T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

DENEYSEL *CANDİDA ALBICANS* ENDOFTALMİLİ TAVŞAN GÖZLERİNDE İNTRAVİTREAL MOKSİFLOKSASİN VE AMFOTERİSİN B MONOTERAPİLERİ İLE KOMBİNASYON TEDAVİSİNİN ANTİFUNGAL ETKİNLİĞİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. YUDUM TİFTİKCİOĞLU DEREN

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ

DOÇ. DR. ŞENGÜL ÖZDEK

2006

ANKARA

TEŞEKKÜR

Oftalmoloji eğitimim boyunca, tüm tecrübe ve bilgilerinden yararlanmamı sağlayan başta Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı'nın kurucusu ve başkanı olan Sayın Prof. Dr. Berati Hasanreisoğlu olmak üzere tüm hocalarıma, tez çalışmam sırasında sonsuz destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Şengül Özdek'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Ayrıca bu tezin hazırlanmasında sağladıkları kolaylık ve yardımlardan dolayı çalışmanın patolojik incelemelerini gerçekleştiren Sayın Dr. Nalan Akyürek'e ve mikrobiyolojik incelemelerini gerçekleştiren Sayın Dr. Ayşe Kalkancı'ya ve birlikte çalışmaktan her zaman zevk duyduğum tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

Giriş……. 4

Genel Bilgiler…….……. 6

1. Endoftalmiler…….. 6

    a. Klinik sınıflandırma…… 6

    b. Tanı yöntemleri……... 9

    c. Proflaksi…….. 10

    d. Tedavi yöntemleri……... 10

    e. Endoftalmi Vitrektomi Çalışma Grubu (EVS) ve sonuçları…….. 16

2. Fungal endoftalmiler ve *Candida albicans* …… 18

3. Antifungal ilaçlar…… 24

    a. Amfoterisin B……. 25

4. Fluorokinolon antibiyotikler……... 28

    a. Moksifloksasin …… 29

- Gereç ve Yöntem…… 33
- Bulgular…….. 37
- Tartışma ve Sonuç…….. 46
- Özet……. 52
- İngilizce Özet..... 55
- Kaynaklar…… 57

GİRİŞ

Fungal endoftalmiler nadir görülmelerine rağmen genellikle ciddi görme kaybı ve hatta gözün kaybıyla sonuçlanabildiğinden oftalmolojideki önemli acillerden biridir. Günümüzde organ nakilleri, malignansiler ve AIDS'e bağlı olarak immün supresyon prevalansınının ciddi ölçüde artması, kompleks cerrahi prosedürler ve uzun süreli antibiyotik kullanımının yaygınlaşması ve ne yazık ki intravenöz ilaç bağımlılığının artması sonucu göz içi fungal enfeksiyonların görülme sıklığı çok artmıştır [30; 31; 68].

Amfoterisin B'nin keşfi ve kullanıma sunulması ile diğer tüm fungal enfeksiyonlarda olduğu gibi fungal endoftalmilerin tedavisinde de yeni bir çağ başlamıştır. Amfoterisin B günümüzde kullanımda olan antifungaller arasında en etkili ve en geniş spektrumlu olanıdır. Fakat amfoterisin B'nin ciddi sistemik ve oküler toksisitesi kullanımını sınırlandırmakta ve fungal enfeksiyonların tedavisindeki en büyük ve aşılamamış problemi oluşturmaktadır. Amfoterisin B'nin etkili doz düzeyini ve dolayısıyla toksisitesini düşürebilecek ilaç kombinasyonları ve amfoterisin B kadar etkili ve geniş spektrumlu ama daha az toksik yeni antifungal ilaç arayışları fungal enfeksiyonların tedavisi ile ilgili araştırmaların temelini oluşturmaktadır. Günümüzde sfingolipidler, protein translasyon mekanizmaları ve DNA topoizomeraz enzimleri yeni antifungal ilaç araştırmalarının hedeflerini oluşturmaktadırlar [61].

Fluorokinonlar topoizomeraz 2 (DNA giraz) enziminin inhibisyonu ile etki gösteren geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Oftalmolojide en sık kullanılan antibiyotik grubu fluorokinolonlardır. İkinci ve 3. kuşak fluorokinolonlara karşı direnç gelişimi, topoizomeraz 2 yanısıra topoizomeraz 4 enzimini de inhibe ederek etki gösteren 4. kuşak fluorokinolonların (gatifloksasin, moksifloksasin) geliştirilmesine neden olmuştur. Moksifloksasin geniş gram (+), gram (-) ve anaerob spektruma sahip 4. kuşak bir fluorokinolondur.

Patojenik mantarlarda da topoizomeraz enzimlerinin bulunması ve fluorokinolonların topoizomeraz enzim inhibisyonu ile etki göstermeleri nedeniyle bu grup ilaçların antifungal etkinliklerinin olup olmadığı merak uyandıran ve araştırılan bir konu olmuştur. Literatürde çeşitli fluorokinolonların tek başlarına antifungal etki göstermemelerine rağmen bilinen antifungal ilaçlarla kombine edildiklerinde in-vitro ve in-vivo olarak sinerjistik etki gösterdiklerine dair pek çok çalışma mevcuttur [11; 49; 72; 97]. Ayrıca moksifloksasinin ve diğer fluorokinolonların immün modülatuar etki gösterdiği ve bu yolla fungal enfeksiyonlarda koruyucu etkisi olduğu yapılan in-vivo hayvan çalışmalarında gösterilmiştir [55; 86-88]. Literatürde moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlarla olan ilişkisi üzerine yapılmış tek bir çalışma mevcuttur. Özdek ve ark. tarafından yapılmış olan bu in-vitro çalışmada, moksifloksasin ve gatifloksasinin, fungal göz enfeksiyonlarından izole edilen *Candida* suşlarına karşı tüp dilüsyon testinde in-vitro antifungal etkinlik gösterdikleri saptanmıştır [75]. Fakat literatürde moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlarla olan ilişkisi üzerine yapılmış herhangi bir in-vivo çalışma mevcut değildir.

Çalışmamızda tavşan gözlerinde oluşturulan deneysel *Candida albicans* endoftalmi modelinde moksifloksasinin tek başına antifungal etkinliğinin olup olmadığı ve amfoterisin B ile kombine edildiğinde sinerjistik etki gösterip göstermediğinin in vitro ve in vivo olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

1- ENDOFTALMİLER

Endoftalmi bakteriyel, fungal ya da parazitik mikroorganizmalar tarafından göz içi dokuların invazyonu sonucu ortaya çıkan enflamatuar bir cevaptır. Enflamasyon sklera, tenon kapsülü ve orbita yumuşak dokularını da tutarsa bu tablo panoftalmi adını almaktadır. Steril endoftalmi ise katarakt ameliyatlarından sonra göz içinde kalan lens materyeline karşı veya intravitreal ilaç enjeksiyonu sonrası prezervan maddelere karşı gelişen immün reaksiyondur.

Endoftalmi olgularında klinik tablo görmeyi bir miktar azaltan hafif ağrılı, bazen kronik seyreden düşük şiddetli bir enflamasyon tablosundan şiddetli hipopiyon, şiddetli ağrı, fundus reflesinin kaybı ile seyreden akut fulminant bir enfeksiyon tablosuna kadar değişen geniş bir spektrum göstermektedir.

Endoftalmi olgularının çoğunluğunda kaynak kişinin kendi oküler florasıdır. Kapak cildinde ve konjonktivada yer alan *Stafilokok* türleri ve *P. acnes*, postoperatif endoftalmide sıkça izole edilen mikroorganizmalardır.

Endoftalmi nadir görülmesine rağmen genellikle gözün kaybıyla sonuçlanabildiğinden oftalmolojideki en önemli durumlardan biridir. Diabet, immün yetmezlik, alkol ve damar yoluyla uyuşturucu kullanımı endoftalmi riskini arttıran sistemik faktörler arasındadır.

a-Endoftalmilerde Klinik Sınıflandırma :

Endoftalmiler travma sonrası veya postoperatif olarak mikroorganizmanın ekzojen inokülasyonu ile (egzojen endoftalmi) veya enfeksiyonu olan hastalarda endojen bir kaynaktan yayılım ile (endojen endoftalmi) oluşabilir. Endoftalmilerin klinik sınıflandırması aşağıdaki şekildedir:

A-Egzojen Endoftalmi:

1-Postoperatif endoftalmi: Yara yeri sızıntıları, kullanılan tekniğe ait sütür sorunları, sütür alınması, ikincil cerrahi manüpülasyonlar, lakrimal sisteme ait enfeksiyonlar, blefarit, kontamine göz içi lensleri, kontamine donör kornealar, kontamine irrigasyon sıvıları, kontamine göz damlaları ve kontamine cerrahi aletler postoperatif endoftalmi riskini arttıran faktörlerdir [98].

Akut postoperatif endoftalmi: Cerrahiyi takiben ilk 6 hafta içerisinde ortaya çıkmaktadır. Tanıda ağrı %85–88 oranında ilk bulgu olarak bildirilmektedir. Endotelyal presipitatlar, hipopiyon, fundusun aydınlanmasını engelleyen şiddetli vitritis, fundus reflesinin kaybolması da tabloya eklenebilir. Diğer izlenebilen bulgular üst kapakta ödem, kemozis, konjonktivada hiperemi şeklindedir. Akut postoperatif endoftalmi en sık katarakt cerrahisi sonrasında ortaya çıkmaktadır [27]. Ve en sık karşılaşılan etkeni *S. epidermidis'tir* [17].

Geç postoperatif endoftalmi: Postoperatif 6. haftadan sonra, aylar hatta yıllar sonra ortaya çıkabilen daha hafif seyirli, tekrarlayıcı olabilen, sistemik ve topikal streoidlere kısmen cevap veren bir üveit şeklidir. En sık etkeni *P. acnes*'tir [4]. Düşük virülanslı tüm mikroorganizmalar etken olabilir. Hafif bir ağrı, hipopiyonlu ya da hipopiyonsuz granülamatöz üveit, hafif vitritis, kapsüler kalınlaşma, plak oluşumu ve görme kaybı ile kendini gösterebilmektedir.

2-Posttravmatik endoftalmi: Penetran yaralanma sonrası kesi yerinde enfeksiyon bulunması, lens kapsül rüptürü, primer sütürasyonun 24 saattten geç yapılması gibi durumlarda posttravmatik endoftalmi riski artmaktadır [34]. Tüm endoftalmilerin %10-30'u travma sonrasında görülmektedir. Travma ile ilişkili endoftalmilerde en sık etken gram (+) mikroorganizmalardır (özellikle *B. cereus, S. epidermidis* ve *Streptekok* suşları).

Fungal endoftalmiler travmatik endoftalmilerin %8'ini oluşturmaktadır. Oküler travma sonrasında da endoftalmi bulguları ile benzer olan ağrı, kızarıklık, ortam opasiteleri ve görme azalması görülebildiğinden posttravmatik endoftalmilerin tanısı oldukça zordur [34]. Kontamine göz içi yabancı cisimler özellikle demir yada çelik parçaları enfeksiyon riskini arttırmaktadır.

3-Bleb ile ilişkili endoftalmi: Günümüzde glokom filtrasyon cerrahisinde antimetabolitlerin artan sıklıkta kullanımı ile birlikte, kistik bleb ve bleb sızıntısı gibi komplikasyonların artması sonucu bleb ile ilişkili endoftalmilerin insidansı da artmıştır [21]. Bleb ile ilişkili endoftalmiler glokom filtrasyon cerrahisi sonrası genellikle geç dönemde gelişmektedirler. Bu olgularda bleb endoftalmisi yanı sıra blebitis de görülebilmektedir. Blebitis, sadece ön segmenti içine alan lokalize bleb enfeksiyonudur ve prognozu bleb endoftalmisine göre çok daha iyidir [21]. Diğer endoftalmilerdekinin aksine erken bleb ile ilişkili endoftalmilerde, geç dönem endoftalmilere göre daha düşük virülanslı mikroorganizmalar (*P. acnes* ve *S. epidermidis*) etkendir. Geç başlangıçlı bleb endoftalmilerinde ise *Streptokok* tipleri, gram negatif bakteriler ve *H. influenza* gibi daha virülan mikroorganizmalar etken olarak karşımıza çıkmaktadırlar.

B- Endojen endoftalmi:

Endojen endoftalmi (metastatik endoftalmi) nadir görülen bir endoftalmi formudur. Genellikle ağır sistemik hastalığı, immünsupresyonu, yapay kapak valvi, uzun süreli kateteri olan veya intravenöz ilaç bağımlısı kişilerde, septisemi veya vücudun çeşitli yerlerindeki apselerden kaynaklanırlar. Kendini yoğun vitritis ile gösteren bir endoftalmi formu olduğu için predispozan faktörlere yönelik dikkatli hikaye alınmadığı takdirde kolaylıkla iridosiklit ya da ön vitritis ile karışabilir. Endojen endoftalmi etkenlerinin spektrumu diğer endoftalmi etkenlerinden belirgin şekilde farklılık gösterir. En sık görülen etkenler bakterilerden *Bacillus*

türleri, *Streptokok*'lar, *N. menengitis, S. aureus* ve *H. influenza*'dır. Fungal endoftalmiler de endojen endoftalmilerin önemli bir kısmını oluşturur ve en sık etkeni *C. albicans*'tır.

b-Endoftalmilerde Tanı Yöntemleri :

Konjonktiva, kapak kenarı ve bleblerden sürüntü örnekleri alınarak mikrobiyolojik çalışma yapılmalıdır. Kültür için ikinci aşamada göz içi sıvılardan (0.2-0.3 ml vitreus, aköz) örnekler alınmalı ve bu örnekler kültürün yanı sıra serolojik incelemeler için de kullanılmalıdır. Vitreus örneği 25 gauge iğne, infüzyonsuz vitreus kesicisi veya standart pars plana vitrektomi (PPV) teknikleri ile alınabilmektedir. İnfüzyon açılmadan okütom ile alınan ilk örneğin tanı koymada en değerli materyal olduğu gösterilmiştir. Aköz, ön kamaraya tüberkülin enjektörü ile girilerek alınabilir. Kültürün operasyon odasında yapılması çok önemlidir. Endoftalmi olgularında antibiyotik tedavisi uygulanmadan önce vitreus örneği alındığında %61-80'inde kültürde üreme elde edilirken, perioküler ve topikal antibiyotik kullanılmasını takiben örnek alınan olguların %0-20'sinde kültürde üreme görülmüştür [10]. Bu nedenle örnekler tedaviye başlanmadan önce alınmalıdır.

Alınan örnekler sırasıyla: 1- Koyun kanlı agar 2- Çukulata agar 3- Sabouraud dekstroz agar (SDA) 4- Tiyoglikolatlı buyyon besi yerlerine ekilmelidir. Ayrıca alınan metaryalden direkt mikroskopi için (gram ve giemsa boyama) yayma da yapılmalıdır.

Polimeraz zincirleme reaksiyonu (PCR), DNA'nın spesifik bir dizisinin enzimatik olarak çoğaltılması prensibine dayanır. PCR son yıllarda %92'ye varan duyarlılığı ile değerli bir yöntem olarak kullanılmaktadır [100]. Özellikle yavaş ve zor üreyen mikroorganizmaların (*P. acnes, A. israili*, Funguslar vb) saptanmasında ve mikroskopide etkenin saptanamadığı veya kültürde üreme olmayan olgularda çok faydalı bir tetkiktir. Kültürde yavaş üreyen mikroorganizmaların konvansiyonel yöntemler ile belirlenmesi zordur. PCR etkenin hızlı ve

duyarlı bir şekilde saptanmasını sağlamasına rağmen günümüzde diagnostik kültürün yerini tamamen alamamaktadır. Yanlış pozitif sonuç verebilmesi, etkenin antibiyotik direncinin bu yöntemle belirlenememesi ve testin maliyetinin yüksek olması en büyük dezavantajlarıdır [36; 37].

c-Endoftalmilerde Proflaksi :

Ameliyat öncesi topikal antiseptik ya da antibiyotikler kullanılarak göz yüzeyindeki mikroorganizmaların sayısının azaltılması ve ameliyat esnasında veya sonrasında topikal, subkonjonktivol veya sistemik yollarla oküler dokulara iyi bir antibiyotik diffüzyonunun sağlanması proflaksideki iki önemli yaklaşımı teşkil eder.

