik kontakt lenslerin çoğunlukla, kozmetik sebeplerle risk faktörlerini göz ardı edebilen gençler tarafından tercih edilmesi, lenslerin göz doktorları dışında herhangi bir satıcıdan kolaylıkla elde edilebilmeleri gibi sebeplerle kullanımı yaygınlaşmaktadır ve kullanıcılar kozmetik nedenler uğruna ciddi oküler risklerle karşı karşıya kalmaktadırlar. Üretim materyalleri ve su içerikleri farklı beş kozmetik lens yüzeyine iki farklı patojenik *Acanthamoeba* suşunun adezyonunu değerlendirdiğimiz çalışma sonuçları aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- I. Kozmetik kontakt lens yüzeyine *Acanthamoeba* adezyonu üzerine su içeriğinin etkisi yoktur.
- II. SEM analizlerine göre, kozmetik lensin yüzey pürüzlülüğünün amip adezyonu üzerine etkisi olmadığı belirlenmiştir.
- III. Çalışmada elde edilen veriler *Acanthamoeba* trofozoitlerinin kontakt lens yüzeyine adezyonunda lensin doğal polimer yapısı ve/veya kimyasal özelliğinin etkili olduğunu göstermiştir.
- IV. Kontakt lens yüzeyine amip adezyonunda *Acanthamoeba* türlerine bağlı faktörler de etkilidir.



## 7.KAYNAKLAR

- Abdulhalim, B., Wagih, M.M., Gad, A.A., Boghdadi, G., Nagy, R.R. (2015). Amniotic membrane graft to conjunctival flap in treatment of non-viral resistant infectious keratitis: a randomised clinical study. *British Journal of Ophthalmology*, 99(1),59-63.
- Ahmed, E.M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research*, 6(2):105-21.
- Akın Polat, Z. (2005). Deneysel olarak oluşturulan *Acanthamoeba* keratitinin histopatolojik gelişimi ve hastalığın tedavisi üzerine çalışmalar. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Sivas.
- Akın Polat, Z., Özçelik, S., Vural, A., Yildiz, E., Cetin, A. (2007) Clinical and histologic evaluations of experimental *Acanthamoeba* keratitis. *Parasitology Research*, 101:1621-5.
- Akın Polat Z., Obwaller, A., Vural, A, Walochnik, J. (2012). Efficacy of miltefosine for topical treatment of *Acanthamoeba* keratitis in Syrian hamsters. *Parasitology Research*, 110(2): 515-20.
- Akın Polat, Z., Walochnik, J., Obwaller. A., Vural, A., Dursun, A., Arici, M.K. (2014) Miltefosine and polyhexamethylene biguanide: a new drug combination for the treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *Clinical Experimental Ophthalmology*, Mar;42(2):151-8.
- Akisu, Ç., Tuğlu, İ.,Baka, M.,Durak, İ., Orhan, V. (1999) A case of *Acanthamoeba* keratitis: Light and electron microscope finding. *Acta Parasitologica Turcica*, 23 (3): 340-342.
- Aksozek, A., McClellan, K., Howard, K., Niederkorn, J.Y., Alizadeh, H. (2002). Resistance of *Acanthamoeba castellanii* cysts to physical, chemical and radiological conditions. *Journal of Parasitology*, 88:621-23.
- Akyol, N., Aşçı, Z., Kükner, S. (1996). *Acanthamoeba* keratitis: The first reported case from Turkey. *Ophthalmic Practice*, (2):46-48.
- Alkharashi, M., Lindsley, K., Law, H.A., Sikder, S. (2015). Medical interventions for *Acanthamoeba* keratitis. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2:CD010792.
- Barry Lee, W., Grossniklaus, H.E., Edelhauser, H.F. (2010) Concurrent *Acanthamoeba* and *Fusarium* Keratitis with silicone hydrogel contact lens use. *Cornea*, 29(2):210-3.
- Beattie, T.K., Tomlinson, A., Seal, D.V. (2003).Surface treatment or material characteristic: the reason for the high level of *Acanthamoeba* attachment to silicone hydrogel contact lenses. *Eye Contact Lenses*, 29(1):40-3.
- Beattie, T.K., Tomlinson, A. (2009). The effect of surface treatment of silicone hydrogel contact lenses on the attachment of *Acanthamoeba castellanii* trophozoites. *Eye Contact Lens*, (35):316–319.

