

11234 41
2eje.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO DE
LA FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA
FUNDACION CONDE DE VALENCIANA

TRATAMIENTO DE QUERATITIS BACTERIANA
EXPERIMENTAL CON OFLOXACINA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
O F T A L M O L O G O
P R E S E N T A

DR. DIEGO ALBERTO MARIN SANCHEZ

MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE COPIA

MCMXCI



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 está 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.

**TRATAMIENTO DE QUERATITIS BACTERIANA
EXPERIMENTAL CON OFLOXACINA**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE OFTALMOLOGO
PRESENTA
DR. DIEGO ALBERTO MARIN SANCHEZ**

**ANTE LA DIVISION DE ESTUDIOS DE
POSTGRADO DE LA FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA
FUNDACION CONDE DE VALENCIANA**

MEXICO, D.F. MCMXCI

INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA

FUNDACION CONDE DE VALENCIANA



DR. JOSE LUIS TOVILLA Y POMAR
DIRECTOR MEDICO



DR. DAVID LOZANO RECHY
JEFE DE ENSEÑANZA



DR. ALEJANDRO CLIMENT F.
ASESOR DE TESIS



ESTA TESIS QUEDO REGISTRADA EN EL

INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA

FUNDACION CONDE DE VALENCIANA

Y FUE REVISADA Y APROBADA POR EL EL JEFE DE ENSEÑANZA

DR. DAVID LOZANO RECHY

DEDICO ESTA OBRA A MI SEÑORA MADRE

ALBA LUCIA SANCHEZ DE MARIN

POR SU ENTRAÑABLE AMOR

POR SU EJEMPLO DE TENACIDAD Y FE

QUE CONTINUARAN SIENDO EL CAMINO A SEGUIR

DONDE TE ENCUENTRES

QUE DIOS TE BENDIGA

A MI FAMILIA:

**POR APOYARME INCONDICIONALMENTE AUN EN
TIEMPOS DIFÍCILES, A PESAR DE LA DISTANCIA**

**AL DR. ARTURO ESPINOSA VELASCO:
POR HABER CREIDO Y CONFIADO EN MI**

**A MIS MAESTROS:
POR SUS CONSEJOS Y ENSEÑANZAS**

**A MIS COMPAÑEROS:
POR LA AMISTAD QUE NOS UNE**

PROTOCOLO DE INVESTIGACION

TITULO:

**"TRATAMIENTO DE QUERATITIS BACTERIANA EXPERIMENTAL
CON OFLOXACINA TOPICA 0.3%"**

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

**DR. DIEGO ALBERTO MARIN SANCHEZ
MEDICO Y CIRUJANO
UNIVERSIDAD DEL VALLE (CALI-COLOMBIA)
RESIDENTE DE OFTALMOLOGIA
INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA "FUNDACION CONDE DE VALENCIANA"**

ASESOR DE LA INVESTIGACION:

**DR. ALEJANDRO O. CLIMENT FLORES
JEFE DE MICROBIOLOGIA OCULAR
INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA "FUNDACION CONDE DE VALENCIANA"**

SEDE:

**INSTITUTO DE OFTALMOLOGIA "FUNDACION CONDE DE VALENCIANA"
Ubicado en la calle de Chimalpopoca #14 Colonia Obrera.
Mexico D.F.**

INDICE

<u>1.- INTRODUCCION</u>	9
<u>2.- MARCO TEORICO</u>	10-12
2.1 DEFINICION DEL PROBLEMA	
2.2 ANTECEDENTES	
<u>3.- JUSTIFICACION</u>	13
<u>4.- OBJETIVOS</u>	14
4.1 OBJETIVO GENERAL	
4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	
<u>5.- DISEÑO DE LA INVESTIGACION</u>	15
5.1 TIPO DE INVESTIGACION	
5.2 VARIABLES	
5.3 GRUPO DE ESTUDIO	
<u>6.- MATERIAL Y METODOS</u>	16-17
<u>7.- RESULTADOS</u>	18-20
7.1 TABLA 1	
7.2 TABLA 2	

