



Facultad de Medicina



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**Efectividad del PACK-CXL en el tratamiento de las queratitis
infecciosas resistentes a tratamiento convencional**

**Tesis que para obtener el título de
Cirujano Oftalmólogo**

Presenta

Ivan Zaid Ketzal Gutiérrez Luna

Directora de Tesis

Dra Valeria Sánchez Huerta

Ciudad universitaria, Ciudad de México, Agosto 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Efectividad del pack-cxl en el tratamiento de las queratitis infecciosas resistentes a tratamiento convencional

Resumen

Propósito

Investigar la eficacia del cross linking con cromóforo fotoactivado para queratitis (PACK - CXL) en el tratamiento de la queratitis infecciosa avanzada.

Se realizó un ensayo clínico prospectivo longitudinal en 41 pacientes con queratitis infecciosa avanzada y úlcera corneal concomitante. Los ojos se sometieron a un tratamiento (PACK) -CXL con protocolo modificado de Dresden además de la terapia antimicrobiana. Los principales resultados fueron el tamaño de la úlcera corneal, su resolución, los procedimientos quirúrgicos y sus complicaciones. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Friedman, los valores de p inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

Resultados

La tasa de éxito en el tercer mes postoperatorio fue del 90,5% con 38 úlceras corneales resueltas. El tamaño de la úlcera en el primer día postoperatorio se incrementó ligeramente con respecto a su medida basal y posteriormente disminuyó. Cuatro ojos requirieron tratamiento quirúrgico (9.5%). La prueba de Friedman mostró un efecto significativo del (PACK) -CXL y la terapia antimicrobiana y una reducción estadísticamente significativa del tamaño de la úlcera corneal ($p < 0.00001$). No se produjeron complicaciones graves en el grupo PACK-CXL.

Conclusiones

El PACK-CXL puede ser una terapia adyuvante eficaz en el tratamiento de la queratitis infecciosa grave con una alta tasa de éxito, aunque se sugiere un ensayo controlado aleatorio para confirmar este hallazgo.

Palabras clave

PACK CXL; CXL; cross-linking corneal; úlcera corneal; queratitis infecciosa

introducción

La queratitis infecciosa se asocia con riesgo de discapacidad visual permanente y es una causa de pérdida visual devastadora en todo el mundo, especialmente en los países en vías de desarrollo. ¹⁻⁵

El tratamiento comprende antibioticoterapia de amplio espectro, pero si se retrasa, se estima que sólo el 50% de los ojos tendrá un buen resultado visual. La queratitis infecciosa que conduce a perforación corneal o endoftalmitis no es poco frecuente. ⁶

El cross-linking corneal (CXL) se ha propuesto para mejorar los resultados y la erradicación microbiana con pocos efectos adversos. Esta técnica se introdujo en la década de 1990 y ha emergido como tratamiento primario para las ectasias corneales. Es un técnica simple y menos invasiva que combina radiación ultravioleta y un cromóforo (riboflavina) para endurecer el tejido corneal mediante fotopolimerización de las fibras de colágeno. ⁷

El Cxl se ha propuesto como un método efectivo para tratar la queratitis infecciosa con base en las propiedades desinfectantes del cromóforo fotoactivado y la luz UVA. Los mecanismos de acción incluyen la inhibición de la replicación microbiana y el daño su

ADN y ARN, ^{8, 9} la intercalación del cromóforo entre los ácidos nucleicos, ¹⁰ el daño directo a la pared celular del patógeno, la oxidación de los residuos de ácidos nucleicos mediante especies reactivas de oxígeno, ^{11, 12} el incremento en la resistencia al daño enzimático y a los cambios en el ambiente de la superficie ocular de las fibras de colágeno ¹³ . Otras ventajas potenciales de la aplicación de UVA y riboflavina sobre los antibióticos incluyen la eliminación de la toxicidad de la superficie ocular, además de evitar el mal apego al tratamiento asociados con la necesidad de una administración frecuente de antibióticos y quizás un beneficio de la reducción de costos considerando el incremento progresivo en los precios de los antibióticos. ¹⁴