- Beattie, T.K., Tomlinson, A., Seal, D.V., McFadyen, A.K. (2011). Salicylate inhibition of *Acanthamoeba* attachment to contact lenses. *Optometry Vision Science*, 88(12):1422-32.
- Byers, T.J., Kim, B.G., King, L.E., Hugo, E.R. (1991). Molecular aspects of the cell cycle and encystment of *Acanthamoeba*. *Reviews of Infectious Disease*, 5:373-84.
- Campos-Rodriguez, R., Oliver-Aguillon, G., Vega-Perez, L.M., Jarillo-Luna, A., Hernandez-Martinez, D., Rojas-Hernandez, S., Rodriguez-Monroy, M.A., Rivera-Aguilar, V., Gonzalez-Robles, A. (2004). Human IgA inhibits adherence of *Acanthamoeba polyphaga* to epithelial cells and contact lenses. *Canada Journal of Microbiology*, (50): 711–718.
- Carnt, N., Stapleton, F. (2016) Strategies for the prevention of contact lens-related *Acanthamoeba* keratitis: A review. *Ophthalmic Physiological Optics*, 36: 77–92.
- Chan, K.Y., Cho, P., Boost, M. (2014). Microbial adherence to cosmetic contact lenses. *Contact Lens Anterior Eye*,37:4 267-272.
- Chawla, A., Armstrong, M., Carley, F. (2014). *Acanthamoeba* keratitis – an increasing incidence. *Contact Lens Anterior Eye*, (37): 120.
- Cheung, N., Nagra, P., Hammersmith, K. (2016). Emerging trends in contact lens-related infections. *Current Opinion Ophthalmology*, 27(4):32-327.
- Chin, J., Al, Y., Hui, M., Jhanji, V. (2014). *Acanthamoeba* Keratitis: 10-Year Study at a Tertiary Eye Care Center in Hong Kong. *Contact Lens Anterior Eye*, 38(2):99-103.
- Cohen, E.J., Parlato, C.J., Arentsen, J.J., Genvert, G.L., Eagle, R.C. , Wieland, M.R., Laibson, P.R. (1987). Medical and surgical treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *American Journal of Ophthalmology*, 103(5), 615-625.
- Cole, F.J., Oxon, D. Sc. (1926). The history of protozoology. University of London Press, Ltd. 17 Warwick Square E.C.4.
- Cope, J.R., Collier, S.A., Rao, M.M., Chalmers, R., Mitchell, G.L., Richdale, K., Wagner, H., Kinoshita, B.T., Lam, D.Y., Sorbara, L., Zimmerman, A., Yoder, J.S., Beach, M.J. (2015) Contact lens wearer demographics and risk behaviors for contact lens related eye infections. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 21;64(32):865-70.
- Dart, J.K., Saw, V.P., Kilvington, S. (2009). *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis and treatment update. *American Journal of Ophthalmology*, 148(4):487–499.
- De Jonckheere, J.F. (1983). Isoenzyme and total protein analysis by isoelectric focusing, and taxonomy of the genus *Acanthamoeba*. *Journal of Protozoology*, 30:701-706.
- Ertabaklar, H., Dayanir, V., Apaydin, P., Ertu, S., Walochnik, J. (2009). Olgu sunumu: *Acanthamoeba* keratiti. *Turkiye Parazitoloji Dergisi*, 33(4): 283-5.
- Ficker, L., Seal, D., Warhurst, D., Wright, P. (1990). *Acanthamoeba* keratitis-resistance to medical therapy. *Eye*, (4): 835-838.
- Fuerst, P.A. (2014). Insights from the DNA databases: approaches to the phylogenetic structure of *Acanthamoeba*. *Experimental Parasitology*, Nov;145:39-45.