Bakteriyel endoftalmilerde en önemli kaynak kişinin kendi oküler florası olduğundan Povidon iodine (%1-5 lik solüsyon) ile proflaksi önem kazanmaktadır [6]. Ayrıca ameliyat öncesi 6 saat boyunca saat başı bir damla damlatılan Siprofloksasin'in aköze %59 penetrasyonu olduğu ve cerrahi öncesi profilakside etkili bir tercih olarak kullanılabileceği belirtilmektedir [22].

Topikal antibiyotiklerin postoperatif kullanılması, operasyon sırasında kullanılan irigasyon sıvılarına antibiyotik eklenmesi, ameliyat bitiminde subkonjonktival 0,2 ml (8 mg) gentamisin enjeksiyonu fikir birliğine varılamamış tartışmalı konulardır.

d-Endoftalmilerde Tedavi :

1-Akut Postoperatif Endoftalmilerde Tedavi:

Endoftalmi şüphesi olduğunda olgu endoftalmi tanısı almış gibi değerlendirilmeli ve mümkün olduğu kadar çabuk ve agresif şekilde tedaviye başlanmalıdır. İlk birkaç saat içinde

mikrobiyolojik incelemeler için gerekli örneklerin alınıp hemen ardından tedaviye başlanması son derece önemlidir.

A-*İntravitreal Antibiyotikler:*

Kan aköz bariyerinden etkilenmeden gerekli konsantrasyonlara ulaşılabildiğinden intravitreal antibiyotik uygulaması endoftalmi tedavisinde son derece önem kazanmıştır. Tedaviye başlarken geniş spektrumlu, retina toksisitesi az olan, Gram (+), gram (-) ve anaerob bakterilere karşı etkili ikili antibiyotikler seçilmelidir. Bu özellikleri sağlayan güncel antibiyotikler vankomisin ve amikasin/seftazidim'dir [27]. İntravitreal antibiyotiklerin en önemli komplikasyonu retina toksisitesi olup retina hasarının önlenmesi için mümkün olduğunca iğne ucu vitreus merkezine doğru yönlendirilmeli ve antibiyotik mümkün olduğunca yavaş enjekte edilmelidir. Akut postoperatif endoftalmide tüm gram (+) mikroorganizmalara ve metisiline dirençli *S. aureus*'a karşı intravitreal vankomisin kullanımı tartışmasız olarak kabul edilirken, gram negatif mikroorganizmalara karşı antibiyotik seçimi tartışmalı konular arasındadır. İntravitreal vankomisinin 1 mg/0,1 ml dozda retinaya toksik olmadığı gösterilmiştir [47]. Gram negatif etkenlere karşı kullanımda üzerinde durulan alternatifler ise aminoglikozidlerden amikasin, gentamisin ve 3. kuşak sefalosporinlerden seftazidim'dir [110]. Aminoglikozitler nöron ve iç retina tabakasındaki glialarda iskemi ve infarkta yol açarak retinal toksisiteye neden olabilirler. Amikasin ve seftazidimin invitro etkinlikleri eşittir fakat özellikle gentamisin maküler toksisiteye neden olabilmektedir. Tekrarlayan intravitreal uygulamalarında retina toksisitesi riski de artmaktadır. Seftazidim ise bu ilaçların aksine retina toksisitesi riski düşük ve teropatik indeksi yüksek bir ilaç olduğu için son zamanlarda aminoglikozitlere göre daha çok tercih edilmektedir [110]. Tekrarlayan enjeksiyondan sonra ilaç birikimi retinal toksisite riskini arttırabileceği için olgunun kliniğinde düzelme olmaz ise intravitreal enjeksiyon ancak 48-96 saat sonra tekrar edilebilir.

B-*Sistemik Antibiyotikler:*

Oküler penetrasyonlarının sınırlı olması, belirgin intraoküler konsantrasyonlarını 48 saat gibi geç bir sürede oluşturalabilmeleri, sistemik yan etkileri ve maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle endoftalmi tedavisinde sistemik antibiyotiklerin kullanımı tartışmalı konular arasındadır. Fakat endoftalmilere enfeksiyöz sklerit, skleral abse, orbital selülit, korneal ring abse ve ateş gibi durumlar eşlik ettiğinde mutlaka sistemik antibiyotik tedavisi gerekmektedir. Endoftalmi Vitrektomi Çalışması (EVS) sonuçları katarakt cerrahi sonrası oluşan endoftalminin rutin tedavisinde sistemik antibiyotik tedavisinin dışlanmasını desteklemektedir. Fakat endoftalmi etkenlerinin çoğu gram pozitif bakteriler olmasına rağmen EVS'de kullanılan sistemik antibiyotikler gram negatif spektrumlu antibiyotiklerdir.

Bilinen klasik antibiyotiklerin oküler penetrasyonu zayıf olduğu için yeni antibiyotik arayışına yönelinmiştir. Günümüzde 2. ve 3. kuşak fluorokinolonlara (siprofloksasin ve ofloksasin) karşı direnç gelişimi bu antibiyotiklerin oküler patojenlere karşı tedavi başarısını ciddi ölçüde azaltmaktadır. Oküler patojenlerin direncini yenmek için yeni kuşak flourokinolonlar kullanılmaya başlanmıştır. Bunlar 3. kuşak fluorokinolonlardan levofloksasin ve 4. kuşak fluorokinolonlardan moksifloksasin ile gatifloksasindir. İkinci ve 3. kuşak fluorokinolonlar DNA giraz enzimini inhibe ederek etki gösterirlerken, moksifloksasin ve gatifloksasin DNA giraz yanısıra DNA topoizomeraz 4 enzimini de inhibe ederek etki göstermektedirler. Spontan mutasyon ile direnç gelişimini önlemek için geliştirilmiş olan 4. kuşak fluorokinolonlara karşı direnç gelişimi için bu iki enzimin birlikte mutasyona uğraması gerekmektedir ki bu olasılık yok denecek kadar azdır. Ayrıca 4. kuşak fluorokinolonların gram negatif bakterilere karşı yüksek etkinliklerini korurlarken, gram pozitif bakterilere karşı diğer kuşaklardan daha etkili olmaları da ikinci bir avantaj sağlamıştır [18]. Dördüncü kuşak fluorokinolonlar oral kullanım sonrası oküler dokularda, en sık görülen endoftalmi etkenleri

için yeterli minumum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerine ulaşmaları, iyi tolere edilmeleri ve %96 gibi mükemmel biyoyararlanımları ile gelecekte endoftalmi tedavisinde önemli yere sahip olacaklardır.

C-*Kortikosteroidler:*

Endoftalmili gözlerde prognozun kötü olması iki yıkıcı gücün etkisi ile olmaktadır. Bunlardan birincisi enfeksiyonun yol açtığı hasar, ikincisi ise vücudun savunma mekanizmalarının buna karşı verdiği immün yanıttır. Hem enfeksiyonu hem de enflamasyonu kontrol edebilmek için endoftalmilerde kortikosteroid ve antibiyotiklerin uyumlu bir şekilde kullanılması gerektiğine inanılmaktadır. Literatürde intravitreal steroidlerin endoftalmi tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılan araştırmalarda bir biri ile tutarsız ve farklı sonuçlar elde edilmiştir [26; 62; 85]. Steroidlerin potansiyel dezavantajları arasında enfeksiyon kontrol mekanizmalarını baskılamaları, toksik reaksiyona neden olabilmeleri ve enfeksiyonun progresyonunu maskeleyebilmeleri sayılabilir. EVS'de intravitreal steroidlerin çalışılmaması bu konunun tartışmalı kalmasına neden olmuştur.

D- *Pars Plana Vitrektomi:*

Vitrektominin ciddi görme kaybı olan, ilk tedaviye rağmen kliniği ilerleyen, fundusun kırmızı reflesinin kaybolduğu, virülansı yüksek mikroorganizmalar ile mantarların neden olduğu, vitreus hemorajisi ve intraoküler yabancı cisim olan olgularda uygulanılması önerilmektedir. Vitrektomi ile toksinlerin konsantrasyonlarının azaltılması, mikroorganizmaların üreyebileceği bir besi ortamı ve enflamasyona bağlı traksiyonel vitreus membranlarının oluşumu için bir iskelet olan vitreusun uzaklaştırılması, vizyonu engelleyen opak ortamın ortadan kaldırılması, lokal ve sistemik uygulanan antibiyotiklerin vitreusa direkt verilmesi ve optimal doku konsantrasyonun sağlanması için gerekli antibiyotik dozlarının azaltılması amaçlanmaktadır. Görme keskinliği ışık hissi düzeyindeki ciddi endoftalmi

olgularında acil vitrektomi önerilirken, daha iyi seyreden olgularda diğer tedavi yöntemlerinin uygulanmasından sonra yeterli cevap alınamadığı takdirde vitrektomi önerilmektedir [1].

2-Geç Başlayan Postoperatif Endoftalmilerde Tedavi:

Geç başlangıçlı postoperatif endoftalminin en sık etkeni olan *P. acnes* endoftalmisinde kesinleşmiş bir tedavi protokolü yoktur. Literatürde önerilen tedavi yaklaşımları, intravitreal vankomisin enjeksiyonu yapılıp nüks eden olgularda total kapsülektomi ve kapsül içi antibiyotik irrigasyonu veya hastalığın seyri ve ciddiyetine göre tekrarlayan intravitreal vankomisin enjeksiyonlarını takiben vitrektomi ve kapsülektomi yapılmasını içermektedir [4]. *P. acnes* endoftalmilerinin tedavisinde göz içi lensin (GİL) çıkartılması ya da yerinde bırakılması konusu da kesinlik kazanmamıştır. Bazı araştırmacılar GİL'in çıkartılmasını savunurken bazıları lensi çıkartmadan da *P. acnes* endoftalminin tedavi edilebileceği görüşünü savunmaktadırlar [23]. Sadece intravitreal antibiyotiklerin uygulanması ile de başarılı sonuçlar bildirilmiştir fakat bu çalışmalarda rekürrens oranları yüksek bulunmuştur. Bir diğer geç başlayan postoperatif endoftalmi etkeni olan koagülaz negatif *Stafilokok*'larda intravitreal vankomisin tedavisinin etkin olduğu bilinmektedir. Geç postoperatif endoftalmilerde mantarlar nadir olarak karşılaşılan etkenlerdir. Fungal endoftalmiye en sık neden olan ajanlar *C. albicans, Aspergillus* ve *Fusarium*'dur. Fungal endoftalmilerin tedavisinde PPV ve intravitreal amfoterisin B kullanımı önerilmektedir. Sistemik amfoterisin B kullanımı toksisite ve düşük vitreus penetrasyonu nedeniyle tartışmalıdır.

3-Posttravmatik Endoftalmilerde Tedavi:

Profilaktik antibiyotik tedavisinin perforan yaralanmalardan sonra endoftalmi riskini azalttığı bilinmektedir. Bu hastalara 1. kuşak sefolasporinler ve aminoglikozitler ile 3-5 günlük intravenöz proflaksi önerilmektedir [58].

Penetran yaralanmalar oküler farmakokinetiği son derece değiştirmektedir. Göz içine zayıf penetrasyon gösteren antibiyotikler bile travma sonucu kan aköz ve kan retina bariyerinin yıkılması ile göz içinde terapötik seviyelere ulaşabilmektedirler. *B. cereus* posttravmatik endoftalmilerde en sık karşılaşılan etken olup ürettiği β-laktamaz enzimi ile penisilin ve sefalosporinlere karşı dirençlidir [34]. Tedavisinde intravitreal vankomisin-amikasin kombinasyonu önerilmektedir. Ciddi endoftalmi olgularında intravitreal antibiyotik uygulanması sonrasında 24-48 saat içinde klinik bulgularında gerileme olmaz yada klinik bulgular kötüleşir ise vitrektomi uygulanmalıdır. Ayrıca vitreus hemorojisi, retina dekolmanı, intraoküler yabancı cisim bulunan olgularda da vitrektomi uygulanması gerekmektedir.

4-Bleble İlişkili Endoftalmilerde Tedavi :

Blebite neden olan mikroorganizmalar erken bleb ile ilişkili endoftalmiler ile benzer spektruma sahiptir. Blebitte kültür sonuçları gelene kadar topikal vankomisin ve seftazidim ile tedaviye başlanabileceği bildirilmiştir. Oküler tutulumun olmadığında blebitli olgularda vitreus kültürleri, intravitreal antibiyotik kullanımı ve vitrektomiye gerek yoktur [21]. Bu vakalarda prognoz genellikle iyidir.

Erken başlangıçlı bleb ile ilişkili endoftalmi tipik olarak akut postoperatif endoftalmi gibi tedavi edilebilir ve bu olgularda prognoz erken postoperatif endoftalmilerdeki gibidir. Geç bleb ile ilişkili endoftalmiye sebep olan mikroorganizmalar diğer endoftalmi etkenlerinden daha virülan etkenler olduğundan bu olgularda daha agresif tedaviler önerilmekle birlikte başarılı enfeksiyon tedavisine rağmen prognoz genellikle kötüdür [21]. Bu grup hastalarda acil PPV ile birlikte intravitreal vankomisin-seftazidim uygulaması önerilmektedir. Topikal tedavide ise seftazidim ile birlikte vankomisin kullanılabilir. İntravitreal kortikosteroidlerin kullanımı ise tartışmalıdır.

5- Endojen Endoftalmilerde Tedavi:

Endojen endoftalminin tedavisi postoperatif endoftalmi tedavisinden farklılık göstermektedir. Bu olgularda sistemik antibiyotikler mutlaka kullanılmalıdır. Sistemik antibiyotik tedavisine yanıt vermeyen olgularda intravitreal antibiyotikler de tedaviye eklenebilir. Görme düzeylerinden bağımsız olarak vitreusta enflamasyonun yoğunluğuna göre PPV uygulanmaktadır. Bu olgularda eğer bilinmiyor ise enfeksiyon kaynağını araştırmak da çok önemlidir. Çünkü bu endoftalmiye neden olan enfeksiyon kaynağı yaşamı tehdit eden bir durumla ilişkili olabilmektedir.

e-Endoftalmi Vitrektomi Çalışması (EVS) ve Sonuçları :

EVS, National Eye Institute tarafından acil PPV ve sistemik antibiyotiklerin endoftalmi tedavisindeki yerini saptamak amacı ile dizayn edilmiş, randomize, 24 merkezli, klinik bir çalışma olup bu çalışmaya, sekonder GİL implantasyonu yada katarakt cerrahisi sonrası 6 hafta içinde bakteriyel endoftalmi semptom ve klinik bulguları gelişen 420 hasta dahil edilmiştir. EVS'de 4 grup bulunmaktadır:

1. Acil PPV ile birlikte intravitreal antibiyotik uygulaması: VIT-IV grubu.
2. Acil PPV (intravitreal antibiyotik olmadan): VIT-NOIV grubu.
3. Vitreus tap / biopsisi (TAP) ile birlikte intravitreal antibiyotik uygulaması: TAP-IV grubu.
4. Acil vitreus tap / biopsisi (TAP) (intravitreal antibiyotik olmadan): TAP-NOIV grubu.

Aynı zamanda bu hastalar subgruplar olarak, randomize şekilde sistemik antibiyotik uygulanan ya da uygulanmayan gruba da dahil edilmişlerdir. Sistemik antibiyotik subgruplarına dahil edilen hastalara intravenöz seftazidim 4 x 2 gr (penisilin allerjisi olan

hastalara ise oral siprofloksasin 2 x 750 mg/gün) ile birlikte intravenöz amikasin 7,5 mg/kg yükleme dozunu takiben 2 x 6 mg/kg şeklinde uygulanmış. Hastalara bu tedavi 5-10 gün süreyle uygulanmıştır.