<u>8-</u>	<u>VALIDACION DE DATOS</u>	21
<u>9-</u>	<u>DISCUSION</u>	22
<u>10-</u>	<u>CONCLUSIONES</u>	23
<u>11-</u>	<u>SUMMARY</u>	24
<u>12-</u>	<u>BIBLIOGRAFIA</u>	25-26

1.0 INTRODUCCION

Las cicatrices corneales son la mayor causa de ceguera en muchos países en desarrollo, siendo la mayoría causadas por agentes infecciosos. Ya que las infecciones corneales bacterianas, pueden ser tratadas con los antibióticos apropiados; estas cicatrices corneales pueden ser prevenidas.

Estudios de diferentes países en desarrollo incluido México, reportan una alta incidencia de bacterias patógenas aisladas de úlceras corneales; el éxito del tratamiento depende de muchos factores como sensibilidad bacteriana, concentración de antibióticos, penetración del antibiótico y defensas del huésped.

Datos experimentales han establecido que después de aplicación tópica, se pueden lograr niveles terapéuticos de quinolonas en la película lagrimal y cámara anterior; sin embargo en la literatura solo aparecen escasos reportes de Ofloxacina en el tratamiento de queratitis experimental por *Pseudomonas* y *S. aureus*.

2.0 MARCO TEORICO

2.1 DEFINICION DEL PROBLEMA:

La queratitis bacteriana representa una seria amenaza para la función visual y por lo tanto se constituye en una urgencia oftalmológica. El ojo cuenta con diferentes mecanismos de defensa (1); en primera línea tenemos el epitelio corneal que sirve como barrera natural a los microorganismos (excepto a Neisserias, Corynebacterium y Listeria), la secreción lagrimal además de ejercer una función mecánica de barrido, posee propiedades antibacterianas conferidas por las enzimas e inmunoglobulinas contenidas en ella. Sin embargo, estos mecanismos pueden ser superados y los gérmenes lograr acceso para desarrollar infecciones. Al haber una lesión del epitelio corneal quedan expuestas capas mas profundas (Membrana de Bowman y estroma corneal) en las cuales se puede alojar un germen, persistiendo e incrementando la lesión epitelial, lo cual genera a una úlcera corneal; cuando el germen logra acceso al estroma y el epitelio sana, el cuadro se denomina un absceso estromal. Ambos cuadros clínicos se encasillan en el diagnóstico de queratitis infecciosa.

Las úlceras corneales pueden tener etiología múltiple, desde deficiencias de lubricación, exposición, secundaria a procesos inflamatorios de diversa índole, autoinmunes, asociados a enfermedad sistémica, ó infecciosas (bacterianas, micóticas, virales y parasitarias).

Entre las úlceras corneales infecciosas, las bacterianas son las mas frecuentes (5) en nuestro medio los gérmenes más comunmente aislados son: Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus epidermis patógeno y Streptococcus pneumoniae; en población de riesgo como la constituyen los usuarios de lentes de contacto blandos y especialmente de uso prolongado (3), el agente patógeno principal es Pseudomonas aeruginosa (2), especialmente en corneas no comprometidas (esto es sin uso de inmunosupresores o enfermedad corneal subyacente); dicho germen es uno de los más agresivos encontrándose clínicamente gran cantidad de lisis y frecuentemente perforación corneal (2,5).

En infecciones oculares de tipo oportunista el *S. aureus* es el germen causal mas frecuente (2,6,17). Estos procesos infecciosos corneales constituyen una amenaza seria para la visión, bien sea por el mismo proceso inflamatorio que origina pérdida de transparencia corneal, o por la posibilidad de extensión intraocular con las catastróficas secuelas que usualmente se presentan; por lo que este tipo de patologia debe ser considerado como una urgencia en oftalmología

2.2 ANTECEDENTES

La actividad antibacteriana de las quinolonas se atribuye a la inhibición de la subunidad A de la enzima DNA girasa, una topoisomerasa tipo II la cual controla la replicación de DNA en la bacteria; la Ofloxacin puede tener un mecanismo adicional que posiblemente involucra la inhibición de la subunidad B de esta enzima. La inhibición de topoisomerasas eucarióticas podria conferir propiedades mutagénicas a las quinolonas pero estudios *in vitro* e *in vivo* no han probado este potencial mutagénico.