En el año 2000, Schnitzler et al informaron el uso de CXL para la estabilización de la lisis corneal no infecciosa en cuatro pacientes.¹⁵ Éste proceso se detuvo en tres de cuatro casos, lo que retrasó el tratamiento quirúrgico. Este primer ensayo mostró la eficacia de CXL en la estabilización biomecánica de córneas estructuralmente alteradas sin inducir ectasias. Estudios de casos adicionales sobre los efectos del tratamiento con CXL en lisis corneal mostraron resultados similares y demostraron ser efectivos no solo para la estabilización de este proceso sino también para eliminar a los diversos patógenos en queratitis complicada resistente a tratamiento ¹⁶⁻³⁹

Para alentar la exploración de diferentes aplicaciones del CXL y modificaciones al protocolo de Dresden el noveno congreso de CXL en 2013 estableció definiciones separadas para distinguir entre el CXL para ectasias corneales y el CXL para la queratitis infecciosa. Éste último se conoce como cromóforo fotoactivado para queratitis infecciosa (PACK por sus siglas en inglés) ^{8,22}

Describimos una serie de casos prospectivos e intervencionistas de ojos queratitis infecciosos resistentes a antibióticos que fueron tratados con (PACK) CXL más tratamiento antibiótico estándar en un centro de atención terciaria en la Ciudad de México.

Materiales y métodos

Los participantes fueron reclutados del Departamento de Córnea del Hospital de la Asociación para Evitar la Ceguera en México (Hospital de la Asociación Para Evitar La Ceguera en México, "Dr. Luis Sánchez Bulnes"), un centro de atención terciaria en la Ciudad de México, durante noviembre de 2014 a enero de 2015. El comité de ética del Hospital aprobó este estudio prospectivo de casos intervencionista.

Los pacientes elegibles para el estudio fueron sujetos adultos de ambos sexos (18 años o más) con queratitis infecciosa resistente a los antibióticos. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: enfermedad reumatológica conocida, perforación corneal o perforación corneal inminente, endoftalmitis y embarazo.

Todos los pacientes se sometieron a un examen oftalmológico completo, que incluyó, entre otros, agudeza visual no corregida (AVMC), examen de biomicroscopía con lámpara de hendidura, fundoscopia y presión intraocular. La gravedad de la queratitis se calificó mediante biomicroscopía con lámpara de hendidura y se registró el diámetro más largo de la úlcera en la presentación. Los pacientes se clasificaron según la presencia y el tamaño de la úlcera en 4 categorías: sin úlcera, úlcera menor a 3 mm, úlceras de 3 a 6 mm y úlcera mayor a 6 mm. La agudeza visual en valores LogMAR iguales o por debajo de cuenta dedos fueron registrados de la siguiente manera: cuenta dedos, 1.7; movimiento de manos 1.8; percepción de luz 1.9 y no percepción de luz 2.0. Un grosor mínimo del estroma corneal de 400 micras se consideró seguro en pacientes sometidos a CXL, la paquimetría se obtuvo por topografía con Pentacam Scheimpflug®.

Se obtuvieron hisopados corneales y el material se sometió a cultivo microbiológico estándar y a resultados de antibiograma. Durante el primer día los pacientes recibieron (PACK) - CXL con luz ultravioleta A y riboflavina bajo anestesia tópica. Según el protocolo modificado de Dresden, se administró solución de riboflavina al 0,1% a la

córnea cada minuto durante 15 minutos, seguido de exposición a luz UVA de 370 nm (3 mW / cm²) desde una distancia de 1 cm durante 30 minutos.

Después del tratamiento PACK-CXL, se irrigó el ojo con solución salina balanceada y se aplicó un “lente de contacto terapéutico” se administraron gotas de fluorometolona postoperatorias 4 veces al día durante 2 días y luego se redujeron a 3 veces al día durante una semana. Los pacientes recibieron gotas de antibiótico tópico de acuerdo con los resultados del antibiograma hasta la curación epitelial seguida de lágrimas artificiales. Aconsejamos a los pacientes que utilizaran gafas de protección UV. La AVMC, un examen con lámpara de hendidura y la escala de dolor se registraron los días 1, 7, 30 y 90. La variable de desenlace principal fue el tamaño de la úlcera.

En todos los pacientes se realizó una evaluación clínica detallada seguida de hisopados corneales. El material que se obtuvo se sometió a una evaluación estándar de microbiología.