- Garate, M., Marchant, J., Cubillos, I., Cao, Z., Khan, N.A., Panjwani, N. (2006). In vitro pathogenicity of *Acanthamoeba* is associated with the expression of the mannose-binding protein. *Investigate Ophthalmology Visual Science*, (47): 1056–1062.
- Giraldez, M.J., Resua, C.G., Lira, M., Oliveira, M.E., Magariños, B., Toranzo, A.E., Yebra-Pimentel, E. (2010) Contact lens hydrophobicity and roughness effects on bacterial adhesion. *Optometry Vision Science*, 87(6):426-31.
- Giraldez, M.J., Serra, C., Lira, M., Real, Oliveira, M.E., Yebra-Pimentel, E. (2010). Soft contact lens surface profile by atomic force microscopy. *Optometry Vision Science*, 87(7):475-81.
- Gökpınar, S., Aydenizöz, M. (2010). Göze yerleşen protozoonlar ve artropodlar. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 34 (2):137-144.
- Gudmundsson, O.G., Woodward, D.F., Fowler, S.A., Allansmith, M.R. (1985). Identification of proteins in contact lens surface deposits by immunofluorescence microscopy. *Archives of Ophthalmology*, 103(2):196-7.
- İnal Ö., Yüksel A. (1998). Kontak lensler ve lens çözümleri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 27 (1) 31-49.
- Jonathan, R., Sharon, R., William, M.D., Ritterband, D.C., Yoder, J.S., Ayers, T., Shah, R.D., Samper, M.E., Shih, C.Y., Schmitz, A.D., Brown, A. (2014). Clinical characteristic of *Acanthamoeba* keratitis infections in 28 states, 2008 to 2011. *Cornea*, (33):8-161.
- Khan, NA., Naveed, A., Timothy, A.P. (2002). Molecular tools for speciation and epidemiological studies of *Acanthamoeba*. *Current Microbiology*, 44: 444-449.
- Kilvington, S., Larkin, D.F. (1990). *Acanthamoeba* adherence to contact lenses and removal by cleaning agents. *London Eye*, (4):589-93.
- Kobayashi, T., Higuchi-Watanabe, N., Shiraishi, A., Uno, T., Ohashi, Y.(2015). Miraflow, soft contact lens cleaner: activity against *Acanthamoeba* Spp. *Eye Contact Lens*, 41:4-240.
- Lakhundi, S., Siddiqui, R., Khan, N.A. (2016) Pathogenesis of microbial keratitis. *Microbial Pathogenesis*, (16):3075-76.
- Larkin, D.F., Kilvington, S., Easty, D.L. (1990). Contamination of contact lens storage cases by *Acanthamoeba* and bacteria. *British Journal of Ophthalmology*, 74(3):133-5.
- Lee, G.H., Yu, H.S., Lee, J.E. (2016). Effects of multipurpose solutions on the adhesion of *Acanthamoeba* to rigid gas permeable contact lenses. *Ophthalmic and Physiological Optics*, 36(2):93-9.
- Lim, N., Goh, D., Bunce, C., Xing, W., Fraenkel, G., Poole, T.R., Ficker, L. (2008). Comparison of polyhexamethylenelene biguanide and chlorhexidine as monotherapy agents in the treatment of *Acanthamoeba* keratitis. *American Journal of Ophthalmology*, (145)130-135.
- Lorenzo-Morales, J., Martin-Navarro, C.M., Lopez-Arencibia, A., Arnalich-Montiel, F., Pinero, J.E., Valladares, B. (2013). *Acanthamoeba* keratitis: an emerging disease gathering importance worldwide? *Trends in Parasitology*, 29(4), 181-187.