La Ofloxacin es una quinolona fluorinada de nueva generación, estructuralmente relacionada con el ácido Nalidixico, con amplio espectro de actividad antibacteriana contra gram positivos y gram negativos; la concentración inhibitoria mínima (CIM 90) para Ofloxacin se reporta entre 0.05 y 25 mg/l, y contra *Pseudomonas* entre 0.5 a 16 mg/l, después de su administración via oral alcanza rapidamente su pico de concentración sérica y altas concentraciones en fluidos corporales (18).

El medio de cultivo, tamaño del inóculo o suero tienen poca influencia en la actividad de Ofloxacin; pero la reducción del pH o la presencia de orina sí disminuyen su actividad, la resistencia antibacteriana a medicamentos no-quinolonas parece no influir sobre la actividad antibacteriana, pero en cepas resistentes el ácido nalidixico se ha reportado disminución de su actividad.

Después de una dosis única de Ofloxacina de 100 a 600 mg en sujetos sanos el 70-98% del medicamento fué eliminado por orina sin alteraciones en 48 horas, pequeñas cantidades de desmetil ofloxacin y N-óxido ofloxacin han sido detectadas en algunos sujetos; el tiempo medio de eliminación después de una dosis de 200 mg fué de 6 horas o mayor (tope 7.5 hs), su farmacocinética se altera en pacientes con nefropatías retardando el pico sérico de concentración y aumentando el tiempo medio de eliminación dependiendo de la gravedad de la alteración renal, por lo cual en estos pacientes se debe realizar un ajuste de dosis.

Después de su administración tópica, los niveles detectados en lagrimeceden por mucho la concentración inhibitoria mínima (CIM 90) aún después de 4 horas (4) y la concentración sérica es aproximadamente 1000 veces menor que la reportada después de una dosis oral usual (300 mg); adicionalmente se ha demostrado por Matsumoto et al, que es un medicamento seguro para el epitelio ya que no afecta su proceso de cicatrización.

3.0 JUSTIFICACION

Ante el peligro que representan las infecciones corneales bacterianas, especialmente si consideramos la creciente aparición de cepas bacterianas resistentes a las modalidades terapéuticas convencionales (7,13) y una demanda progresiva del uso de lentes de contacto de uso prolongado lo cual incrementa el número de sujetos a riesgo (3,6,16,21), la necesidad de encontrar nuevos agentes anti-infecciosos se hace más imperiosa.

Diferentes autores han planteado para el tratamiento de queratitis bacteriana, el uso de lentes de contacto de colágeno (7,8,11,12,20), iontoforesis de medicamentos (13,14) y el uso tópico frecuente de colirio antibiótico (9,10)

Dentro del arsenal terapéutico, las quinolonas surgen como alternativa en el tratamiento de infecciones por gérmenes que se conocen como agresivos y con facilidad de desarrollar resistencia a antibióticos (7,14).

Estudios recientes han evaluado la absorción sistémica de Ofloxacin tópica y su biodisponibilidad en la película lagrimal encontrando que los niveles sistémicos son extremadamente bajos así como su potencial de producir efectos secundarios; además los niveles encontrados en lagrime son altos lo cual puede contribuir a una mejor efectividad clínica (4); en modelos animales se ha reportado efectividad contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en modelos sensibles y resistentes a tobramicina (7,13,15).

4.0 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad de Ofloxacin t3pica al 0.3% como medicamento 3nico en el tratamiento de queratitis experimental por *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 1.- Evaluar la susceptibilidad de *S. aureus* y de *Ps. aeruginosa* a Ofloxacin t3pica 0.3% mediante cuantificaci3n bacteriana pre y postratamiento.
- 2.- Evaluar la evoluci3n cl3nica de los grupos tratados con Ofloxacin vs los tratados con placebo.