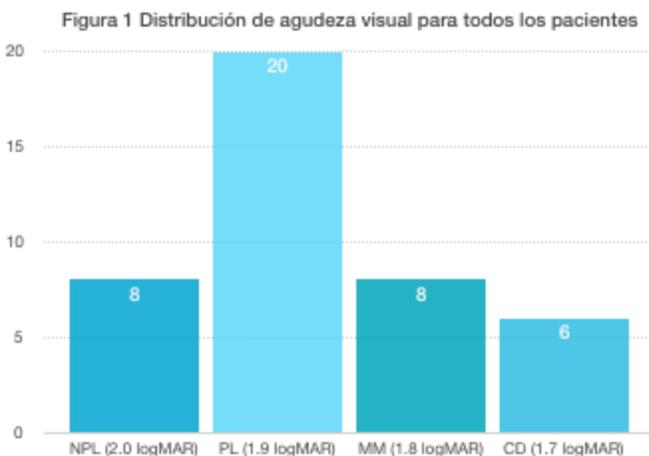
El tratamiento médico inicial se basó en monoterapia con fluoroquinolonas de cuarta generación y fue modificado según la respuesta clínica, el cultivo, la tinción de Gram y los resultados de susceptibilidad a antibióticos. Los antibióticos administrados a los pacientes fueron solución oftálmica de moxifloxacina al 0,5% (Vigamoxi®); solución oftálmica de levofloxacina al 0.5%, solución oftálmica de gatifloxacina al 0.5%, solución oftálmica de natamicina al 0.5% (Pimaricin®), solución oftálmica de netilmicina al 0.3% (Netira®), solución oftálmica de tobramicina al 0.3%, solución oftálmica de ceftazidima al 5%, solución de sulfacetamida al 10% solución oftálmica de cloranfenicol al 0,5% y / o solución oftálmica de voriconazol al 1% (Vozole®).

El análisis estadístico se realizó con IBM SPSS Statistics para Windows, Versión 24.0 Armonk, NY: IBM Corp. Se obtuvieron estadísticas descriptivas para determinar la frecuencia y las medidas de tendencia central y dispersión. La prueba de Friedman de una cola se utilizó para el análisis de varianza de medidas repetidas unidireccional por

rangos para evaluar diferencias en el tamaño de la úlcera desde el ingreso hasta el alta; tomando valores estadísticamente significativos como $p \leq 0.05$.

Resultados

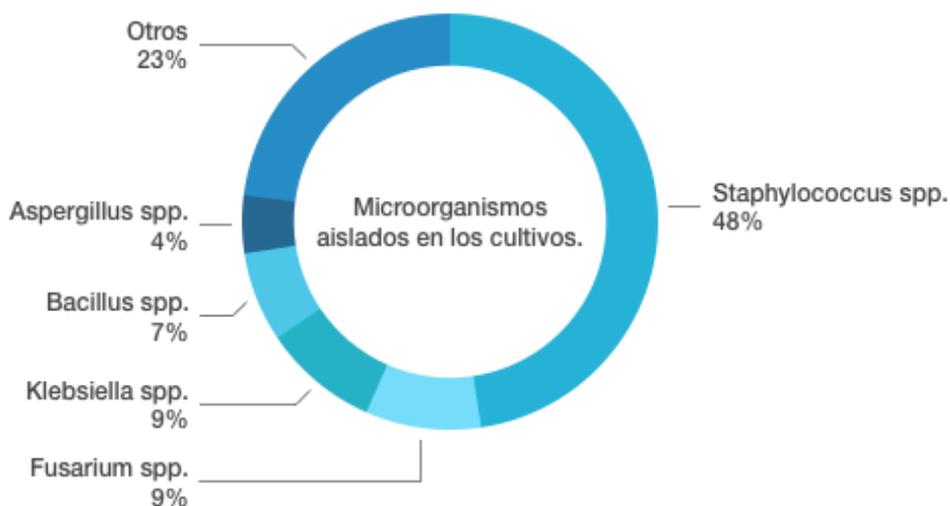
Un total de 42 ojos de 41 pacientes fueron incluidos en el estudio, 22 hombres (53.7%) y 19 mujeres (46.3%); 26 ojos fueron derechos (61.9%) y 16 izquierdos (38.1%). La agudeza visual media fue de $1.87 \text{ logMAR} \pm 0.09$ (rango, 1.70 a 2.00, equivalente de Snellen $\sim 20/1480$) 8 ojos sin percepción de luz 2.0 logMAR (19.0%), 20 ojos en percepción de luz 1.9 logMAR (47.6%), 8 pacientes a movimiento de manos 1.8 logMAR (19.0%) y 6 ojos en cuenta dedos 1.7 logMAR (14.3%). La distribución de las puntuaciones de agudeza visual para todos los pacientes se muestra en la Figura 1.