- Lorenzo-Morales, J., Khan, N.A., Walochnik, J. (2015). An update on *Acanthamoeba* keratitis: diagnosis, pathogenesis and treatment. *Parasite Journal* 22:10. doi:10.1051/parasite/2015010.
- Marciano-Cabral, F., Cabral, G. (2003). *Acanthamoeba* spp. As agents of disease in humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2), 273-307.
- Markel, E.K., Voge, M., Jhon, D.T., (1992) Medical parasitology. WB Saunders Co Philadelphia. (7):22-96.
- Martin-Navarro, C.M., Lopez-Arencibia, A., Sifaoui, I., Reyes-Batlle, M., Valladares, B., Martinez-Carretero, E., Pinero, J.E., Maciver, S.K., Lorenzo-Morales, J. (2015). Statins and voriconazole induce programmed cell death in *Acanthamoeba castellanii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 59:2817-2824.
- Mazur T., Hadaś E., Iwanicka L.(1995). The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates. *Trop Med Parasitol*. 46(2):8-106.
- McClellan, K., Howard, K., Niederkorn, J.Y., Alizadeh, H. (2001). Effect of steroids on *Acanthamoeba* cysts and trophozoites. *Investigate Ophthalmology and Visual Science*, (42):2885-2893.
- Niyyati, M., Rahmani, F., Lasjerdi, Z., Rezaeian, M. (2014). Potentially pathogenic free-living amoeba in contact lenses of the asymptomatic contact lens wearers. *Iran Journal of Parasitology*, 9(1):14-19.
- Niyyati, M., Rezaeian, M. (2015). Current status of *Acanthamoeba* in Iran: A Narrative Review Article.
- Noorjahan, N.P. (2010). Pathogenesis of *Acanthamoeba* keratitis. *Ocular Surface*, (8): 70–79.
- Omana-Molina, M.A., Gonzalez-Robles, A., Salazar-Villatoro, L., Bernal-Escobar, A., Duran-Diaz, A., Mendez-Cruz, A.R., Martinez-Palomo, A. (2014). Silicone hydrogel contact lenses surface promote *Acanthamoeba castellanii* trophozoites adherence: qualitative and quantitative analysis. *Eye Contact Lens*, 40(3):132–139.
- Özcel, M.A., Özbel, Y.(Ed), Ak, M.(Ed). (2007). Tıbbi parazit hastalıkları. Meta Basım, İzmir-Türkiye, 318-320.
- Özsu, B.(2007). Kontakt lens sektör profili <http://www.ito.org.tr/Dokuman/Sektor/1-59.pdf>
- Page, M.A., Mathers, W.D. (2013). *Acanthamoeba* keratitis: a 12-year experience covering a wide spectrum of presentations, diagnoses, and outcomes. *Journal of Ophthalmology*, 670242.
- Pacella, E., La Torre, G., De Giusti, M., Brillante, C., Lombardi, A.M., Smaldone, G., Lenzi, T., Pacella, F. (2013) Results of case- control studies support the association between contact lens use and *Acanthamoeba* keratitis. *Clinical Ophthalmology*, (7):4-991.
- Radford, C.F., Bacon, A.S., Dart, J.K., Minassian, D.C. (1995). Risk factors for *Acanthamoeba* keratitis in contact lens users: a case- control study. *British Medical Journal*, (310): 1567–1570.