5.0 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

5.1 TIPO DE INVESTIGACION: EXPERIMENTAL

5.2 VARIABLES:

La variable principal a tomar en cuenta es la cuantificación bacteriana en el tejido al terminar el periodo de tratamiento; dentro de material y métodos se especifica la manera en que se realizó dicha medida.

5.3 GRUPO DE ESTUDIO

Se incluyeron 16 conejos sanos de raza Nueva Zelanda Blancos con peso entre 2.5 y 3.0 kg, del bioterio del Instituto de Oftalmología. Se excluyeron conejos en los cuales no se logró inducir queratitis bacteriana, o en los que se perforó la córnea durante el inóculo; una vez dentro del grupo de estudio no se eliminó ningún sujeto.

Los 16 sujetos se distribuyeron en 4 grupos a saber:

Grupo 1: Infectados con *S. aureus* que recibieron solución salina balanceada tópica cada 30 minutos.

Grupo 2: Infectados con *S. aureus* que recibieron Ofloxacina 0.3% tópica cada 30 minutos.

Grupo 3: Infectados con *Ps. aeruginosa* que recibieron solución salina balanceada tópica cada 30 minutos.

Grupo 4: Infectados con *Ps. aeruginosa* que recibieron Ofloxacina 0.3% tópica cada 30 minutos.

6.0 MATERIAL Y METODOS

Se tomó muestra de una cepa conocida tanto de *S. aureus* como de *Ps. aeruginosa*; para incubarlas en caldo de tripticasa de soya (cts) durante 24 horas a 37 C, y posteriormente se realizó centrifugación a 2000 rpm durante 1 minuto; para cada cepa se realizó lavado de la masa bacteriana resuspendiendo el sedimento en 3 ml de solución buffer (sb), y centrifugándolo de nuevo (este procedimiento se repitió 3 ocasiones). Después del lavado se suspendió nuevamente la masa bacteriana en 3 ml de sb y se midió densidad óptica (d.o) a una longitud de onda de 520 nm, obteniendo el valor que corresponde a su transmitancia; posteriormente se realizaron diluciones sucesivas en logaritmo de 10, tomando de cada dilución, una muestra de 0.1 ml para cultivar en agar sangre (10 cajas) distribuyendola con varilla de vidrio estéril; de tal manera que cada caja tenía una concentración 10 veces menor que la previa y 10 veces mayor que la siguiente. Las cajas se incubaron por 24 horas a 37 grados centígrados cuantificando ópticamente la caja con menor número de unidades formadoras de colonias (ufc). Utilizando el método de regresión logarítmica se realizó el cálculo de la concentración bacteriana en la dilución inicial a la longitud de onda y densidad óptica previamente anotadas.

Como sujetos experimentales se utilizaron 16 conejos Nueva Zelanda Blancos sanos del bioterio del Instituto de Oftalmología, con un peso entre 2.5 y 3.0 kg; los conejos se anestesiaron con inyección intramuscular de clorhidrato de ketamina (30 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg), se les realizó membranectomía nictitante, y con aguja número 30 se hizo inóculo intraestromal de 50.000 ufc (calculado de la suspensión inicial) en ojo derecho de una cepa de *S. aureus* o de *Ps. aeruginosa* (8 conejos por cada bacteria); aleatoriamente se escogieron la mitad para tratamiento tópico con Ofloxacina 0.3% cada 30 minutos, y la otra mitad sirvió como control y recibió solución salina balanceada (ssb) tópica cada 30 minutos (placebo); el tratamiento se inició 24 horas después del inóculo y se aplicó durante 24 horas.

La evolución clínica se documentó fotográficamente. Al finalizar el período de tratamiento los animales fueron sacrificados utilizando dosis letal de pentobarbital. Se extrajeron los botones corneales con trépano de 7.5 mm (todos se obtuvieron dentro de la primera hora de haber sido sacrificado el animal); los botones se homogeneizaron en 3 ml de sb y se realizaron cultivos cuantitativos los cuales se leyeron a las 24 horas de incubación a 37 C, los que en este tiempo fueron negativos se continuaron incubando hasta completar 48 horas para la lectura definitiva.