Başlangıç muayenesinden sonra 6 saat içinde tedaviye başlanmış olup tüm hastalardan 0,1 ml ön kamara örneği alınmıştır. VIT grublarına dahil edilen hastalarda infüzyon sıvıları açılmadan 0,2-0,5 ml, TAP grublarına dahil edilen hastalardan ise okütom kullanılarak tek sklerotomi yoluyla yada pars plana vitreus iğne aspirasyonu ile 0,1–0,3 ml lik vitreus örneği ile alınmıştır. TAP-IV ve VIT-IV grubundaki hastalara intravitreal enjeksiyon ile 0,4 mg / 0,1 ml amikasin ve 1 mg /0, 1 ml vankomisin uygulanmıştır. Ayrıca çalışmadaki tüm hastalara:

- 25 mg vankomisin, 100 mg seftazidim ve 6 mg deksametazon subkonjonktival enjeksiyonu
- Vankomisin (5 mg/ml) ve amikasin (120 mg/ml) topikal damlaları çevre dokularda enfeksiyon yada kesi yerinden sızıntı izlenen olgularda saat başı bir damla olarak, diğer durumlarda ise her 4 saatte bir
- Günde iki kez 30 mg oral prednizolon 5 ila 10 gün süreyle uygulanmıştır.

Sonuçlar 3., 9. ve 12. aylardaki vitreus saydamlığı ve görme keskinlikleri ile değerlendirilmiştir.

Genel olarak bakıldığında VIT ve TAP grupları arasında görme keskinliği ve vitreus berraklıkları açısından bir fark saptanmamıştır. Fakat subgrup analizlerinde başlangıç görme keskinliği ışık hissi düzeyinde olan hastalarda VIT gruplarında TAP gruplarına göre:

1. 20/40 ve üzerinde görme keskinliğine ulaşma şansının 3 kat arttığı,
2. 20/100 ve üzerinde görme keskinliğine ulaşma şansının 2 kat arttığı,
3. Görme keskinliğinin 5/200 ve altına düşme riskinin 2 kattan fazla azaldığı gösterilmiştir.

EVS bulguları sadece başlangıç muayenesindeki görme keskinliği ışık hissi düzeyinde olan endoftalmi hastaları için PPV kullanımınını güçlü bir şekilde desteklemektedir. Başlangıç muayenesindeki görme keskinliği ışık hissinden daha iyi olan hastalarda rutin olarak acil vitrektomi uygulanması önerilmemektedir.

Sistemik antibiyotik uygulanan ve uygulanmayan gruplar arasında görme keskinliği ve vitreus berraklığı açısından istatiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Dolayısıyla EVS rutin endoftalmi tedavisinde sistemik antibiyotik kullanımını önermemektedir. Ancak bu bulgular sadece bu çalışmada kullanılan antibiyotikler için geçerlidir. Endoftalmi etkenlerinin büyük çoğunluğunu gram (+) mikroorganizmalar olmasına rağmen EVS'de kullanılan sistemik antibiyotiklerin ikisinin de gram (-) etki spektrumu olan antibiyotiklerdir olduğu göz önüne alınacak olursa EVS'ye dayanılarak endoftalmi tedavisinde sistemik antibiyotiklerin kullanımı hakkında bir karara varmanın doğru olamayacağı açıktır.

EVS'nin tüm sonuçlarının sadece katarakt cerrahisi ve sekonder GİL implantasyonu sonrasında oluşan endoftalmi tedavisinde ortaya konulduğunu da unutmamak gerekir.

2- FUNGAL ENDOFTALMİLER VE *CANDİDA ALBİCANS*

Fungal endoftalmiler, enfeksiyöz endoftalmilerin %12'sini oluşturmaktadır [70]. Endojen endoftalmilerin ise en başta gelen sebebidirler. Göz içi fungal enfeksiyonlar, travma sonrası veya postoperatif olarak mikroorganizmanın ekzojen inokülasyonu ile veya fungal enfeksiyonu olan hastalarda endojen bir kaynaktan yayılım ile oluşabilir. Fungal endoftalmiler bazen ekzojen olmakla birlikte genellikle endojen endoftalmilerdir. Günümüzde organ nakilleri, malignansiler ve AIDS'e bağlı olarak immün süpresyon prevalansınının artması, kompleks cerrahi prosedürler ve uzun süreli antibiyotik kullanımının yaygınlaşması sonucu göz içi fungal enfeksiyonların görülme sıklığı çok artmıştır [30; 31; 68]. Fungal

endoftalmilerin en sık görülen etkeni *Candida albicans* olup fungal endoftalmilerin %75-80'inden sorumludur [14; 24; 32; 48].

Candida'lar 4-6µm boyutunda küçük, oval, ince duvarlı maya mantarlarıdır. Tomurcuklanma yolu ile ürerler. İki yüzün üzerinde türü bulunan *Candida*'ların ortak özellikleri üremelerinde seksüel döngünün olmamasıdır. Bu türlerden başta *C. albicans* olmak üzere sadece 10 tanesi insanlar için patojendir. *C. albicans* germ tüp oluşturması ve psödohifleri ile diğer türlerden ayırt edilebilir.

C. albicans insanda cilt, ağız, gastroentestinal traktus ve vajina florasında kommensal olarak bulunan bir mantardır. Bu mantarın patojenite kazanması sonucu ortaya çıkan enfeksiyona "kandidiyazis" denilmektedir. *C. albicans* fırsatçı bir patojendir ve *Candida* enfeksiyonları genelde 3 ana grup hastada ortaya çıkmaktadır:

1. İmmün sistemi baskılanmış hastalar: AIDS, maligniteler, organ nakli, uzun süreli kortikosteroid kullanımı, sitotoksik ve immün supresif ajanların kullanımı veya kronik geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı.
2. Uzun süreli katater kullanımı: hemodiyaliz, abdominal cerrahi sonrası parenteral beslenme ve hiperalimentasyon gibi uzun süreli sabit kateter kullanımının gerektiği hastalar özellikle yüksek risk altındadırlar.
3. Uyuşturucu madde bağımlıları: steril olmayan iğne ve enjektörlerin kullanımı sonucu enfekte olmaktadırlar.

Hayvan modellerinde *C. albicans*'ın koryoretinal kan damarlarına tropizmi olduğu gösterilmiştir [104]. *Candida* enfeksiyonunun retina ve koroidi tercih etmesinin bu dokuların fosfolipidlerden zengin olmalarından da kaynaklandığı düşünülmektedir [108]. Bu nedenlerden dolayı oküler kandidiyazis genellikle koryoretinit olarak prezente olur.

Candida koryoretiniti, direkt vitreus tutulumu olmadan, fokal, derin yerleşimli, beyaz renkli, yuvarlak, infiltratif lezyonlar olarak tanımlanır. Başlangıçta göz içi enflamasyon bulguları hafif veya orta şiddettedir ve koroidde tek veya multiple sarı-beyaz odaklar halinde görülür. Hemen sonra kandida retinayı da işgal eder ve multifokal koryoretinite yol açar. Koryoretinitin diğer fundus bulguları arasında sinir lifi tabakası infarktı, intraretinal hemorajiler ve Roth spotları (beyaz merkeze sahip intraretinal hemorajiler) sayılabilir. Tedavi edilmediği takdirde koryoretinit lezyonlarının genişleyerek vitreusa doğru uzanması veya intravitreal *"pamuk yumakları"*na benzeyen yüzen koloniler görülen vitreus absesinin gelişmesi ise *Candida* endoftalmisi olarak tanımlanır. Vitreus opasiteleri "ipe dizilmiş inci taneleri" görünümü verecek şekilde birbirleriyle bağlantılı olabilirler [3]. *Candida* endoftalmisine papillit de eşlik edebilir. Daha ağır vakalarda ise traksiyonel retina dekolmanı ve ağır retinal nekroz görülebilmektedir. Ön segment bulguları arasında hafif konjonktival hiperemi, ön kamarada hücre, hipopiyon ve posterior sineşiler sayılabilir [28; 32]. Kornea tutulumu nadirdir fakat supüratif keratit ve perforasyonla sonuçlanabilir. Literatürde özellikle çocuklarda *Candida* endoftalmisinin konjenital katarakt ve retinoblastomu taklit ettiği vakalar bildirilmiştir [25; 91].

Histopatolojik incelemelerde *Candida* lezyonları akut nekrotizan inflamasyon ile karakterlidir. Karakteristik psödohifleri ile *Candida* kolonileri koroid, retina pigment epiteli ve Bruch membranında görülebilir.

Ekzojen *Candida* endoftalmisi için en önemli risk faktörleri travma, İOL implantasyonu ile birlikte yapılan katarakt cerrahisi ve penetran keratoplastidir. Post-travmatik fungal endoftalmiler genellikle tahta veya bitki gibi organik yabancı cisimlerle yaralanma sonrası görülür ve etkenleri çoğunlukla *Aspergillus* veya *Fusarium* gibi septalı filamentöz mantarlardır. *Candida*, post-travmatik fungal endoftalmilerde nadir karşılaşılan bir

patojendir [76]. Post-travmatik fungal endoftalmilerin prognozu, geç tanı almaları ve zamanında uygun tedavinin başlanamaması nedeniyle çok kötüdür [76]. Katarakt cerrahisi sonrası *Candida* endoftalmisi genellikle kontamine GİL veya infüzyon sıvıları nedeniyle gelişir ve etken daha çok *C. parapsilozis*'tir [67; 81]. Penetran keratoplasti sonrası ise *C. albicans* endoftalmisi literatürde sık bildirilmiştir. Bu vakaların çoğunda kornea saklama solüsyonlarının veya donör korneanın kontamine olduğu gösterilmiştir [19; 56].

Endojen *Candida* endoftlamisi ise endojen bir odaktan hematojen yayılım yoluyla gelişir. Endojen *Candida* endoftalmisi olan hastalar asemptomatik olabildikleri gibi hafif oküler rahatsızlık hissi, kızarıklık, floaters ve yavaş ilerleyen görme azalması da tarifleyebilirler [15; 25; 28; 103]. *Candida* endoftalmisi bulunması, travma ve cerrahi öyküsü yokluğunda mutlaka yaygın sistemik kandidiyazisi düşündürmelidir [104]. 1992 yılında NNISS (National Nasocomial Infections Surveillance System) araştırmaları, Amerika'da, *Candida*'nın kan kültürlerinde en sık üreyen organizmalar arasında 4. sırada olduğunu göstermiştir [51]. Hastanede yatan hastalarda *Candida* endoftalmisi olması, bu hastaların sistemik kandidiyazisleri de olduğuna dair çok güçlü bir delildir. Zira *Candida* endoftalmisi olan hastaların otopsilerinde %78 oranında sistemik kandidiyazis olduğu gösterilmiştir [84]. Buna rağmen *Candida* endoftalmisi tanısı alan hastaların sadece yarısında başvuru sırasında kandidiyazis tanısı bilinmektedir. Kandidiyazis sırasında oküler tutulum insidansı da %28 ile %37 gibi yüksek oranlarda bildirilmektedir [104]. Chen, kan, gayta, idrar veya BOS kültürlerinde *C.albicans* üreyen yenidoğanlarda *Candida* endoftalmisini %46 oranında bildirmiştir [69]. *Candida* endoftalmisi olan hastaların mortalite oranları, sistemik kandidiyazisin eşlik etmesi sonucu çok yüksektir. Yaygın iç organ tutulumuna rağmen pek çok hastada kan kültürleri negatif olabileceğinden oftalmik muayene sistemik kandidiyazis

tanısında çok önemli bir yere sahiptir. Oftalmik muayene ile takip sistemik hastalığın tedaviye cevabını değerlendirmek açısından da değer taşır.

Fungal endoftalmiler ve *C. albicans* endoftalmisinde Tanı:

Candida endoftalmisinin tanısında vitreus örneği, aköz örneğinden çok daha değerlidir. Özellikle PPV ile yapılan örnekleme en güvenilir yoldur.

Alınan örnekler özellikli fungal boyaların yanı sıra mutlaka rutin olarak hematoksilen-eosin boyaması ile de değerlendirilmelidirler. Fungal hifleri ve maya hücrelerini gösterebilmek için kullanılan boyalar arasında giemsa, laktofenol pamuk mavisi, gomori metamin silver (GMS), periyodik asit schiff (PAS) sayılabilir [101]. Son yıllarda non-spesifik florokromatik boyalar, özellikle kalkoflor beyazı boyası da popülerlik kazanmışlardır [44]. Bu boyalarla hazırlanmış örneklerin değerlendirilebilmesi için floresan mikroskop ve uygun filtrelerin bulunması gerekmektedir.

Kültür, fungal endoftalmilerin tanısında hala en güvenilir yöntemdir. SDA, koyun kanlı agar, tiyoglikolatlı buyyon, beyin kalp infüzyon buyyon ve agar kullanılan besiyerleridir. Besiyerlerine bakterilerin üremesini engellemek için antibiyotikler eklenir. Birden çok besiyerine ekim yapmak kontaminasyon olasılığını karşılaştırmak için daha doğru olacaktır.

PCR, DNA'nın özellikli bir dizisinin enzimatik ve ısıya dayalı bir döngü ile çoğaltılması prensibine dayanır. Kültür edilmesi zor olan organizmaların hızlı bir şekilde saptanmasını sağlar. İntraoküler sıvılar (aköz, vitreus), gözyaşı ve taze göz dokusundan PCR çalışılabilir. Kültüre göre çok daha hızlı sonuç vermesi en önemli avantajı iken yanlış pozitif sonuç verebilmesi en büyük dezavantajıdır [36; 37]. PCR sadece DNA dizini bilinen ve primeri bulunan mantarları tespit edebilir.

Fungal endoftalmiler ve *C. albicans* endoftamisinde Tedavi:

Fungal endoftalmide tedavinin amacı görmeyi korumaktır ve bu da ancak hızlı tanı ve yeterli ve uygun antifungal tedavi ile mümkündür. *Candida* endoftalmisinin tedavisine yönelik yapılmış kontrollü, çok merkezli, geniş herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Temel olarak tedavi, PPV ile birlikte veya PPV olmaksızın sistemik ve intravitreal amfoterisin B'nin kombine olarak kullanımından oluşmaktadır [35; 46; 109]. Sistemik olarak kullanılan antifungallerin etkili olabilmeleri için kan retina bariyerini göz içinde etkin konsantrasyonlara ulaşabilecek kadar geçmeleri gerekmektedir. Antifungal ilaçların intravitreal olarak tek başına veya vitrektomi ile birlikte uygulanmaları kan retina bariyeri engelini aşmalarına ve dolayısı ile vitrede gereken konsantrasyonlara ulaşmalarına olanak sağlar. *Candida* endoftalmisinde PPV'nin amaçları tanı amaçlı örnek almak, intravitreal fungal yükü ve inflamatuar birikimleri uzaklaştırmak ve antifungal ilaçları efektif dozlarda göz içine verebilmektir. Fakat günümüzde PPV'nin en doğru zamanlamasının ne olduğu hala bilinmemektedir. Amfoterisin B'nin sistemik kullanımından sonra oküler geçişi yok denecek kadar azdır. Dolayısıyla intravenöz amfoterisin B tedavisi, sadece *Candida* endoftalmisine sistemik kandidiyazisin eşlik ettiği düşünülüyor ise kullanılmalıdır. Mümkünse predispozan faktörlerin (uzun süreli kateterler v.b.) ortadan kaldırılması da tedavinin başarısında çok önemlidir.