- Ren, M.Y., Wu, X.Y. (2011). Toll-like receptor 4 signalling pathway activation in a rat model of *Acanthamoeba* Keratitis. *Parasite Immunology*, (33): 25–33.
- Reverey, J.F., Fromme, R., Lippe, M., Selhuber-Unkel, C. (2014). In vitro adhesion of *Acanthamoeba castellanii* to soft contact lenses depends on water content and disinfection procedure. *Contact Lens Anterior Eye*. 37(4):6-262.
- Robaei, D., Carnt, N., Minassian, D.C., Dart, J.K. (2014). The impact of topical corticosteroid use before diagnosis on the outcome of *Acanthamoeba* keratitis. *Ophthalmology*, 121 (7):1383-1388.
- Robaei, D., Carnt, N., Minassian, D.C., Dart, J.K. (2015). Therapeutic and optical keratoplasty in the management of *Acanthamoeba* keratitis: risk factors, outcomes, and summary of the literature. *Ophthalmology*, 122(1):17-24.
- Sauer, A., Bourcier, T. (2011). French study group for contact lenses related microbial keratitis. Microbial keratitis as a foreseeable complication of cosmetic contact lenses: a prospective study. *Acta Ophthalmologica*, (89):439-42.
- Saygı, G., Polat, Z. (2003). Özgür yaşayan amipler ve neden oldukları parazitler. *C.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 25(3):140-149.
- Seal, D. (2003). *Acanthamoeba* keratitis update- incidence, molecular epidemiology and new drugs for treatment. *Eye Contact Lenses*, (17):893-905.
- Singh, S., Satani, D., Patel, A., Vhankade, R. (2012). Colored cosmetic contact lenses: an unsafe trend in the younger generation. *Cornea*, (31):777-9.
- Truong, D.T., Bui, M.T., Cavanagh, H.D. (2016). Epidemiology and outcome of microbial keratitis: Private University Versus Urban Public Hospital Care. *Eye Contact Lenses*.
- Tryzyna, W.C., Legras, X.D., Cordingley, J.S. (2008). A type-1 metacaspase from *Acanthamoeba castellanii*. *Microbiology Research*, (163): 414-423.
- Uno, T., Ohashi, Y., Nomachi, M., Imayasu, M. (2012). Effects of multipurpose contact lens care solutions on the adhesion of *Acanthamoeba* to silicone hydrogel contact lenses. *Cornea*, 31(10):1170-5.
- Üstüntürk, M. (2014). Kontakt lens dezenfektan solüsyonlarının antimikrobiale etkinliklerinin değerlendirilmesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, İstanbul.
- Vemuganti, G.K., Reddy, K., Iftexhar, G., Garg, P., Sharma, S. (2004). Keratocyte loss in corneal infection through apoptosis: a histologic study of 59 cases. *BMC Ophthalmology*, (24):4:16.
- Visvesvara, G.S., Martinez, A.J., Schuster, F.L., Leitch, G., Wallace, S.V., Sawyer, T.K., Anderson, M. (1990). Leptomyxid amoeba, a new agent of amoebic meningoencephalitis in humans and animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 28:6-2750.
- Visvesvara, G.S. (1991). Classification of *Acanthamoeba*. *Reviews of Infectious Disease*, 13:369-372
- Visvesvara, G.S., Schuster, F.L., Martinez, A.J. (1993). *Balamuthia mandrillaris*, n.g., n.sp., agent of amoebic meningoencephalitis in humans and other animals. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 40:14-504.

- Visvesvara, G.S., Moura, H., Schuster, F.L. (2007). Pathogenic and opportunistic Free-Living Amoeba: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappina diploidea*. *FEMS Immunology Medicine Microbiology*, 50:1-26.
- Willcox, M.D., Holden, B.A. (2001). Contact lens related corneal infections. *Bioscience Reports*, (21):61-445.
- Woo Ji, Y., Hong, S.H., Chung, D.Y., Kim, E.K., Lee, H.K. (2014). Comparison of surface roughness and bacterial adhesion between cosmetic contact lenses and conventional contact lenses, *Journal of the Korean Ophthalmological Society*, 55(5):646-655.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

Adı Soyadı Berna BAYSAL BAKAY  
Doğum Yeri ve Tarihi Sivas-1988  
Medeni Hali Evli  
Yabancı Dil İngilizce  
İletişim Adresi Kardeşler Mah. Bağdat Cad. Sultan Şehir Sitesi A Blok D:29  
Sivas/Merkez  
E-posta Adresi berna5988@hotmail.com

### Eğitim ve Akademik Durumu

Lise Tekirdağ Namık Kemal Lisesi, 2005  
Lisans Cumhuriyet Üniversitesi, 2011

### İş Tecrübesi

Özel Tekirdağ Yaşam - Servis Hemşiresi 2011-2012  
Hastanesi  
Özel Çorlu Reyap - Hastanesi Kalp-Damar Cerrahi Servis Hemşiresi