7.0 RESULTADOS

La concentración de bacterias obtenida después del lavado de la masa bacteriana (previo al inóculo) fue de $80 \times 10(10)$ ufc/ml; por lo que fue necesario hacer el cálculo de la dilución necesaria para obtener una concentración de $50 \times 10(3)$ ufc en 0.05 ml (que fue el volumen del inóculo intraestromal).

Después de 24 horas de tratamiento la cuantificación bacteriana en los botones fue:

Grupo 1: $28.54 \times 10 (4)$ ufc/boton y 100% de cultivos positivos.

Grupo 2: $52.27 \times 10(2)$ ufc/boton y 75% de cultivos positivos.

Grupo 3. $24.22 \times 10(10)$ ufc/boton y 100% de cultivos positivos

Grupo 4: 100% de cultivos negativos después de 48 horas.

La evolución clínica fue la siguiente:

Grupo 1: 100% con infiltración mayor de 1 cuadrante pero sin descemetocele o perforación.

Grupo 2: 100% con infiltración menor de 1 cuadrante sin complicaciones.

Grupo 3: Infiltración total de córnea 100% descemetocele 50% y perforación 25%

Grupo 4: Infiltración menor o igual a 3 cuadrantes 75%; infiltración total y descemetocele 25%

CUANTIFICACION BACTERIANA POST-TRATAMIENTO

TABLA No. 1

S. aureus

	Control (ufc)	Ofloxacina (ufc)
1.	0.42×10^4	Neg.
2.	79.2×10^4	11.9×10^3
3.	6×10^4	3×10^3
4.	28.6×10^4	6×10^3
Promedio	28.54×10^4	5.22×10^3
P > 0.05		

CUANTIFICACION BACTERIANA POST-TRATAMIENTO

TABLA No. 2

Ps. aeruginosa.

	Control (ufc)	Ofloxacina
1.	0.81×10^7	Neg.
2.	69×10^{10}	Neg.
3.	12×10^{10}	Neg.
4.	15×10^{10}	Neg.
Promedio	24.22×10^{10}	Neg.
$P < 0.005$		

3.9 VALIDACION DE DATOS

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de chi cuadrado con corrección de Yates.

El conteo bacteriano en el grupo de *Ps. aeruginosa* tratado con Ofloxacin tópica 0.3% presentó una disminución estadísticamente significativa al compararlo con el grupo infectado con *Ps. aeruginosa* que recibió placebo ($p < 0.005$).

La disminución del conteo bacteriano en el grupo de *S. aureus* tratado con Ofloxacin tópica 0.3% al compararlo con el grupo control, no evidenció significancia estadística ($p > 0.05$)

9.0 DISCUSION

El éxito en el tratamiento de queratitis bacteriana, depende de muchos factores que incluyen la susceptibilidad del germen, la concentración del antibiótico, tiempo de contacto del medicamento con la superficie corneal, penetración y biodisponibilidad, así como los mecanismos de defensa del huésped.

Datos experimentales han establecido que las quinolonas y en especial la Ofloxacin alcanzan niveles terapéuticos adecuados en la película lagrimal después de aplicación tópica, superiores a la CIM 90 (4); además diferentes autores como Hobden y Rootman (7,14) han encontrado en estudios in vitro e in vivo, que las quinolonas son efectivas contra diversas cepas de *Ps. aeruginosa*; Gritz (15) reporta alta sensibilidad a la Ofloxacin.

El presente estudio mostró una disminución bacteriológica significativa en el grupo de *S. aureus*, lo cual está en desacuerdo con lo encontrado por autores como Monk, quien reporta mayor sensibilidad de cepas de *S. aureus* (18); clínicamente aunque en el grupo de *Ps. aeruginosa* tratado con Ofloxacin hubo mucho menor incidencia de complicaciones (25% descemetocele y ninguna perforación) que en el grupo control, se presentó opacidad estromal por infiltración en el 100% de los casos; posiblemente debido a un inóculo bacteriano grande o tiempo prolongado entre el inóculo y el comienzo del tratamiento; sin embargo éstos parámetros fueron tomados de modelos experimentales previos (8).