Konvansiyonel antifungal ilaçlara karşı direnç gelişimi ve bu ilaçların ciddi toksisiteleri fungal endoftalmi tedavisini komplike etmektedir. Amfoterisin B en etkili antifungal ajan olmasına rağmen ciddi sistemik ve oküler toksisitesi mevcuttur. Sistemik kullanımında doz sınırlayıcı ve en önemli yan etkisi nefrotoksisitedir. İntravitreal kullanımında ise güvenli doz aralığı çok dardır [40; 77]. Ayrıca, pek çok çalışmada amfoterisin B ile iyi sonuçlar alınsa da tedavinin başarısız olduğu vakalar, nüksler ve ciddi yan etkiler sayısızdır. Günümüzde flukonazol de sistemik ve oküler kandidiyazis tedavisinde

ümit vaadetmekle birlikte amfoterisin B kadar etkili değildir [59; 64]. Flukonazol'ün sistemik kullanım sonrası oküler penetrasyonu çok yüksektir ve yan etkileri amfoterisin B'ye göre çok daha azdır. Fakat etkinliği amfoterisin B kadar yüksek değildir ve flukonazol'e dirençli *Candida* suşlarına sık rastlanmaktadır. Flucytosine de oral kullanım sonrası mükemmel oküler penetrasyona sahiptir. Fakat ilaca karşı yüksek direnç gelişimi nedeniyle tek başına kullanılamaz. Sadece kombinasyon tedavilerinde ek ilaç olarak kullanılabilmektedir. Brod ve ark. sistemik kandidiyazisin eşlik etmediği *Candida* endoftalmisinin tedavisinde oral flukonazol veya flucytosine ile intravitreal amfoterisin B kombinasyon tedavisini tavsiye etmektedirler [14]. *Candida* endoftalmisinin tedavisinde kortikosteroidlerin kullanımı özellikle sistemik hastalığın eşlik ettiği durumlarda çok tartışmalıdır.

Candida endoftalmisinde prognozu etkileyen en önemli 4 faktör organizmanın virülansı, enflamasyonun süresi, zamanında doğru tanı ve doğru tedavidir. Tutulumun yaygınlığı ve lokalizasyonu da fonksiyonel sonuçları etkileyen diğer önemli faktörlerdir.

3- ANTİFUNGAL İLAÇLAR

Antifungal ilaçların klinik etkinliği büyük ölçüde hedef dokuda ulaştıkları konsantrasyona bağlıdır. Antifungal ilaçlar 3 ana grup altında toplanabilir:

1. Poliyenler: Fungal hücre zarına spesifik bir sterol olan ergosterole direkt olarak bağlanarak hücre zarını parçalarlar [74]. Fungal hücre zarına verdikleri hasar miktarı doz bağımlıdır. Fakat belli bir dozdan sonra insan hücre zarlarına da toksik hale gelirler. Natamisin ve amfoterisin B bu gruptaki oküler kullanımı olan antifungallerdir.

2. Azoller (imidazoller ve triazoller): Lanosterolü ergosterole çeviren 14-α-demetilaz fungal enzimine bağlanarak ergosterol sentezini engellerler. Azalmış ergosterol düzeyi ve ergosterolün yerine uygun olmayan steroller kullanılması fungal hücrelerin

gelişimini engeller. Bu grupta oküler kullanımı olan antifungaller flukonazol, mikanazol, ketokanazol ve itrakanazoldur. Flukonazol dışındakiler gözde fungistatik etki gösterirler [74]. Flukonazol, triazol türevi, suda çözünür ve kan retina bariyerini geçebilen bir ajandır fakat etki spektrumu sınırlıdır [65].

3. Flucytosine (5-fluorocytosine)

Sfingolipidler, protein translasyon mekanizmaları ve DNA topoizomeraz enzimleri yeni antifungal ilaç araştırmalarının hedeflerini oluşturmaktadırlar [61].

a-Amfoterisin B:

Amfoterisin B makrosiklik poliyen türevi, fungosidal bir antifungal ajandır. Amfoterisin B streptomyces nodosus tarafından üretilen organik bir maddedir. Moleküler formülü $C_4H_{73}NO_{17}$'dir. İsmini asidik ve bazik ortamlarda metanolle çözünebilen tuzlar oluşturmasından yani amfoterik özelliğinden alır. Amfoterisin B, 1950'lerin sonunda keşfedilmiş ve 1960'da insanlarda antifungal kullanım için onay almıştır. Amfoterisin B'nin keşfi antifungal tedavide çok önemli bir dönüm noktası olmuştur.

Amfoterisin B'nin direkt antifungal etkisi 3 mekanizma yoluyla olur. Bunlardan en önemlisi amfoterisin B'nin fungal hücre zarındaki ergosterole bağlanarak hücre zarında porlar oluşturmasıdır. Bu porlardan potasyum ve hücre içeriğinin dışarı sızması ile hücre ölümü gerçekleşir [20]. Diğer 2 mekanizma ise fungal hücre zarında oksidatif hasar oluşturması ve metabolik aktiviteyi inhibe etmesidir [20].

Etki spektrumu *Candida* türleri, Aspergillus türleri, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis, Histoplasma capsulatum, Coccidioides immitis, Paracoccidioides brasilensis, Sporothrix schenckii* ve *Mucor* etkenlerini kapsar. Ayrıca *Leishmania brasilensis* ve *Naegleria fowleri* gibi protozoalara karşı da etkilidir [20].

Oral yolla alındığında emilimi yoktur. İntravenöz yolla verildiğinde maksimum serum konsantrasyonuna ilk bir saat içinde ulaşır. İntravenöz kullanım için %5 dekstroz içinde 0,1mg/ml amfoterisin B olacak şekilde hazırlanır. Yirmi dört saat içinde kullanılmayan hazırlanmış solüsyonlar atılmalıdır. Amfoterisin B ısı ve ışıktan korunarak toz halinde buzdolabında saklanmalıdır [66]. Önerilen tedavi dozu intravenöz kullanım için 1mg/kg/gün'dür [66]. Yarılanma ömrü 24–48 saattir. Dokudan yavaş salındığı için vücuttan tamamen atılması 15 gün kadar sürer. Vücutta yağ dokusuna dağılım göstermediği için obez hastalarda doz hesaplaması hastanın ideal kilosuna göre yapılmalıdır. Yağda çözünür bir ilaç olduğu için kan retina bariyerini geçememektedir [40]. Amfoterisin B'nin metaboliti yoktur. Hepatik ve renal yetmezliği olan hastalarda, periton diyalizi ve hemodiyaliz hastalarında serum düzeyleri etkilenmez ve dolayısıyla doz ayarlaması gerektirmez.

İlacın taşıyıcısı olarak kullanılan deoksikolat maddesi renal tübüler nekroza neden olmaktadır [54]. Ayrıca amfoterisin B'nin fungal ergosterollere spesifik olsa da memeli hücrelerinin kolesterollerine de bir ölçüde bağlanması da yan etkilerinin ortaya çıkmasında önemli rol oynamaktadır [20]. Nefrotoksisite ve intravenöz infüzyona bağlı yan etkiler en önemli ve en sık karşılaşılan yan etkileridir. Nefrotoksisitesi (renal tübüler nekroz) en önemli doz sınırlayıcı yan etkisidir ve intravenöz kullanım sonrası %30-50'lerden %80'e kadar değişen oranlarda bildirilmektedir [54; 61]. Bu nedenle mutlaka sık aralıklarla böbrek fonksiyon testleri yapılmalı ve hasta bir nefroloji uzmanı ile ortak değerlendirilmelidir. Diğer yan etkileri arasında en sık görülenler başağrısı, ateş, anoreksi iken daha nadir görilenler ise bulantı, kusma, ishal, anemi, karın ağrısı ve enjeksiyon bölgesinde lokal tromboflebittir [66]. Sistemik ve renal toksisitesini azaltmaya yönelik olarak amfoterisinin lipid formülasyonları geliştirilmiştir [106]. Nefrotoksisite lipid formülasyonları ile %15-25'lere kadar düşmüştür fakat intravenöz infüzyona bağlı yan etkilerinde bir azalma olmamıştır [61]. Lipid

formülasyonları ile tolere edilmesi artmış olmasına rağmen intravenöz infüzyona bağlı reaksiyonlar ve renal toksisitesi halen kullanımını sınırlayan en önemli faktörlerdir. Amfoterisin B'nin intravenöz infüzyonu öncesinde antihistaminikler ve kortikosteroidler ile premedikasyon önerilmektedir. Amfoterisin B'nin lipid formülasyonlarının en büyük dezavantajı çok pahallı olmalarıdır. Aşağıda amfoterisin B'nin mevcut formülasyonları sıralanmıştır. Amfoterisin B deoksikolat dışındakiler lipid formülasyonlarıdır.

1. Amfoterisin B deoksikolat (AmB, Fungizone®): Food and Drug Administration (FDA) onayı vardır.
2. Amfoterisin B lipid kompleksi (ABLC, Abelcet®): FDA onayı vardır.
3. Amfoterisin B kolloidal dispersiyonu (ABCD, Amphotec®): FDA onayı vardır.
4. Lipozomal Amfoterisin B (LAmB, AmBisome®): FDA onayı vardır.
5. Amfoterisin B lipid emülsiyonu (ABLE): FDA onayı yoktur.

Amfoterisin B'nin intravenöz infüzyondan sonra göze geçişi hakkında literatürde pek çok yayın bulunmaktadır. Bir çalışmada intravenöz infüzyon sonrası serum düzeyi 0,6µg/ml iken insan gözünde aközdeki konsantrasyonu 0,24 µg/ml ve vitreusta ise 0,23 µg/ml olarak bulunmuştur [38]. Bu çalışmanın aksine diğer tüm çalışmalarda ise amfoterisin B'nin 1mg/kg/gün dozda intravenöz infüzyon sonrası vitreustaki konsantrasyonunun $\leq$ 0,1 µg/ml veya tespit edilemez düzeyde olduğu bildirilmektedir [38; 45; 63]. Amfoterisin B'nin vitreusa geçişinin kan-retina bariyeri tarafından engellendiği düşünülmektedir [77].

Fungal endoftalmilerin tedavisinde yeterli ilaç konsantrasyonunu sağlamak için intravitreal olarak kullanımı önerilmektedir. İntravitreal dozu 1-10 µg/0,1ml'dir. Enjeksiyon vitreusun tam merkezine, retinadan uzak durularak ve yavaş şekilde yapılmalıdır. Fungal

endoftalmilerin tedavisinde intrakamaral olarak da 7,7-10µgr/0,1ml dozunda kullanılabilinir [66].

Topikal kullanım için hazır bir preparatı bulunmamaktadır. %0,15-0,30'luk solüsyonları steril distile su ile hazırlanabilir. Tuz içeren sıvılar ile çökeldiği için hazırlanırken serum fizyolojik kullanılmamalıdır. Topikal solüsyonu fungal keratitlerde saat başı veya yarım saatte bir kullanılabilir [66].

Amfoterisin B günümüzde mevcut olan en geniş spektrumlu ve en etkili antifungal ilaç olmasına rağmen hem etkinliğini arttırmak hem de toksisitesini azaltabilmek amacı ile pek çok başka ilaçla (azoller, terbinafine, flucytosine, v.b.) kombine edilme yoluna gidilmiştir.

3- FLUOROKİNOLON ANTİBİYOTİKLER

Fluorokinolonlar gram pozitif ve gram negatif mikroorganizmalara karşı etkili, geniş spektrumlu antibiyotiklerdir ve oftalmolojide yaygın olarak kullanılmaktadırlar. DNA giraz (topoizomeraz 2) veya topoizomeraz 4 enzim inhibisyonu ile etki göstermektedirler. Ne yazık ki 1990'larda ikinci ve üçüncü kuşak fluorokinolonlara karşı ciddi ölçüde direnç gelişimi olmuştur. Örneğin bakteriyel keratitlerde kinolonlara dirençli suşların oranı 4 yıl içerisinde %5'ten %35'e kadar yikselmiştir [42; 43]. Yine, endoftalmili hastalardan izole edilen *S. aureus* suşlarının ciprofloksasin, ofloksasin ve levofloksasine in-vitro duyarlılığı 1993 yılında %100 iken 2001 yılında %0 olarak bulunmuştur [57]. Direnç gelişiminin ciddi boyutlara ulaşması nedeniyle dördüncü kuşak fluorokinolon antibiyotikler geliştirilmiştir. Moksifloksasin de 4. kuşak yeni bir fluorokinolon antibiyotiktir.

Değişik kinolon antibiyotiklerin, değişik antibakteriyel aktiviteleri ve tolerabiliteleri içerdikleri ortak kinolon halkasının yan zincirlerindeki değişiklikler sonucudur [2].

a-Moksifloksasin:

Moksifloksasin (Avelox®), C-8 pozisyonunda bir metoksi grubu ve C-7 pozisyonunda büyük ve ağır bir yan zincir içeren bir kinolon antibiyotiktir [5]. Dördüncü jenerasyon bir kinolon antibiyotik olan moksifloksasin başlangıçta gram (+) solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisi için geliştirilmiştir [73]. İkinci ve üçüncü kuşak kinolonlar DNA replikasyonunda rol alan DNA giraz (topoizomeraz 2) veya topoizomeraz 4 enzimlerinden birine bağlanarak etki gösterirler. İkinci ve üçüncü kuşak kinolonların aksine moksifloksasin her iki enzime birden ve çok güçlü şekilde bağlanır [78]. Bu sayede diğer kinolonlara dirençli olan gram (+) bakterilere karşı etkili olurken gram(-) spektrumunu da korur [12]. Moksifloksasin MİK ve $MİK_{90}$ değerleri tüm kinolonlardan daha düşüktür ve *S. aureus, S. pneumoniae* gibi gram (+) bakterilere karşı antibakteriyel etkisi en yüksek olan kinolondur [48].

Moksifloksasin genellikle çok iyi tolere edilebilen bir ilaçtır. En sık bildirilen yan etkileri gastrointestinal ve santral sinir sistemi intoleransına bağlı olarak ortaya çıkan bulantı, ishal, abdominal ağrı ve sersemlik halidir. Karaciğer fonksiyon testlerinde transaminazlarda bir miktar yüksekliğe neden olabilir. Transaminaz yüksekliği ilacın kesilmesi sonrasında normale döner. Kardiyak sistem üzerinde QT aralığını uzatıcı etkisi mevcuttur fakat buna bağlı olarak gelişen hiçbir aritmi veya blok vakası bildirilmemiştir. Moksifloksasinin kan glukoz düzeyleri üzerine etkisi yoktur [41]. İnsanlarda moksifloksasinin kullanımına bağlı olarak herhangi bir eklem problemi bildirilmemiştir. Fakat kondropati yapabilme ihtimali nedeniyle diğer tüm florokinolonlar gibi çocuklarda kullanımı önerilmemektedir [53].

Moksifloksasinin emilimi açlık veya tokluk durumundan (süt ürünleri de dahil) etkilenmez [60; 95]. Oral 400 mg tek doz alım sonrası biyoyararlılığı %90'nın üzerindedir [94]. Plazma proteinlerine %50 oranında bağlanır [93]. Vücuttaki dağılımı hem dokularda hem de vücut sekresyon ve sıvılarında çok iyidir. Tükrük, nazal ve bronşiyal sekresyonlar,

bronş mukozası, alveolar makrofajlar, akciğer dokusu, sinüs mukozası, iskelet kasları, cilt, ciltaltı dokusu ve cilt bülleri içindeki sıvıda $M\dot{I}K_{90}$ değerinin üzerindeki konsantrasyonlarda mevcut olduğu gösterilmiştir [13; 16; 53; 71; 93].

Tüm endikasyonlarında önerilen dozu 400mg/gün'dür. Oral, intravenöz ve topikal damla formları mevcuttur. İntravenöz kullanımı bir saatte yavaş infüzyon şeklindedir [8]. Moksifloksasinin metabolizması sülfatlanarak ve glukoronidasyon yolu ile M1 ve M2 olarak adlandırılan iki adet inaktif metabolite dönüştürülerek olur [69]. Metabolizmasında pek çok ilacın kullandığı sitokrom p-450 sistemi kullanılmaz ve diğer sitokrom sistemlerini de inhibe etmez [53]. Metabolitleri idrar ve gayta yolu ile atılır [94]. Yarılanma ömrü 12 ile 15 saat arasındadır [16; 53; 96]. Böbrek yetmezliği, hemodiyaliz, periton diyalizi, hafif–orta şiddette karaciğer yetmezliği durumlarında bile doz ayarlaması yapılması gerekmemektedir [53]. Ağır karaciğer yetmezliği olan hastalar üzerinde yapılmış çalışma mevcut değildir. QT aralığında uzamaya neden olduğu için sınıf 1A ve sınıf 3 antiaritmik ilaçlarla birlikte kullanılmamalıdır [53]. QT aralığında uzama olduğu bilinen hastalarda ve hipokalemisi olan hastalarda kullanılmamalıdır [53].