El cultivo fue negativo en 9 ojos (21.4%) pero reportó bacterias grampositivas en 19 ojos (45.2%), bacterias gramnegativas en 6 ojos (14.3%) y hongos en 8 ojos (19.0%). Se identificaron un total de 44 especies de bacterias y hongos en un total de 33 cultivos; 25 fueron cultivos puros (73.5%) y 9 fueron cultivos mixtos (26.5%). Staphylococcus spp. (47,7%), Fusarium spp. (9,1%), Klebsiella spp. (9,1%), Bacillus spp. (6,8%) y Aspergillus sp. (4.5%) fueron los microorganismos aislados más

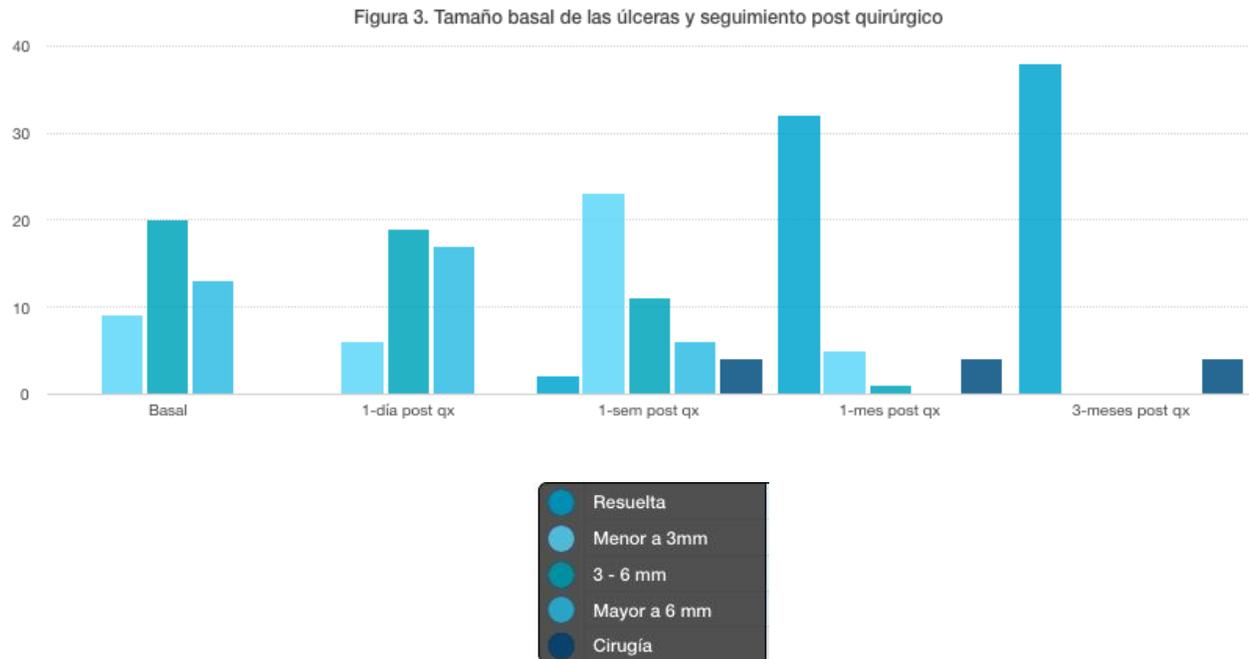
comunes. Las principales especies de estafilococos fueron *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* (Figura 2).