Moksifloksasinin oftalmik damla formu (Vigamox®) bakteriyel konjonktivit tedavisi için FDA onayı almıştır. Bu endikasyon dışında bakteriyel keratit ve preoperatif endoftalmi proflaksisinde de kullanılmaktadır.

Moksifloksasinin bakterisidal etkisi, DNA sentezi, transkripsiyonu, onarımı ve rekombinasyonu için şart olan DNA giraz (topoizomeraz 2) ve topoizomeraz 4 enzimlerinin inhibisyonu yoluyla olur [78]. Bakterilerin kinolon antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi DNA giraz ve topoizomeraz enzimlerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu olur [107; 111]. Moksifloksasine karşı direnç gelişebilmesi için her iki enzimi de içeren çift basamaklı bir mutasyon zinciri olması gereklidir ki bu çok nadir görülebilen bir durumdur [50].

Moksifloksasin DNA giraz (topoizomeraz 2) ve topoizomeraz 4 enzimlerine çok güçlü olarak bağlanarak ilaca karşı direnç gelişme ihtimalini azaltmaktadır [39; 99]. Kinolon antibiyotiklere karşı diğer bir direnç geliştirme mekanizması ise ilacın bakteri içinden reflü ile geri atılmasıdır. Moksifloksasinin C-7 pozisyonundaki büyük ve ağır zinciri ilacın reflü ile geri atılmasını büyük ölçüde engeller [78]. Bütün bu sebeplerden dolayı kinolon antibiyotikler içinde en az direnç gelişimi ile karşılaşılan ilaç moksifloksasindir ve diğer kinolonlara karşı dirençli olan mikroorganizmaların çoğu moksifloksasine karşı duyarlıdır.

Moksifloksasin geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve etki spektrumu penisiline dirençli S. pnömonia da dahil olmak üzere gram(+), gram(-) bakteriler, anaerobik bakteriler ve atipik mikroorganizmaları kapsar. Etki spektrumu Gram(+) bakterilerden: *Streptococcus pnömonia, S.pyogenes, S. aureus, S. viridans, S. bovis, S. agalactiae, S. epidermidis, Corynebacterium, Listeria monocytogenes, Bacillus anthracis*; Gram(-) bakterilerden: *Haemophilus influenza*, *Klebsiella pneumonia, Moraxella catharalis, Escherichia coli, Proteus* türleri, *Serratia* türleri*;* anaerobik bakterilerden: *Bacteroides, Clostridium, Prevotella, Fusobacterium türleri*; atipik mikroorganizmalardan: *Chlamydia pneumonia, Mycobacterium tuberculosis, Mycoplasma pneumonia* ve intraselüler bir mikroorganizma olan *Legionella*'yı kapsar [53]. Diğer kinolonlar gibi moksifloksasinin de *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkinliği düşüktür [83].

Özet olarak moksifloksasin, penisilinlere dirençli *S. pneumonia*'yı da içine alan geniş spektrumlu, bakterisidal etkili, çok iyi doku ve sıvı penetrasyonu olan bir dördüncü kuşak kinolon antibiyotiktir. Oral, intravenöz ve oftalmik damla formları mevcuttur. Günde tek doz ile kullanım kolaylığı sağlar. Kronik bronşitin akut alevlenmeleri, toplum kaynaklı pnömoniler, akut bakteriyel sinüzit, cilt, ciltaltı enfeksiyonlarında ve bakteriyel konjonktivit tedavisinde kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır.

Literatürde moksifloksasinin immün modülatuar etki gösterdiğini ve bu yolla fungal enfeksiyonlarda koruyucu etkisi olduğunu gösteren pek çok in-vivo hayvan çalışması mevcuttur [55; 86-88]. Literatürde diğer kinolonların antifungal ilaçlarla sinerjistik etki gösterdiğine dair pek çok çalışma olmasına rağmen moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlarla olan ilişkisi üzerine yapılmış sadece tek bir in-vitro çalışma mevcuttur. Özdek ve ark. tarafından yapılmış olan bu in-vitro çalışmada, moksifloksasin ve gatifloksasinin, fungal göz enfeksiyonlarından izole edilen *Candida* suşlarına karşı tüp dilüsyon testinde in-vitro antifungal etkinlik gösterdikleri saptanmıştır [75]. Fakat literatürde moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlarla olan ilişkisi üzerine yapılmış herhangi bir in-vivo çalışma mevcut değildir.

Bu çalışmada tavşan gözlerinde oluşturulan deneysel *C. albicans* endoftalmi modelinde moksifloksasinin tek başına antifungal etkinliğinin olup olmadığı ve amfoterisin B ile kombine edildiğinde sinerjistik etki gösterip göstermediğinin in vitro ve in vivo olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Rektörlüğü Etik Kurul Başkanlığı tarafından gereç ve yöntem incelenerek, çalışmanın Gazi Üniversitesi Etik Kurul Yönergesi'ndeki ilkelere uygun olduğunun kararlaştırılmasından sonra çalışmaya başlandı. Çalışmada ağırlıkları 2.0 – 2.5 kg arasında değişen Yeni Zelanda beyaz tavşanları kullanıldı.

Organizmanın Hazırlanması: *C. albicans* referans suşu (DSM 1386) liyofilize stoktan steril serum fizyolojik ile sulandırıldı. İnokulum hazırlamak için bu karışımdan Sabouraud dekstroz agar (SDA) plaklarına pasaj yapıldı. Plaklar 37ºC'de 48 saat bekletildi. Plak üzerindeki kolonilerden 1ml serum fizyolojik içinde 10^6 CFU/ml maya hücresi içerecek şekilde süspansiyon hazırlandı. Son konsantrasyonun kontrolü SDA plaklarında yapıldı.

C. albicans Deneysel Endoftalmi Hayvan Modelinin Oluşturulması ve Proflaktik Tedavinin Uygulanması: Çalışmada 40 tavşanın 40 gözü kullanıldı. Tüm tavşanların gözleri çalışma öncesinde oküler bir enfeksiyon veya retinal patoloji varlığı açısından muayene edildi ve patoloji saptananlar çalışmaya alınmadı. Anesteziden 30 dakika önce sikloplejin ve fenilefrin ile pupiller dilatasyon sağlandı. Tavşanlara 50 mg/kg IM ketamin hidroklorür ve 0.5 mg/kg ksilazin hidroklorür kullanılarak anestezi uygulandı. Anestezi uygulamasını takiben, tavşanların sağ gözlerine, hazırlanan 10^6 CFU/ml maya süspansiyonlarından 0.1ml (10^5 CFU *C. albicans*) pars planadan PPD enjektörü ile intravitreal olarak enjekte edildi. Takiben hemen bir başka steril PPD enjektörü ile parasentez yapılarak göz içi basıncı normalize edildi. Tavşanlar dört gruba ayrıldı ve gruplara göre belirlenen ilaç tek doz olarak vitreus içine enjekte edildi. Kontrol grubu olan Grup 1'deki tavşanlara 0,1ml dengeli tuz solüsyonu enjekte edildi. Grup 2'deki gözlere 100µgr/0,1ml moksifloksasin, Grup 3'deki gözlere 10µgr/0,1 ml amfoterisin B, Grup 4'deki gözlere 100µgr/0,05ml moksifloksasin ile birlikte 10µgr/0,05ml amfoterisin B enjekte edildi. Deney hayvanlarının diğer gözlerine (sol) ise herhangi bir

girişimde bulunulmadı. Postoperatif dönemde tüm gözlere gentamisin damla 4x1 ve tobramisin pomad 2x1 dozda 4 gün süreyle uygulandı.

Klinik Derecelendirme ve Vitreus Örneği Alınması: İlaç uygulamalarının 7. (1.hafta) ve 14. (2.hafta) gününde anesteziden 30 dakika önce siklomid ve fenilefrin ile pupiller dilatasyon sağlandı. Tavşanlara 50mg/kg İM ketamin hidroklorür ve 0.5mg/kg ksilazin hidroklorür kullanılarak anestezi uygulandı. Anestezi uygulamasını takiben, tavşan gözlerine ışıkla ön segment ve indirekt oftalmoskop ile retina muayenesi yapıldı. Daha önce Player ve ark ve Ermiş ve ark. tarafından endoftalminin derecelendirmesinde kullanılan yöntem ile klinik bugular skorlandı [33; 80] (tablo I). Bu yönteme göre konjonktiva, kornea, iris ve vitreus değerlendirilerek muayene bulguları normalden ağır enflamasyona doğru 0 ile 3 arasında bir değerle skorlandı. Sonrasında pars planadan 22 gauge iğne ile 0,2 ml vitreus örneği alınarak *C.albicans* üremesi açısından ekimler yapıldı.

Tablo I. Endoftalminin klinik derecelendirme ile skorlanması.

Klinik Derecelendirme				
Skor	**Konjonktiva**	**Kornea**	**İris**	**Vitreus**
0	Normal	Şeffaf	Normal	Şeffaf
1	Hafif ödem	Fokal ödem	Hafif hiperemi	Vitreus bulanık
2	Ödem ve hiperemi	Diffüz ödem	Şiddetli hiperemi	Fundus detayı (-)
3	Yoğun reaksiyon	Opak	Sineşi ve irregülerite	Fundus reflesi (-)

Ötenazi: İlaç uygulamalarının 14. gününde benzer şekilde muayene ve vitreus örnekleri alındıktan sonra tavşanların kulak veninden yüksek dozda (20 mg/kg) ksilazin hidroklorür enjeksiyonunu ile ötanazi uygulandı. Takiben gözler enükle edildi ve %10 formaldehit solüsyonunda 48 saat boyunca tespit edildi.

Vitreus Örneklerinin İşlenmesi: Alınan vitreus örneklerinden yaklaşık 0.1ml'si SDA, koyun kanlı agar ve Eosin Metilen Blue (EMB) agar plaklarına ekildi. Plaklar 48 saat 37ºC'de bekletildikten sonra oluşan koloni sayıları kaydedildi. Üreyen mantar kolonileri germ tüp oluşturma yetenekleri, karbonhidrat asimilasyon özelliklerine dayalı ID32C maya tanımlama kitleri (bioMerieux, Fransa) kullanılarak isimlendirildi. Bakteri üreyen örnekler değerlendirilmedi.

Patolojik İnceleme: Her bir spesimenden retina tabakasını içeren 2 adet kesit alındı. Rutin takip işlemini takiben tüm spesimenler parafin bloklara gömüldü. Alınan kesitlerden hazırlanan Hematoksilen-Eosin (HE) boyalı preparatlarda vitreus enflamasyonu, ganglion hücre kaybı, iç nükleer tabaka (İNT) kaybı varlığı ve şiddeti (hafif, orta, ağır) ile dış nükleer tabakada (DNT) kayıp, retina dekolmanı (RD) ve retinal nekroz olup olmadığı değerlendirildi. Tüm gruplarda HE boyamasına ek olarak, mantarlar için özel bir boya olan Light Green PAS (LGP) boyası ile kesitler boyanarak fungal eleman varlığına bakıldı.

Amfoterisin B İn-Vitro Duyarlılık Testi: Antifungal duyarlılık testi yeni adı ile Clinical Laboratory Standards Institution (CLSI) olan National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS), önerilerine uygun olarak M27-A2 mikrodilüsyon yöntemi ile yapıldı. Amfoterisin B (Sigma®) etken maddesi kullanıldı. MİK sonuçları 37ºC'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında elde edildi. Plaklar değerlendirilmeden önce hafifçe çalkalandı. Üreme kontrolü kuyucuğuna göre yapılan karşılaştırmada amfoterisin B için üremenin tamamen inhibe olduğu ilk kuyucuk MİK olarak kayıt edildi. Testin kalite kontrolü için *C. parapsilosis* ATCC 22019 ve *C. krusei* ATCC 6258 referans suşları kullanıldı.(National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard. NCCLS Document M27-A2. Wayne,

PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2002). Amfoterisin B seri dilüsyonları 0.03 ile 16 µgr/ml olarak hazırlandı.

Moksifloksasin İn-Vitro Duyarlılık Testi: İn-vitro duyarlılık testi Moksifloksasin (Avelox®) infüzyon solüsyonu kullanılarak yapıldı. MİK sonuçları 37ºC'de 24 saatlik inkübasyon sonrasında elde edildi. Plaklar değerlendirilmeden önce hafifçe çalkalandı. Üreme kontrolü kuyucuğuna göre yapılan karşılaştırmada moksifloksasin için üremenin tamamen inhibe olduğu ilk kuyucuk MİK olarak kayıt edildi. Moksifloksasinin seri dilüsyonları 50 ile 1600 µgr/ml olarak hazırlandı.

Dama Tahtası Yöntemi: Amfoterisin B ile moksifloksasinin birlikte kullanımında sinerjistik, antagonistik veya etkisiz oluşunu test etmek için dama tahtası yöntemi kullanıldı. Yatay kuyucuklarda amfoterisin B konsantrasyonu iki kat azalırken, dikey kuyucuklarda moksifloksasin konsantrasyonu iki kat azaltıldı. Azalan konsantrasyonlarda moksifloksasin ve Amfoterisin B, 96 kuyucuklu mikroplakta karşılaştırıldı. Üremenin tamamen inhibe olduğu ilk kuyucuklar MİK olarak kayıt edildi.

İstatistiksel Analiz: Verilerin dağılımına Shapiro-Wilk testi ile bakıldı ve verilerin hiçbiri normal dağılmadığı için değerlendirmelerde non-parametrik testler kullanıldı. Gruplar arasındaki klinik derecelendirme ve koloni sayılarına ait veriler, Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Her bir grup içerisinde 7. gün ile 14. güne ait veriler ise Wilcoxon Signed Ranks testi ile karşılaştırıldı. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS for Windows sürüm 13.0 (Chicago, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı. Tüm istatistiksel testlerde istatistiksel anlamlılığı belirtmek için p değeri kullanılıp, $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Her bir grupta 10'ar adet olan tavşanların ilk 2 gün 6'sının kaybedilmesi sonucu toplam 34 tavşanın sonuçları değerlendirilebildi. Grup 1'de (kontrol grubu) 7 göz, grup 2'de (moksifloksasin grubu) 10 göz, grup 3'de (amfoterisin B grubu) 8 göz ve grup 4'te (kombine grup) 8 göz bulunmaktaydı.

Mikrobiyolojik İnceleme ve Klinik Skor:

Birinci haftada alınan vitreus örneğinden üreyen koloni sayıları ortalaması (minumum-maksimum/ortanca) grup 1, 2, 3 ve 4'te sırasıyla 138.3 ± 263.3 (0-730/50), 35.8 ± 36.4 (1-100/22), 0.6 ± 0.9 (0-2/0) ve 0 ± 0 (0/0) idi. İkinci haftada alınan vitreus örneğinden üreyen koloni sayıları ortalaması ise (minumum-maksimum/ortanca) grup 1, 2, 3 ve 4'te sırasıyla 185.9 ± 352.4 (0-950/3), 37.1 ± 66.9 (0-220/12.5), 1.4 ± 2.2 (0-6/0) ve 0 ± 0 (0/0) idi (Şekil 1). Birinci hafta ile 2. hafta koloni sayıları her bir grup kendi içinde karşılaştırıldığında, hiçbir grupta istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (sırasıyla p=0.735, p=0.953, p=0.180, p=1.000). Koloni sayıları gruplar arasında karşılaştırıldığında ise hem 1. haftada hem de 2. haftada gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttu (Kruskal-Wallis, sırasıyla p=0.000 ve p=0.001). Kontrol grubu ile moksifloksasin grubu arasında anlamlı fark mevcut değildi (sırasıyla p=0.870 ve p=0.705). Amfoterisin B grubu ile kombine grup arasında da anlamlı fark mevcut değildi (sırasıyla p=0.321 ve p=0.207). Dolayısı ile gruplar arasındaki bu fark, kontrol grubu ve moksifloksasin grubunun; amfoterisin B grubu ve kombine gruptan istatistiksel olarak farklı olmasından kaynaklanmakta idi.

İstatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına rağmen kontrol grubuna göre moksifloksasin grubunun koloni sayılarının belirgin olarak düşük olduğu izlendi (Şekil 1). Yine istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen amfoterisin B grubunda 8 gözden 3'ünde

Buna göre amfoterisin B 0,5 µg/ml, moksifloksasin 400 µg/ml dozunda karşılaştıklarında üremenin inhibe olduğu, bu inhibisyonun amfoterisin B'nin 0,125 µg/ml, moksifloksasinin 1600 µg/ml konsantrasyonuna kadar devam ettiği ve amfoterisin B'nin 0,06 µg/ml konsantrasyonunda bittiği görüldü.

Bu sonuca göre amfoterisin B'nin test edilen maya üzerinde in vitro olarak etkili olduğuna, moksifloksasinin tek başına bu etkiden yoksun olduğuna, ancak amfoterisin B ile kombine edildiğinde moksifloksasinin 0,125 µg/ml konsantrasyonuna kadar amfoterisin B'nin MİK değerlerini düşürebildiğine karar verildi.

Sonuçlar değerlendirildiğinde her iki ilacın in vitro koşullarda sinerjik etkili olduğu görüldü.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Topoizomeraz enzimi DNA sentezi için gerekli olan ve tüm ökaryot hücrelerde bulunan bir enzimdir. Mantarlar da ökaryot organizmalar oldukları için fungal topoizomeraz enzimine sahiptirler. Patojenik mantarlarda topoizomeraz 1 ve 2'nin çok miktarda bulunduğu bildirilmiştir [89]. Shen ve Fostel, topoizomeraz inhibitörlerinin antifungal etkinliklerinin olduğunu ve fungal topoizomerazlara etki ederken aynı dozlarda memelilerin topoizomeraz enzimlerini inhibe etmeyen ilaçlar geliştirmenin mümkün olduğunu göstermişlerdir [90]. Kinolon antibiyotikler topoizomeraz enzimini inhibe ederek etki gösterdikleri için kinolon antibiyotiklerin fungal topoizomeraz enzimini de inhibe edip edemeyeceği ve dolayısıyla antifungal etkinliğinin olup olmadığı merak uyandıran ve araştırılan bir konu olmuştur. Kinolon antibiyotiklerin topoizomeraz enzim inhibisyonunun sadece bakterilere spesifik olmadığı, *Pneumocystis carini* gibi diğer patojenlerin enzimlerini de inhibe edebildikleri gösterilmiştir [29]. Nakajima ve ark. kendi yaptıkları bir kinolon antibiyotik olan DU-6859a maddesinin tek başına antifungal etkinliği olmamasına rağmen in vitro ve in vivo (farelerde) olarak amfoterisin B ve flukonazolün, *C. albicans* ve *A. fumigatus*'a karşı antifungal etkinliğini arttırdığını göstermişlerdir [72]. Bir başka in vivo çalışmada farelerde invazif sistemik *C. albicans* kandidiyazisinde, siprofloksasin ve travofloksasinin tek başlarına kullanıldığında antifungal etkinliklerinin olmadığını fakat kombine edildiklerinde amfoterisin B ve flukonazolün *C.albicans*'a karşı etkinliğini arttırdıkları gösterilmiştir [97]. Aynı çalışmada siprofloksasin ve travofloksasin ile kombine edildiğinde amfoterisin B'nin optimum dozundan (1mg/kg/gün) daha düşük dozlarda da aynı etkinliği gösterdiği ve flukonazol ile kombine edildiklerinde ise flukonazole dirençli *C. albicans* suşunun duyarlı hale geldiği de gösterilmiştir [97]. Diğer bazı çalışmalarda ise amfoterisin B ile siprofloksasin ve levofloksasinin *Candida* suşları ve *Exophilia spinifera*'ya karşı in vitro sinerjistik etki

gösterdikleri [105]; *C. albicans*'a karşı amfoterisin B ile norfloksasinin in-vivo olarak sinerjistik etki gösterdikleri [11] ve amfoterisin B'nin norfloksasin ile kombine edildiğinde *C. albicans* ve *Cryptococcus* için MİK değerlerinin 2 ile 32 kat azaldığı bildirilmiştir [49]. Literatürdeki diğer tüm çalışmaların aksine Petrou ve Rogers, in-vitro olarak nalidiksik asit ve enoksasinin amfoterisin B ve imidazol antifungaller ile sinerjistik etki gösterirken, fluorinize kinolonların (siprofloksasin, norfloksasin gibi) antagonistik etki gösterdiklerini bildirmişlerdir [79].

Piyasada mevcut olan kinolon antibiyotiklerin antifungallerle kombine edildiklerinde gösterdikleri sinerjistik etkinin mekanizması bilinmemektedir.

Bütün bu veriler göz önüne alındığında, kinolonların antifungal ilaçlarla kombine edildiklerinde sinerjik etki göstererek antifungal ilaçların etkinliklerini arttırmaları, ciddi toksisiteleri olan bu ilaçların terapötik dozlarını azaltmaları ve bazı dirençli suşların duyarlı hale gelmelerini sağlayabilmeleri mümkündür. Günümüzde fungal topoizomerazlara yönelik daha spesifik etki gösterebilecek yeni kinolonların, yeni bir antifungal ilaç grubu olarak çalışılması gerektiği düşünülmektedir.

Daha önce Özdek ve ark tarafından yapılmış olan bir in vitro çalışmada moksifloksasin ve diğer bir 4. kuşak florokinolon olan Gatifloksasin'in fungal göz enfeksiyonlarından izole edilen *Candida* suşlarına karşı belirgin antifungal etkinlikleri tüp mikrodilüsyon testi ile gösterilmiştir [75]. Bu çalışmada kullanılmış olan dilüe edilmemiş ilaç konsantrasyonları piyasada bulunan topikal ilaç preparatları ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır. Florokinolonlar topikal kullanım sonrası genellikle korneayı geçerek ön kamaraya ulaşırlar. In vivo çalışmalar gatifloksasinin, tavşan korneasını geçerek, ön kamarada pek çok oküler patojenin $MİK_{90}$ değerinden daha yüksek seviyelere ulaştığını göstermiştir [9]. Rutin katarakt cerrahisinden bir gün önce topikal formlarının 4x1 damla dozunda kullanılması

ile moksifloksasinin (1.31-1.93ug/ml) gatifloksasine (0.26-0.63ug/ml) göre ön kamarada daha yüksek konsantrasyonlara ulaştığı gösterilmiştir [52; 92]. Özdek ve ark tarafından yapılmış olan çalışmada kullanılan seri dilüsyonlardaki konsantrasyonlar ise ön kamarada elde edilen bu konsantrasyonlara eşdeğerdir. Benzer sonuç bildiren çeşitli tebliğlerde bu iki ilacın antifungal etkilerinin birbirine üstünlükleri tartışılmıştır [82; 102]. Bu tez çalışmasında ise mikroplak dilüsyon yöntemi ile moksifloksasinin tek başına in-vitro antifungal etkisi olmadığı fakat dama tahtası yöntemiyle amfoterisin B ile moksifloksasinin birlikte kullanımında ise sinerjistik etki gösterdikleri in vitro olarak gösterilmiştir. Bu çalışmada moksifloksasinin tek başına in-vitro antifungal etkisi yokken, Özdek ve ark çalışmasında olması, farklı in-vitro duyarlılık testlerinin kullanılmasından ve bu çalışmada tek suş çalışılmış iken diğerinde çok sayıda suş üzerinde çalışılmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Zira antibiyotiklerin antifungal duyarlılıklarını tespit etmek için kesin kabul görmüş standart bir test mevcut değildir.

Kinolon antibiyotiklerin bazılarının antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra immün modülatuar etkileri de mevcuttur. Sadece kinolon halkasının birinci pozisyonunda siklopropil eki bulunan kinolonların (siprofloksasin, moksifloksasin, sparfloksasin, klinafloksasin, v.b.) immüm modülatuar etki gösterdikleri bilinmektedir [88]. Kinolonlar, IL-2, IL-3, GM-CSF, ve IFN-γ başta olmak üzere bazı sitokinlerin üretimini indüklerken [55; 87; 88], TNF-α ve IL-8 üretimini inhibe ederler [86]. Sitokinler üzerine olan etkileri kinolonların tipine göre değişmekte ve klinik olarak kullanıldıkları dozlarda ortaya çıkmaktadır [55; 88]. Shalit ve ark. bir çalışmalarında, sublethal dozlarda radyoterapi uygulanmış farelerde, ciprofloksasin kullanımı ile hematopoezin ve sağ kalımın arttığını ve bu etkinin hematopoetik organlarda IL-3 ve GM-CSF üretiminin artması yoluyla olduğunu göstermişlerdir [88]. Aynı grubun bir başka çalışmasında, siklofosfamid ile indüklenmiş nötropenisi olan farelerde moksifloksasin

ile 4 günlük tedavi sonucunda hematopoetik organlarda ve akciğerlerde sitokin düzeylerinin arttığını ve immün supresyon düzeyinin azaldığını bildirmişlerdir [87]. Yine bir diğer çalışmalarında ise, siklofosfamid ile indüklenmiş nötropenisi olan farelerde intratekal *C. albicans* verilmesinden önce 4 günlük moksifloksasin tedavisi alan ve almayan gruplarda fungal bronkopnömoni gelişimi, kilo kaybı ve mortalite oranlarına ve sitokin düzeylerine bakmışlardır. Kontrol grubunda TNF-α ve IL-8 düzeylerinin arttığını, moksifloksasin ile tedavi gören grupta ise enfeksiyon öncesi düzeylerde kaldığını ve moksiflokasasin grubunda fungal bronkopnömoni gelişimi, kilo kaybı ve mortalite oranlarında ciddi düşüş olduğunu göstermişlerdir [86].

Bu çalışma moksifloksasinin in-vivo antifungal etkisini gösteren ilk çalışmadır. Çalışma dizaynından da anlaşılabileceği üzere burada fungal endoftalmi modeli oluşturulup tedavi edilmesinden ziyade endoftalmi oluşumunun intravitreal olarak verilen ajanlarla engellenmesi hedeflenmiştir. Yani antifungal özellik tedavi olarak değil profilaksi olarak değerlendirilmiştir. Burada vitreus örneklerinden elde edilen koloni sayıları moksifloksasin grubunda kontrol grubundan belirgin olarak daha azdır. Ayrıca amfoterisin B ile kombine edildiğinde de amfoterisin B'nin tek başına kullanıldığı gruba göre daha az üreme olması da çarpıcıdır. Amfoterisin B ve kombine grup arasında koloni sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına rağmen, amfoterisin B grubundaki gözlerin %37,5'inde (3/8 göz) kültürde üreme mevcut iken kombine gruptaki gözlerin hiçbirinde kültürde üreme görülmemiştir. Bu mikrobiyolojik bulgular klinik skorlamalarla da benzer şekilde desteklenmiştir. Sonuç olarak moksifloksasinin tek başına bir miktar in-vivo antifungal etkinliği olduğunu ve amfoterisin B ile in-vivo sinerjistik etki gösterdiğini söylemek mümkündür. Bunun nedeni moksifloksasinin in-vivo direkt antifungal etki göstermesinden olabileceği gibi literatürdeki pek çok çalışmada gösterilen immün modülatuar etki sonucu

fungal enfeksiyona karşı bir miktar koruma sağlamasından da kaynaklanabilir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmaması deneysel çalışmalarda kullanılan denek sayısının kısıtlı olmasından kaynaklanmaktadır.

Bu çalışmada kontrol grubunda yüksek oranda ağır ganglion hücre ve İNT kaybına rastlanırken moksifloksasin grubunda sadece hafif kayıp izlenmesi moksifloksasinin direkt veya immün modülasyon yolu ile antifungal etki göstererek enfeksiyona bağlı hasarı azaltmasından kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan hafif ganglion hücre ve İNT kaybının amfoterisin B grubuna göre (%33,3 ve %16,7) kombine grupta (%100 ve %83,3) daha yüksek oranda izlenmesi ise, moksifloksasinin bu tabakalarda ağır olmasa da hafif hasar şeklinde ortaya çıkan toksisitesini düşündürmektedir. DNT'nın amfoterisin B ve kombine grupta doğal izlenmesi moksifloksasinin daha derin retinal tabakalara toksisite yaratacak kadar penetre olamadığı anlamına gelebilir.

Burada moksifloksasin ve amfoterisin B kombinasyonu ile elde edilen antifungal sinerji tedavi için gerekli intravitreal dozların azaltılmasını sağlayabilecektir. Bu yönü düşünüldüğünde kombine ilaç kullanımı ile daha düşük dozda ilaç kullanarak retina toksisitesinin azaltılması dahi mümkün olabilir.

Literatürde intravitreal moksifloksasinin oküler toksisitesi üzerine sağlıklı tavşanlarda yapılan bir çalışmada 320µgr/0,1ml dozunda retina tabakalarında toksisite bulguları saptanırken, 160µgr/0,1ml ve altındaki dozlarda retina tabakaları tamamen doğal izlenmiştir [7]. Çalışmamızda ise 100µgr/0,1ml dozunda kullanılan moksifloksasinin iç retina tabakalarında muhtemel toksisite göstermiştir. Bu farkın nedeni enfeksiyon varlığında ilacın farmakodinamik özelliklerinin ve doku penetrasyon oranlarının değişmesi olabilir.

Vitreus enflamasyonu, candida enfeksiyonunun klasik histopatolojik komponenti olan nekroz (fokal retinal nekroz), enfeksiyon nedeniyle proliferatif vitreoretinopati (PVR) ve buna

bağlı olarak retina dekolmanı gelişimi endoftalminin şiddeti ile doğrudan ilişkilidir. Çalışmamızda vitreus enflamasyonunun şiddeti ile fokal retinal nekroz ve retina dekolmanı oranlarının moksifloksasin grubunda kontrol grubuna göre azalmış olması yine moksifloksasinin bir miktar antifungal etkisi olduğu düşüncesini desteklemektedir. Amfoterisin B ve kombine grupta ise bu 3 bulguya hiç rastlanmaması bu gruplarda etkin antifungal tedavi sağlanmasından kaynaklanmaktadır.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında moksifloksasinin tek başına kullanımında in-vitro antifungal etkinliği olmamasına rağmen in-vivo antifungal etkinliğinin olduğu; amfoterisin B ile kombine edildiğinde ise hem in-vivo hem de in-vitro olarak amfoterisin B'nin etkinliğini arttırdığı, yani amfoterisin B ile sinerjistik etki gösterdiği ve iç retina tabakalarında hafif düzeyde toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir.

ÖZET

Fungal endoftalmi nadir görülmekle birlikte genellikle ciddi görme kaybı ve hatta gözün kaybıyla sonuçlanabilmektedir. Amfoterisin B günümüzde mevcut olan en etkili antifungal ilaç olmasına rağmen ciddi oküler ve sistemik toksisitesi ilacın kullanımını sınırlamakta ve fungal enfeksiyonların tedavisindeki en önemli problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle özellikle sfingolipidler, protein translasyon mekanizmaları ve DNA topoizomeraz enzimlerini hedef alan yeni antifungal ilaç arayışları çok popülerlik kazanmıştır.