Figura 2 Microorganismas aislados en los cultivos



El tamaño inicial de la úlcera corneal fue más de 6 mm en 13 ojos (31.0%), de 3 a 6 mm en 20 ojos (47.6%) y menos de 3 mm en 9 ojos (21.4%). El tamaño de la úlcera corneal en el primer día postoperatorio fue de más de 6 mm en 17 ojos (40.5%), de 3 a 6 mm en 19 ojos (45.2%) e inferior a 3 mm en 6 ojos (14.3%). En la primera semana del postoperatorio, los tamaños de las úlceras fueron; mayor a 6 mm en 2 ojos (4,8%), de 3 a 6 mm en 11 ojos (26,2%), menor de 3 mm en 23 ojos (54,8%) y 0 mm (ausente) en 2 ojos (4,8%) mientras que 4 ojos se sometieron a cirugía (9,5%). Para el primer mes los tamaños de la úlcera fueron los siguientes; de 3 a 6 mm en 1 ojo (2,4%),

menos de 3 mm en 5 ojos (11,9%) y 0 mm (ausente) en 32 ojos (4,8%); ninguno de los ojos mostró una úlcera mayor a 6 mm (Figura 3).



La prueba de Friedman mostró un efecto significativo de (PACK) -CXL en el tamaño de la úlcera corneal y una reducción estadísticamente significativa desde el ingreso hasta el tercer mes postoperatorio ($F = 75.74$, $p < 0.00001$). Los rangos medios de las medidas iniciales y postoperatorias se describen en la Tabla 1. El tamaño de la úlcera en el primer día postoperatorio aumentó ligeramente desde la medida basal y luego disminuyó.

Finalmente, la tasa de éxito en el tercer mes postoperatorio fue del 90,5% con 38 úlceras corneales resueltas. Cuatro ojos requirieron cirugía (tasa de 9.5%), dos se sometieron a un trasplante corneal tectónico, uno se sometió a conjuntivoplastia (colgajo conjuntival) y uno fue eviscerado. Tres de estos ojos (tasa 75%) mostraron un aislamiento micótico en el cultivo del hisopado corneal. Estos datos se introdujeron en una tabla de 2 x 2 para el análisis de la asociación entre la lisis corneal micótica y la necesidad de cirugía, un Odds Ratio estadísticamente significativo (OR 25.50, IC 95%

2.12 - 307.28, $p = 0.011$) sugiere que puede ser considerado un posible factor de riesgo.

Descripción	Basal	1-día post qx	1-sem post qx	1-mes post qx	3-meses post qx
Resuelta	0	0	2	32	38
Menor a 3mm	9	6	23	5	0
3 - 6 mm	20	19	11	1	0
Mayor a 6 mm	13	17	6	0	0
Cirugía	0	0	4	4	4

Tabla 1 tamaños basales de las úlceras y seguimiento postquirúrgico

Discusión

Iseli y sus colegas pusieron en perspectiva clínica el uso de CXL para el tratamiento de la lisis corneal avanzada con los resultados de un ensayo clínico en casos de queratitis infecciosa resistente al tratamiento con lisis corneal¹⁶. La pequeña cohorte de cinco pacientes presentó una enfermedad que no respondía a la terapia antimicrobiana tópica y sistémica completa y se sometió a CXL; El proceso de lisis se detuvo en cuatro de cada cinco pacientes. Confirmaron los resultados anteriores de Schnitzler¹⁵ y colegas, y propusieron que el CXL podría ser eficaz en el tratamiento de las úlceras corneales infecciosas. Numerosas series de casos, dos ensayos de control aleatorizados^{22,41} y un metanálisis⁴² confirmaron estos hallazgos iniciales.

El protocolo (PACK) -CXL se describe heterogéneamente en la literatura, se aplica luz UVA convencional de 365 nm a 3 mW / cm² durante 15, 30 ó 45 minutos y la luz UVA acelerada de 9 mW / cm² durante 10 minutos. Nos adherimos al protocolo de Dresden modificado por Wolensack⁴⁰, que es el estándar en la mayoría de los centros con exposición a la luz UVA de 30 minutos.