Moksifloksasin, geniş gram (+), gram (-) ve anaerob spektruma sahip, topoizomeraz 2 ve topoizomeraz 4 enzim inhibisyonu ile etki gösteren 4. kuşak bir fluorokinolon antibiyotiktir. Moksifloksasinin antibakteriyel etkinliğinin yanı sıra immün modülasyon yoluyla fungal enfeksiyonlarda koruyucu etki gösterdiği oftalmoloji dışındaki alanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [55; 86-88]. Ayrıca literatürde diğer kinolonların antifungal ilaçlarla sinerjistik etki gösterdiğine dair pek çok çalışma olmasına rağmen moksifloksasinin antifungal etkinliği ve antifungal ilaçlarla olan ilişkisi üzerine yapılmış herhangi bir in-vivo çalışma mevcut değildir.

Çalışmamızda tavşan gözlerinde oluşturulan deneysel *Candida albicans* endoftalmi modelinde moksifloksasinin tek başına antifungal etkinliğinin olup olmadığı ve amfoterisin B ile kombine edildiğinde sinerjistik etki gösterip göstermediğinin in vitro ve in vivo olarak ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada her grupta 10 göz olacak şekilde 40 tavşanın 40 gözü kullanılmıştır. Tüm gözlerde *C. albicans* endoftalmisi oluşturulduktan sonra grup 1'e (kontrol grubu) dengeli tuz solüsyonu, grup 2'ye 100 µgr/ 0,1 ml moksifloksasin, grup 3'e 10 µgr/ 0,1 ml amfoterisin B ve grup 4'e (kombine grup) 100 µgr/ 0,05 ml moksifloksasin ile birlikte 10 µgr/ 0,05 ml amfoterisin B intravitreal olarak uygulanmıştır. Sonuçlar klinik muayene skorları, vitreus

örneklerinden üreyen koloni sayıları ve gözlerin histopatolojik değerlendirmelerinin karşılaştırılması ile elde edilmiştir. Moksifloksasinin in-vitro antifungal etkisine mikroplak dilüsyon yöntemi ile ve amfoterisin B ile olan ilişkisine ise dama tahtası yöntemi ile bakılmıştır.

Klinik skorlar ve koloni sayıları moksifloksasin grubunda kontrol grubuna göre belirgin olarak daha düşüktür. Bu bulgular moksifloksasinin tek başına kullanıldığında bir miktar in-vivo antifungal etkinliği olduğunu göstermektedir. Kombine grupta da amfoterisin B grubuna göre klinik skorlar daha düşüktür. Amfoterisin B ve kombine grup arasında koloni sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına rağmen, amfoterisin B grubundaki gözlerin %37,5'inde (3/8 göz) kültürde üreme mevcut iken kombine gruptaki gözlerin hiçbirinde kültürde üreme görülmemiştir. Dolayısıyla moksifloksasinin amfoterisin B ile sinerjistik etki gösterdiğini söylemek mümkündür.

Histopatolojik değerlendirmelerde, endoftalminin şiddeti ile doğrudan ilişkili olan vitreus enflamasyonunun şiddeti ile fokal retinal nekroz ve RD oranlarının moksifloksasin grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunması da moksifloksasinin antifungal etkisi olduğunu desteklemektedir. Moksifloksasinin bu etkilerinin nedeni in-vivo direkt antifungal etki göstermesinden olabileceği gibi literatürdeki pek çok çalışmada gösterilen immün modülatuar etki sonucu fungal enfeksiyona karşı bir miktar koruma sağlamasından da kaynaklanabilir.

Hafif ganglion hücre ve İNT kaybının kombine grupta (%100 ve %83,3) amfoterisin B grubuna göre (%33,3 ve %16,7) daha yüksek olduğu görülmüştür. DNT ise her iki grupta da doğal izlenmiştir. Bu bulgular moksifloksasinin iç retinal tabakalarda ağır olmasa da hafif hasar şeklinde ortaya çıkan toksisitesini düşündürmektedir.

Bu tez çalışmasında mikroplak dilüsyon yöntemi ile moksifloksasinin tek başına in-vitro antifungal etkisi olmadığı fakat amfoterisin B ile birlikte kullanıldığında amfoterisin B'nin etkinliğini arttırarak sinerjistik etki gösterdiği dama tahtası yöntemiyle gösterilmiştir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında moksifloksasinin tek başına kullanımında in-vitro antifungal etkinliği olmamasına rağmen in-vivo antifungal etkinliğinin olduğu; amfoterisin B ile kombine edildiğinde ise hem in-vivo hem de in-vitro olarak amfoterisin B'nin etkinliğini arttırdığı, yani amfoterisin B ile sinerjistik etki gösterdiği ve iç retina tabakalarında hafif düzeyde toksisiteye neden olduğu gösterilmiştir.

ABSTRACT

COMPARISION OF ANTIFUNGAL EFFICACIES OF MOXIFLOXACIN, AMPHOTERICINE B MONOTHERAPIES AND COMBINATION TREATMENT IN EXPERIMENTAL CANDIDA ALBICANS ENDOPHTHALMITIS IN RABBITS

Purpose: To compare in-vitro and in-vivo efficacy of moxifloxacin, amphotericine B monotherapies and combination treatment against C. albicans in an exogenous endophthalmitis model in rabbit eyes.

Material and Methods: Endophthalmitis was induced by intravitreal injection of C. albicans (10^5CFU/0.1 ml) in 40 eyes of 40 rabbits. Intravitreal drug injection according to treatment groups was also performed simultaneously. There were 4 groups:

Group 1-(Control group): 0.1ml of balanced salt solution was injected intravitreally.

Group 2- : Single dose of 100µ / 0.1 ml moxifloxacin was injected intravitreally.

Group 3- : Single dose of 10µ / 0.1 ml amphotericine B was injected intravitreally.

Group 4- : Single dose of 100µ / 0.05ml moxifloxacine and 10µ / 0.05ml amphotericine B were injected intravitreally. All rabbit eyes were examined and a clinical score was given at day 7 and 14. After the examination, 0.3 ml of vitreous was sampled from each eye for the quantitative analysis of Candida Albicans growth by colony counts. At day 14 enucleation was performed after the examination and vitreus sampling. All eyes were sent to pathological examination. Vitreus inflammation, ganglion cell death, inner nuclear layer damage, outer nuclear layer damage, retinal detachment and focal retinal necrosis were evaluated by light microscopy. All specimens were treated with light green PAS (LGP) for detection of C. albicans.

Clinical, microbiological and histopathological outcomes were compared in between the groups at day 7 and 14.

Microplack dilution tests were performed to detect in- vitro effects of amphotericine B and moxifloxacin against C. albicans. MIC values were recorded.

Results: Clinical scores and colony counts were significantly less in group 2 compared to control group. These parameters were also less in group 4 compared to group 3. There was no C. albicans growth in group 4, where as 3 out of 8 eyes showed growth in group 3.

Vitreus inflammation, retinal detachment and focal retinal necrosis were found to be less significant in group 2 compared to control group. Ganglion cell death and inner nuclear layer damage were more prominent in group 4 (%100 and %83,3) compared to group 3 (%33,3 and %16,7), where as outer nuclear layer were completely normal in both.

MIC of amphotericine B was found to be 1 µgr/ml. Moxifloxacin showed no inhibition against in-vitro C. albicans growth. MIC values of amphotericine B for C. albicans were reduced 2 to 8 folds with increasing concentrations of moxifloxacin.

Conclusion: Moxifloxacin has inhibitory effect on C. albicans endophthalmitis in-vivo although it has no in-vitro antifungal activity against C. albicans. This could be due to the immune modulatory effect of the drug. Moxifloxacin aguments the efficacy of amphotericine B against C. albicans both in-vivo and in-vitro. İntravitreal injection of moxifloxacin has toxicity to inner retinal layers.

KAYNAKLAR

1. Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. Arch Ophthalmol 113:1479-1496,1995.
2. Adams, S. G., and A. Anzueto. Antibiotic therapy in acute exacerbations of chronic bronchitis. Semin Respir Infect 15:234-247,2000.
3. Aguilar, G. L., M. S. Blumenkrantz, P. R. Egbert, and J. P. McCulley. Candida endophthalmitis after intravenous drug abuse. Arch Ophthalmol 97:96-100,1979.
4. Aldave, A. J., J. D. Stein, V. A. Deramo, G. K. Shah, D. H. Fischer, and J. I. Maguire. Treatment strategies for postoperative Propionibacterium acnes endophthalmitis. Ophthalmology 106:2395-2401,1999.
5. Andriole, V. T. Overview of the fluoroquinolones: focus on moxi-floxacin. Hosp Formul 37 suppl:13-15,2002.
6. Apt, L., S. J. Isenberg, R. Yoshimori, A. Chang, G. C. Lam, B. Wachler, and D. Neumann. The effect of povidone-iodine solution applied at the conclusion of ophthalmic surgery. Am J Ophthalmol 119:701-705,1995.
7. Aydin, E., A. A. Kazi, G. A. Peyman, and M. R. Esfahani. Intravitreal toxicity of moxifloxacin. Retina 26:187-190,2006.
8. Balfour, J. A., and H. M. Lamb. Moxifloxacin: a review of its clinical potential in the management of community-acquired respiratory tract infections. Drugs 59:115-139,2000.
9. Batoosingh AL, L. E., Welty DF, Tang-Liu D. 2003. Gatifloxacin 0.3% vs ciprofloxacin 0.35%: Ocular pharmacokinetics profile following topical application in rabbits. (published abstract). IOVS .
10. Benz, M. S., I. U. Scott, H. W. Flynn, Jr., N. Unonius, and D. Miller. Endophthalmitis isolates and antibiotic sensitivities: a 6-year review of culture-proven cases. Am J Ophthalmol 137:38-42,2004.
11. Bergan, T., and M. Vangdal. In vitro activity of antifungal agents against yeast species. Chemotherapy 29:104-110,1983.
12. Blondeau, J. M., R. Laskowski, J. Bjarnason, and C. Stewart. Comparative in vitro activity of gatifloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, moxifloxacin and trovafloxacin against 4151 Gram-negative and Gram-positive organisms. Int J Antimicrob Agents 14:45-50,2000.
13. Breilh, D., J. Jougon, S. Djabarouti, J. B. Gordien, F. Xuereb, J. F. Velly, P. Arvis, V. Landreau, and M. C. Saux. Diffusion of oral and intravenous 400 mg once-daily moxifloxacin into lung tissue at pharmacokinetic steady-state. J Chemother 15:558-562,2003.
14. Brod, R. D., H. W. Flynn, Jr., J. G. Clarkson, S. C. Pflugfelder, W. W. Culbertson, and D. Miller. Endogenous Candida endophthalmitis. Management without intravenous amphotericin B. Ophthalmology 97:666-672; disc: 672-664,1990.
15. Brooks, R. G. Prospective study of Candida endophthalmitis in hospitalized patients with candidemia. Arch Intern Med 149:2226-2228,1989.

16. Burkhardt, O., K. Borner, H. Stass, G. Beyer, M. Allewelt, C. E. Nord, and H. Lode. Single- and multiple-dose pharmacokinetics of oral moxifloxacin and clarithromycin, and concentrations in serum, saliva and faeces. Scand J Infect Dis 34:898-903,2002.
17. Buzard, K., and S. Liapis. Prevention of endophthalmitis. J Cataract Refract Surg 30:1953-1959,2004.
18. Callegan, M. C., R. Ramirez, S. T. Kane, D. C. Cochran, and H. Jensen. Antibacterial activity of the fourth-generation fluoroquinolones gatifloxacin and moxifloxacin against ocular pathogens. Adv Ther 20:246-252,2003.
19. Cameron, J. A., S. R. Antonios, J. B. Cotter, and N. R. Habash. Endophthalmitis from contaminated donor corneas following penetrating keratoplasty. Arch Ophthalmol 109:54-59,1991.
20. Chapman S. W., C. J. D., Rogers P.D. 2003. Amphotericin B. Pp. 33-63 *in* D. W. E., ed. Clinical Mycology. Oxford University Press, USA.
21. Ciulla, T. A., A. D. Beck, T. M. Topping, and A. S. Baker. Blebitis, early endophthalmitis, and late endophthalmitis after glaucoma-filtering surgery. Ophthalmology 104:986-995,1997.
22. Ciulla, T. A., M. B. Starr, and S. Masket. Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: an evidence-based update. Ophthalmology 109:13-24,2002.
23. Clark, W. L., P. K. Kaiser, H. W. Flynn, Jr., A. Belfort, D. Miller, and D. M. Meisler. Treatment strategies and visual acuity outcomes in chronic postoperative Propionibacterium acnes endophthalmitis. Ophthalmology 106:1665-1670,1999.
24. Clarkson, J. G., and W. R. Green. 1979. Endogenous fungal endophthalmitis. Pp. 1-44 *in* T. D. Duane, ed. Clinical ophthalmology. Harper & Row, New York.
25. Clinch, T. E., J. S. Duker, R. C. Eagle, Jr., J. H. Calhoun, J. J. Augsburger, and D. H. Fischer. Infantile endogenous Candida endophthalmitis presenting as a cataract. Surv Ophthalmol 34:107-112,1989.
26. Das, T., S. Jalali, V. K. Gothwal, S. Sharma, and T. J. Naduvilath. Intravitreal dexamethasone in exogenous bacterial endophthalmitis: results of a prospective randomised study. Br J Ophthalmol 83:1050-1055,1999.
27. Das, T., and S. Sharma. Current management strategies of acute post-operative endophthalmitis. Semin Ophthalmol 18:109-115,2003.
28. Donahue, S. P., C. M. Greven, J. J. Zuravleff, A. W. Eller, M. H. Nguyen, J. E. Peacock, Jr., M. W. Wagener, and V. L. Yu. Intraocular candidiasis in patients with candidemia. Clinical implications derived from a prospective multicenter study. Ophthalmology 101:1302-1309,1994.
29. Dykstra, C. C., D. R. McClernon, L. P. Elwell, and R. R. Tidwell. Selective inhibition of topoisomerases from Pneumocystis carinii compared with that of topoisomerases from mammalian cells. Antimicrob Agents Chemother 38:1890-1898,1994.
30. Edwards, J. E., Jr. 1982. Candida Endophthalmitis. Pp. 381-397 *in* J. S. R. a. M. N. Swartz, ed. Current Clinical Topics in Infectious Diseases McGraw-Hill, New York.
31. Edwards, J. E., Jr. 1985. Candida endophthalmitis. Pp. 211-225 *in* G. P. Bodey, ed. Candidiasis. Raven Press, New York.
32. Edwards, J. E., Jr., R. Y. Foos, J. Z. Montgomerie, and L. B. Guze. Ocular manifestations of Candida septicemia: review of seventy-six cases of hematogenous Candida endophthalmitis. Medicine (Baltimore) 53:47-75,1974.