Los microorganismos causales de queratitis infecciosa encontrados en nuestro estudio fueron similares a los reportados en la literatura donde las bacterias y los hongos son prominentes. No identificamos trofozoítos o quistes de *Acanthamoeba* en las tinciones de Gram, Giemsa-Wright o hematoxilina y eosina. Aunque otros autores han descrito la etiología viral (p. Ej., herpes virus), no lo investigamos en nuestro centro, ya que la evolución clínica de nuestros pacientes sugirió una causa bacteriana o fúngica y no teníamos los recursos de laboratorio para realizar pruebas específicas como los ensayos de inmunofluorescencia (IFA) o reacciones en cadena de polimerasa (PCR).

Papaioannou et al.⁴² informaron una tasa de curación del 87,2% (159 de 175 ojos) en una revisión sistemática y metaanálisis de 2 ensayos controlados aleatorios, 13 series de casos y 10 informes de casos; Encontramos una tasa similar en nuestro estudio. También observaron una baja tasa de éxito en infecciones fúngicas (78.1%), en nuestro centro encontramos una tasa aún más baja (62.5%). Este hallazgo es consistente con otros estudios⁴³⁻⁴⁵ donde los casos de queratitis bacteriana muestran alivio en los síntomas después del tratamiento con PACK-CXL, mientras que en los casos de queratitis micótica se observa una mejoría leve o nula. Por lo tanto, esto muestra que la eficacia del procedimiento PACK-CXL está relacionada con el agente causal y estos patrones pueden considerarse para decidir si usar este tratamiento y establecer un pronóstico.

Estos resultados confusos pueden deberse al hecho de que la mayoría de los estudios clínicos se realizaron en pacientes con formas resistentes de infecciones corneales; en

quienes se administró terapia antimicrobiana durante mucho tiempo, en casos en que las infecciones no se habían resuelto, habían progresado a etapas avanzadas y habían causado lesiones graves en la córnea. La aplicación tardía de PACK-CXL en la queratitis micótica puede explicar una gran reducción en la efectividad, una tasa de resolución más baja e incluso una falla en el tratamiento.

Se acumula evidencia suficiente para determinar la efectividad de PACK-CXL en comparación con el tratamiento antimicrobiano de la queratitis infecciosa. Los datos de nuestro estudio sugieren que PACK-CXL tiene un efecto positivo sobre la queratitis bacteriana, mientras que la evidencia sobre las infecciones por hongos no es del todo concluyente.

Se puede recomendar el uso de PACK-CXL debido al beneficio potencial que se puede obtener al controlar la infección independientemente de la resistencia a los medicamentos, detener el proceso de lisis, prevenir la queratoplastia de emergencia y disminuir la posibilidad de realizar injertos lamelares para rehabilitación visual.

A medida que aumenta la resistencia microbiana a los antibióticos, se necesitan nuevas líneas de tratamiento para reemplazarlos y, por lo tanto, el PACK-CXL puede ser una nueva modalidad de tratamiento alternativa prometedora. El CXL se desarrolló inicialmente para estabilizar el queratocono, y el protocolo de Dresde se propuso después de abundantes investigaciones de laboratorio que incluyeron ensayos con animales, para tratar córneas con trastornos ectásicos y proteger el endotelio evitando otras complicaciones. Al ser un protocolo seguro, este se utiliza cuando se aplica CXL a otras enfermedades y evita efectos posoperatorios indeseables

En conclusión, el PACK-CXL podría ser una terapia adyuvante eficaz de la queratitis infecciosa grave con una alta tasa de éxito. El procedimiento muestra mejores resultados en etiología bacteriana en comparación con la queratitis micótica. Se

requiere más investigación y se necesitan ensayos controlados aleatorizados que comparen casos con una gravedad similar causados por el mismo grupo de patógenos.

Referencias

1. Keay L, Edwards K, Naduvilath T, et al. Microbial keratitis: Predisposing factors and morbidity. *Ophthalmology*. 2006;113(1):109-116.
2. Bourcier T, Thomas F, Borderie V, Chaumeil C, Laroche L. Bacterial keratitis: predisposing factors, clinical and microbiological review of 300 cases. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(7):834-8.
3. Wong T, Ormonde S, Gamble G, McGhee CN. Severe infective keratitis leading to hospital admission in New Zealand. *Br J Ophthalmol*. 2003;87(9):1103-1108.
4. McLeod SD, LaBree LD, Tayyanipour R, Flowers CW, Lee PP, McDonnell PJ. The importance of initial management in the treatment of severe infectious corneal ulcers. *Ophthalmology*. 1995;102(12):1943-8.
5. Ibrahim YW, Boase DL, Cree I a. Epidemiological characteristics, predisposing factors and microbiological profiles of infectious corneal ulcers: the Portsmouth corneal ulcer study. *Br J Ophthalmol*. 2009;93(10):1319-24.
6. Jones DB. Decision-making in the management of microbial keratitis. *Ophthalmology*. 1981;88(8):814-20.
7. Randleman JB, Khandelwal SS, Hafezi F. Corneal cross-linking. *Surv Ophthalmol*. 2015;60(6):509-523.
8. Tabibian D, Richoz O, Hafezi F. PACK-CXL: Corneal Cross-linking for Treatment of Infectious Keratitis. *J Ophthalmic Vis Res*. 10(1):77-80.
9. Goodrich RP. The use of riboflavin for the inactivation of pathogens in blood products. *Vox Sang*. 2000;78 Suppl 2:211-5.
10. Naseem I, Ahmad M, Hadi SM. Effect of alkylated and intercalated DNA on the generation of superoxide anion by riboflavin. *Biosci Rep*. 1988;8(5):485-92.

11. Kumari M V, Yoneda T, Hiramatsu M. Scavenging activity of "beta catechin" on reactive oxygen species generated by photosensitization of riboflavin. *Biochem Mol Biol Int.* 1996;38(6):1163-1170.
12. Kumar V, Lockerbie O, Keil SD, et al. Riboflavin and UV-light based pathogen reduction: extent and consequence of DNA damage at the molecular level. *Photochem Photobiol.* 2004;80(1):15-21.
13. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res.* 2004;29(1):35-40.
14. Letko E. Collagen Crosslinking for Corneal Infection. *Refract eyecare.* 2012;16(7):1-3.
15. Schnitzler E, Spörl E, Seiler T. [Irradiation of cornea with ultraviolet light and riboflavin administration as a new treatment for erosive corneal processes, preliminary results in four patients]. *Klin Monbl Augenheilkd.* 2000;217(3):190-3.
16. Iseli HP, Thiel M a, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T. Ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking for infectious keratitis associated with corneal melts. *Cornea.* 2008;27(5):590-594.
17. Makdoui K, Mortensen J, Crafoord S. Infectious keratitis treated with corneal crosslinking. *Cornea.* 2010;29(12):1353-1358.
18. Galperin G, Berra M, Tau J, Boscaro G, Zarate J, Berra A. Treatment of fungal keratitis from fusarium infection by corneal cross-linking. *Cornea.* 2012;31(2):176-180.
19. Alio JL, Abbouda A, Valle D, del Castillo JM, Fernandez JA. Corneal cross linking and infectious keratitis: a systematic review with a meta-analysis of reported cases. *J Ophthalmic Inflamm Infect.* 2013;3(1):47.
20. Hellander-Edman A, Makdoui K, Mortensen J, Ekestén B. Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis. *BMC Vet Res.* 2013;9(1):128.