33. Ermis, S. S., Z. Cetinkaya, H. Kiyici, and F. Ozturk. Treatment of Staphylococcus epidermidis endophthalmitis with intravitreal moxifloxacin in a rabbit model. Tohoku J Exp Med 205:223-229,2005.
34. Essex, R. W., Q. Yi, P. G. Charles, and P. J. Allen. Post-traumatic endophthalmitis. Ophthalmology 111:2015-2022,2004.
35. Essman, T. F., H. W. Flynn, Jr., W. E. Smiddy, R. D. Brod, T. G. Murray, J. L. Davis, and P. E. Rubsamen. Treatment outcomes in a 10-year study of endogenous fungal endophthalmitis. Ophthalmic Surg Lasers 28:185-194,1997.
36. Ferrer, C., F. Colom, S. Frases, E. Mulet, J. L. Abad, and J. L. Alio. Detection and identification of fungal pathogens by PCR and by ITS2 and 5.8S ribosomal DNA typing in ocular infections. J Clin Microbiol 39:2873-2879,2001.
37. Ferrer, C., G. Munoz, J. L. Alio, J. L. Abad, and F. Colomm. Polymerase chain reaction diagnosis in fungal keratitis caused by Alternaria alternata. Am J Ophthalmol 133:398-399,2002.
38. Fisher, J. F., A. T. Taylor, J. Clark, R. Rao, and A. Espinel-Ingroff. Penetration of amphotericin B into the human eye. J Infect Dis 147:164,1983.
39. Florea, N. R., P. R. Tessier, C. Zhang, C. H. Nightingale, and D. P. Nicolau. Pharmacodynamics of moxifloxacin and levofloxacin at simulated epithelial lining fluid drug concentrations against Streptococcus pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 48:1215-1221,2004.
40. Gallis, H. A., R. H. Drew, and W. W. Pickard. Amphotericin B: 30 years of clinical experience. Rev Infect Dis 12:308-329,1990.
41. Gavin, J. R., 3rd, R. Kubin, S. Choudhri, D. Kubitza, H. Himmel, R. Gross, and J. M. Meyer. Moxifloxacin and glucose homeostasis: a pooled-analysis of the evidence from clinical and postmarketing studies. Drug Saf 27:671-686,2004.
42. Goldstein, E. J., and S. M. Garabedian-Ruffalo. Widespread use of fluoroquinolones versus emerging resistance in pneumococci. Clin Infect Dis 35:1505-1511,2002.
43. Goldstein, M. H., R. P. Kowalski, and Y. J. Gordon. Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis: a 5-year review. Ophthalmology 106:1313-1318,1999.
44. Gopinathan, U., P. Garg, M. Fernandes, S. Sharma, S. Athmanathan, and G. N. Rao. The epidemiological features and laboratory results of fungal keratitis: a 10-year review at a referral eye care center in South India. Cornea 21:555-559,2002.
45. Green, W. R., J. E. Bennett, and R. D. Goos. Ocular Penetration of Amphotericin B: a Report of Laboratory Studies and a Case Report of Postsurgical Cephalosporium Endophthalmitis. Arch Ophthalmol 73:769-775,1965.
46. Griffin, J. R., T. H. Pettit, L. S. Fishman, and R. Y. Foos. Blood-borne Candida endophthalmitis. A clinical and pathologic study of 21 cases. Arch Ophthalmol 89:450-456,1973.
47. Haider, S. A., P. Hassett, and A. J. Bron. Intraocular vancomycin levels after intravitreal injection in post cataract extraction endophthalmitis. Retina 21:210-213,2001.
48. Han, D. P., S. R. Wisniewski, L. A. Wilson, M. Barza, A. K. Vine, B. H. Doft, and S. F. Kelsey. Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study. Am J Ophthalmol 122:1-17,1996.
49. Holmes B., B. R. N., Richards D. M. Norfloxacin. A Review of Its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Therapeutic Use. Drugs 30:482-513,1985.

50. Houssaye, S., L. Gutmann, and E. Varon. Topoisomerase mutations associated with in vitro selection of resistance to moxifloxacin in Streptococcus pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 46:2712-2715,2002.
51. Jarvis, W. R. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on Candida species. Clin Infect Dis 20:1526-1530,1995.
52. Katz HR, M. S., Lane SS, et al. 2003. Human aqueous humor penetration pharmacokinetics of moxifloxacin after topical administration of moxifloxacin 0.5% ophthalmic solution. (published abstract). OMIG .
53. Keating, G. M., and L. J. Scott. Moxifloxacin: a review of its use in the management of bacterial infections. Drugs 64:2347-2377,2004.
54. Khoo, S. H., J. Bond, and D. W. Denning. Administering amphotericin B--a practical approach. J Antimicrob Chemother 33:203-213,1994.
55. Kletter, Y., I. Riklis, I. Shalit, and I. Fabian. Enhanced repopulation of murine hematopoietic organs in sublethally irradiated mice after treatment with ciprofloxacin. Blood 78:1685-1691,1991.
56. Kloess, P. M., R. D. Stulting, G. O. Waring, 3rd, and L. A. Wilson. Bacterial and fungal endophthalmitis after penetrating keratoplasty. Am J Ophthalmol 115:309-316,1993.
57. Kowalski, R. P., L. M. Karenchak, and E. G. Romanowski. Infectious disease: changing antibiotic susceptibility. Ophthalmol Clin North Am 16:1-9,2003.
58. Kunimoto, D. Y., T. Das, S. Sharma, S. Jalali, A. B. Majji, U. Gopinathan, S. Athmanathan, and T. N. Rao. Microbiologic spectrum and susceptibility of isolates: part II. Posttraumatic endophthalmitis. Endophthalmitis Research Group. Am J Ophthalmol 128:242-244,1999.
59. Laatikainen, L., M. Tuominen, and K. von Dickhoff. Treatment of endogenous fungal endophthalmitis with systemic fluconazole with or without vitrectomy. Am J Ophthalmol 113:205-207,1992.
60. Lettieri, J., R. Vargas, V. Agarwal, and P. Liu. Effect of food on the pharmacokinetics of a single oral dose of moxifloxacin 400mg in healthy male volunteers. Clin Pharmacokinet 40 Suppl 1:19-25,2001.
61. Li D., C. R. A. 2004. Antifungal Drugs, Targets and Target Discovery. Pp. 335-355 *in* C. R. A. San-Blass G., ed. Pathogenic Fungi:Host İnteractions and Emerging Strategies for Control. Caister Academic Press, England.
62. Liu, S. M., T. Way, M. Rodrigues, and S. M. Steidl. Effects of intravitreal corticosteroids in the treatment of Bacillus cereus endophthalmitis. Arch Ophthalmol 118:803-806,2000.
63. Louie, A., W. Liu, D. A. Miller, A. C. Sucke, Q. F. Liu, G. L. Drusano, M. Mayers, and M. H. Miller. Efficacies of high-dose fluconazole plus amphotericin B and high-dose fluconazole plus 5-fluorocytosine versus amphotericin B, fluconazole, and 5-fluorocytosine monotherapies in treatment of experimental endocarditis, endophthalmitis, and pyelonephritis due to Candida albicans. Antimicrob Agents Chemother 43:2831-2840,1999.
64. Luttrull, J. K., W. L. Wan, B. M. Kubak, M. D. Smith, and H. A. Oster. Treatment of ocular fungal infections with oral fluconazole. Am J Ophthalmol 119:477-481,1995.
65. Lyman, C. A., and T. J. Walsh. Systemically administered antifungal agents. A review of their clinical pharmacology and therapeutic applications. Drugs 44:9-35,1992.
66. Mauger, T. F. 1994. Havener's ocular pathology,. C. V. Mosby, St. Louis.

67. McCray, E., N. Rampell, S. L. Solomon, W. W. Bond, W. J. Martone, and D. O'Day. Outbreak of Candida parapsilosis endophthalmitis after cataract extraction and intraocular lens implantation. J Clin Microbiol 24:625-628,1986.
68. McDonnell, P. J., J. M. McDonnell, R. H. Brown, and W. R. Green. Ocular involvement in patients with fungal infections. Ophthalmology 92:706-709,1985.
69. Moise, P. A., M. C. Birmingham, and J. J. Schentag. Pharmacokinetics and metabolism of moxifloxacin. Drugs Today (Barc) 36:229-244,2000.
70. Moyer, D. V., and J. E. Edwards, Jr. 1993. Candida endophthalmitis and central nervous system infection *in* G. P. Bodey, ed. Candidiasis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. Raven Press Ltd, New York.
71. Muller, M., H. Stass, M. Brunner, J. G. Moller, E. Lackner, and H. G. Eichler. Penetration of moxifloxacin into peripheral compartments in humans. Antimicrob Agents Chemother 43:2345-2349,1999.
72. Nakajima, R., A. Kitamura, K. Someya, M. Tanaka, and K. Sato. In vitro and in vivo antifungal activities of DU-6859a, a fluoroquinolone, in combination with amphotericin B and fluconazole against pathogenic fungi. Antimicrob Agents Chemother 39:1517-1521,1995.
73. Nightingale, C. H. Moxifloxacin, a new antibiotic designed to treat community-acquired respiratory tract infections: a review of microbiologic and pharmacokinetic-pharmacodynamic characteristics. Pharmacotherapy 20:245-256,2000.
74. O'brien, T. P. Therapy of ocular fungal infections. Ophthalmol Clin North Am 12:33-50,1999.
75. Ozdek S, M. D., Flynn P, Flynn HW. Jr. In vitro antifungal activity of the 4th generation fluoroquinolones against candida isolates from human ocular infections. Ocular Immunology and Inflammation,in press, 2006.
76. Parrish, C. M., and D. M. O'Day. Traumatic endophthalmitis. Int Ophthalmol Clin 27:112-119,1987.
77. Perfect, J. R., W. W. Pickard, D. L. Hunt, B. Palmer, and W. A. Schell. The use of amphotericin B in nosocomial fungal infection. Rev Infect Dis 13:474-479,1991.
78. Pestova, E., J. J. Millichap, G. A. Noskin, and L. R. Peterson. Intracellular targets of moxifloxacin: a comparison with other fluoroquinolones. J Antimicrob Chemother 45:583-590,2000.
79. Petrou, M. A., and T. R. Rogers. In-vitro activity of antifungal agents in combination with four quinolones. Drugs Exp Clin Res 14:9-18,1988.
80. Pleyer, U., B. J. Mondino, S. A. Adamu, H. Pitchekian-Halabi, R. E. Engstrom, and B. J. Glasgow. Immune response to Staphylococcus epidermidis-induced endophthalmitis in a rabbit model. Invest Ophthalmol Vis Sci 33:2650-2663,1992.
81. Rossi, C., and J. Sternon. [Flouroquinolones of the third and fourth generations]. J Pharm Belg 56:137-148,2001.
82. Rupp D, R. T., Kapadia S, Anger C. 2004. Use of 48-hour zone inhibition assay to test the antimicrobial preservative efficacy of ZymarTM and VigamoxTM against yeast isolates. . (published abstract). ARVO.
83. Scheld, W. M. Maintaining fluoroquinolone class efficacy: review of influencing factors. Emerg Infect Dis 9:1-9,2003.
84. Schmid, S., A. C. Martenet, and O. Oelz. Candida endophthalmitis: clinical presentation, treatment and outcome in 23 patients. Infection 19:21-24,1991.

85. Shah, G. K., J. D. Stein, S. Sharma, A. Sivalingam, W. E. Benson, C. D. Regillo, G. C. Brown, and W. Tasman. Visual outcomes following the use of intravitreal steroids in the treatment of postoperative endophthalmitis. Ophthalmology 107:486-489,2000.
86. Shalit, I., L. Horev-Azaria, I. Fabian, H. Blau, N. Kariv, I. Shechtman, H. Alteraz, and Y. Kletter. Immunomodulatory and protective effects of moxifloxacin against Candida albicans-induced bronchopneumonia in mice injected with cyclophosphamide. Antimicrob Agents Chemother 46:2442-2449,2002.
87. Shalit, I., Y. Kletter, D. Halperin, D. Waldman, E. Vasserman, A. Nagler, and I. Fabian. Immunomodulatory effects of moxifloxacin in comparison to ciprofloxacin and G-CSF in a murine model of cyclophosphamide-induced leukopenia. Eur J Haematol 66:287-296,2001.
88. Shalit, I., Y. Kletter, K. Weiss, T. Gruss, and I. Fabian. Enhanced hematopoiesis in sublethally irradiated mice treated with various quinolones. Eur J Haematol 58:92-98,1997.
89. Shen, L. L., J. Baranowski, J. Fostel, D. A. Montgomery, and P. A. Lartey. DNA topoisomerases from pathogenic fungi: targets for the discovery of antifungal drugs. Antimicrob Agents Chemother 36:2778-2784,1992.
90. Shen, L. L., and J. M. Fostel. DNA topoisomerase inhibitors as antifungal agents. Adv Pharmacol 29B:227-244,1994.
91. Shields, J. A., C. L. Shields, R. C. Eagle, Jr., J. Barrett, and P. De Potter. Endogenous endophthalmitis simulating retinoblastoma. The 1993 David and Mary Seslen Endowment Lecture. Retina 15:213-219,1995.
92. Solomon R, D. E., Perry H, et al. . 2004. Penetration of topically applied gatifloxacin0.3%, moxifloxacin 0.5%, and ciprofloxacin 0.3% into the aqueous humor. . (published abstract). IOVS .
93. Stass, H., A. Dalhoff, D. Kubitza, and U. Schuhly. Pharmacokinetics, safety, and tolerability of ascending single doses of moxifloxacin, a new 8-methoxy quinolone, administered to healthy subjects. Antimicrob Agents Chemother 42:2060-2065,1998.
94. Stass, H., and D. Kubitza. Pharmacokinetics and elimination of moxifloxacin after oral and intravenous administration in man. J Antimicrob Chemother 43 Suppl B:83-90,1999.
95. Stass, H., and D. Kubitza. Effects of dairy products on the oral bioavailability of moxifloxacin, a novel 8-methoxyfluoroquinolone, in healthy volunteers. Clin Pharmacokinet 40 Suppl 1:33-38,2001.
96. Stass, H., D. Kubitza, and U. Schuhly. Pharmacokinetics, safety and tolerability of moxifloxacin, a novel 8-methoxyfluoroquinolone, after repeated oral administration. Clin Pharmacokinet 40 Suppl 1:1-9,2001.
97. Sugar, A. M., X. P. Liu, and R. J. Chen. Effectiveness of quinolone antibiotics in modulating the effects of antifungal drugs. Antimicrob Agents Chemother 41:2518-2521,1997.
98. Sunaric-Megevand, G., and C. J. Pournaras. Current approach to postoperative endophthalmitis. Br J Ophthalmol 81:1006-1015,1997.
99. Talan, D. A. Clinical perspectives on new antimicrobials: focus on fluoroquinolones. Clin Infect Dis 32 Suppl 1:S64-71,2001.
100. Therese, K. L., A. R. Anand, and H. N. Madhavan. Polymerase chain reaction in the diagnosis of bacterial endophthalmitis. Br J Ophthalmol 82:1078-1082,1998.

101. Thomas, P. A. Current perspectives on ophthalmic mycoses. Clin Microbiol Rev 16:730-797,2003.
102. Todd V, H. L., Noecker R. Comparison of effectiveness of VigamoxTM ZymarTM against Aspergillus fumigatus and Candida albicans.
103. Uliss, A. E., and J. B. Walsh. Candida endophthalmitis. Ophthalmology 90:1378-1379,1983.
104. Vazquez J. A., S. J. D. 2003. Candidiasis. Pp. 143-187 *in* D. W. E., ed. Clinical Mycology. Oxford University Press, USA.
105. Vitale, R. G., J. Afeltra, G. S. de Hoog, A. J. Rijs, and P. E. Verweij. In vitro activity of amphotericin B and itraconazole in combination with flucytosine, sulfadiazine and quinolones against Exophiala spinifera. J Antimicrob Chemother 51:1297-1300,2003.
106. Walker, S., S. A. Tailor, M. Lee, L. Louie, M. Louie, and A. E. Simor. Amphotericin B in lipid emulsion: stability, compatibility, and in vitro antifungal activity. Antimicrob Agents Chemother 42:762-766,1998.
107. Weigel, L. M., G. J. Anderson, R. R. Facklam, and F. C. Tenover. Genetic analyses of mutations contributing to fluoroquinolone resistance in clinical isolates of Streptococcus pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 45:3517-3523,2001.
108. Wilhelmus, K. R. The pathogenesis of endophthalmitis. Int Ophthalmol Clin 27:74-81,1987.
109. Wolfensberger, T. J., and M. Gonvers. Bilateral endogenous Candida endophthalmitis. Retina 18:280-281,1998.
110. Yam, J. C., and A. K. Kwok. Update of the management of postoperative endophthalmitis. Hong Kong Med J 10:337-343,2004.
111. Zhanel, G. G., A. Walkty, K. Nichol, H. Smith, A. Noreddin, and D. J. Hoban. Molecular characterization of fluoroquinolone resistant Streptococcus pneumoniae clinical isolates obtained from across Canada. Diagn Microbiol Infect Dis 45:63-67,2003.