21. Pot SA, Gallhöfer NS, Matheis FL, Voelter-Ratson K, Hafezi F, Spiess BM. Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: Results of a prospective, nonrandomized, controlled trial. *Vet Ophthalmol.* 2014;17(4):250-260.
22. Said DG, Elalfy MS, Gatziofas Z, et al. Collagen cross-linking with photoactivated riboflavin (PACK-CXL) for the treatment of advanced infectious keratitis with corneal melting. *Ophthalmology.* 2014;121(7):1377-82.
23. Zhang Z. Corneal Cross-linking for the Treatment of Fungal Keratitis. *Cornea.* 2013;32(2):217-218.
24. Vinciguerra R, Rosetta P, Romano MR, Azzolini C, Vinciguerra P. Treatment of refractory infectious keratitis with corneal collagen cross-linking window absorption. *Cornea.* 2013;32(6):e139-40.
25. Vazirani J, Vaddavalli PK. Cross-linking for microbial keratitis. *Indian J Ophthalmol.* 2013;61(8):441-4.
26. Sorkhabi R, Sedgipoor M, Mahdavifard A. Collagen cross-linking for resistant corneal ulcer. *Int Ophthalmol.* 2013;33(1):61-66.
27. Saçlık A, Uçakhan OO, Kanpolat A. Ultraviolet A and riboflavin therapy as an adjunct in corneal ulcer refractory to medical treatment. *Eye Contact Lens.* 2013;39(6):413-5.
28. Richoz O, Gatziofas Z, Hafezi F. Corneal Collagen Cross-Linking for the Treatment of Acanthamoeba Keratitis. *Cornea.* 2013;32(10):e189.
29. Mattila JS, Korsbäck A, Krootila K, Holopainen JM. Treatment of Pseudomonas aeruginosa keratitis with combined corneal cross-linking and human amniotic membrane transplantation. *Acta Ophthalmol.* 2013;91(5):e410-1.
30. Li Z, Jhanji V, Tao X, Yu H, Chen W, Mu G. Riboflavin/ultraviolet light-mediated crosslinking for fungal keratitis. *Br J Ophthalmol.* 2013;97(5):669-71.

31. Berra M, Galperín G, Boscaro G, et al. Treatment of Acanthamoeba keratitis by corneal cross-linking. *Cornea*. 2013;32(2):174-8.
32. Arance-Gil A, Gutierrez-Ortega AR, Villa-Collar C, Nieto-Bona A, Lopes-Ferreira D, Gonzalez-Méijome JM. Corneal cross-linking for Acanthamoeba keratitis in an orthokeratology patient after swimming in contaminated water. *Contact Lens Anterior Eye*. 2014;37(3):224-227.
33. Wong RLM, Gangwani RA, Yu LWH, Lai JSM. New treatments for bacterial keratitis. *J Ophthalmol*. 2012;2012.
34. Price MO, Tenkman LR, Schrier A, Fairchild KM, Trokel SL, Price FW. Photoactivated riboflavin treatment of infectious keratitis using collagen cross-linking technology. *J Refract Surg*. 2012;28(10):706-13.
35. Panda A, Krishna SN, Kumar S. Photo-Activated Riboflavin Therapy of Refractory Corneal Ulcers. *Cornea*. 2012;31(10):1210-1213.
36. Müller L, Thiel MA, Kipfer-Kauer AI, Kaufmann C. Corneal cross-linking as supplementary treatment option in melting keratitis: A case series. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2012;229(4):411-415.
37. Makdoui K, Mortensen J, Sorkhabi O, Malmvall BE, Crafoord S. UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: A pilot study. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2012;250(1):95-102.
38. Del Buey MA, Cristóbal JA, Casas P, et al. Evaluation of in vitro efficacy of combined riboflavin and ultraviolet A for Acanthamoeba isolates. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(3):399-404.
39. Bettis DI, Hsu M, Moshirfar M. Corneal collagen cross-linking for nonectatic disorders: a systematic review. *J Refract Surg*. 2012;28(11):798-807.
40. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):620-7.

41. Bamdad S, Malekhosseini H, Khosravi A. Ultraviolet A/Riboflavin Collagen Cross-Linking for Treatment of Moderate Bacterial Corneal Ulcers. *Cornea*. 2015;34(4):402-406.
42. Papaioannou L, Miligkos M, Papathanassiou M. Corneal Collagen Cross-Linking for Infectious Keratitis. *Cornea*. 2016;35(1):62-71.
43. Escarião ACSL, Ribeiro ES, Jorge PA, Leite ECS, Brandt CT. Therapeutic effect of corneal crosslinking on infectious keratitis. *Rev Bras Oftalmol*. 2013;(72):366-372.
44. Vajpayee RB, Shafi SN, Maharana PK, Sharma N, Jhanji V. Evaluation of corneal collagen cross-linking as an additional therapy in mycotic keratitis. *Clin Exp Ophthalmol*. 2015;43(2):103-107.
45. Uddaraju M, Mascarenhas J, Das MR, et al. Corneal Cross-linking as an Adjuvant Therapy in the Management of Recalcitrant Deep Stromal Fungal Keratitis: A Randomized Trial. *Am J Ophthalmol*. 2015;160(1):131-134.e5.