Llama la atención la pobre evolución tanto clínica como bacteriológica en el grupo infectado con *S. aureus* ya que la mayoría de reportes coinciden en encontrar buena respuesta al tratamiento con quinolonas y en especial con Ofloxacin.

10.0 CONCLUSIONES

Nuestros resultados confirman que la aplicación tópica frecuentemente de antibiótico es un buen esquema para el tratamiento de queratitis bacteriana, lográndose la inhibición del crecimiento tisular en cepas sensibles, a las 24 horas de tratamiento.

Después de utilizar Ofloxacin tópica 0.3%, hubo decremento en la cuantificación bacteriana tisular tanto para *S. aureus* como para *Ps. aeruginosa*, sin embargo solo fué estadísticamente significativo en el grupo de *Ps. aeruginosa* al compararlo con el control.

En el grupo de *S. aureus*, los sujetos tratados con Ofloxacin tópica 0.3%, mostraron solo una leve mejoría después de 24 horas, al compararlo con aquellos no tratados.

En todas las córneas infectadas con *Ps. aeruginosa* se presentó opacidad estromal importante; sin embargo los ojos tratados con Ofloxacin 0.3% después de 24 horas, no desarrollaron complicaciones corneales como descemetocèle o perforación, lo cual implica una evolución clínica favorable con un mejor pronóstico anatómico y funcional.

11.0 SUMMARY

To study the effectiveness of Ofloxacin 0.3% drops as only drug for the treatment of experimental infectious keratitis (IK);

Sixteen New Zealand albino rabbits were intrastromally inoculated with 50×10^3 cfu of *Staphylococcus aureus* or *Pseudomonas aeruginosa* strains. After 24 hours of inoculation the animals were randomly assigned on topical Ofloxacin 0.3% every 30 minutes during 24 hr. or in control group. Photographs were sacrificed and corneal specimens were obtained.

The tissue was homogenized and quantitative cultures were done (logarithmic regression method). The *Staphylococcus* group with placebo treatment presented a worse clinical and bacteriological evolution with a media bacteriological count (MBC) of 28.54×10^4 cfu as compared with the *Staphylococcus* Ofloxacin 0.3% treatment group where the MBC was 52.27×10^2 cfu. ($p > 0.05$). The *Pseudomonas* control group developed the worst clinical and bacteriological response with 100% of stromal infiltration and in 50% of the cases descemetocoele or corneal perforation were developed. The MBC for this group was 24.22×10^{10} cfu per corneal sample. In the group with Ofloxacin treatment the clinical evolution was similar but without corneal complications as descemetocoele or perforation. The cultures were negative after 72 hs. ($P < 0.05$). The results were statistically analyzed using Chi sq. with Yates correction. The study showed in the *Ps. aeruginosa* Ofloxacin treatment group a significant decrease in bacteriological count and clinical improvement without serious complications. In the experimental *Staphylococcus* corneal ulcers group the use Ofloxacin did not show an important decrease in the colony counts or clinical improvement.

12.0 BIBLIOGRAFIA

- 1.- Abbot RL, Abrams MA. Bacterial corneal ulcers. In Tasman W, Jaeger EA (Eds) Clinical Ophthalmology vol 4 cap. 18. Philadelphia, Lippincott 1993.
- 2.- Stern GA, Lubniewski A, Allen C. Interaction Between *Pseudomonas aeruginosa* and the corneal epithelium. Arch. Ophthalmol. 1985;103:1221-225
- 3.- Adams CP Jr, Cohen EJ, Laibson PR, Galentine P, Arentsen JJ. Corneal ulcer in patients with cosmetic extended wear contact lenses. Am. J. Ophthalmol 1983;96:705-709
- 4.- Borrmann L, Tang-Liu DD, Kann J, Nista J, Lin ET, Frank J. Ofloxacin in human serum, urine and tear film after topical application. Cornea 1992;11:226-30
- 5.- Smolin G, Thoft RA. Bacterial keratitis and conjunctivitis. In The Cornea. Little Brown Third Edition. 1994;5:115-67
- 6.- Cohen EJ, Laibson PR; Arentsen JJ, and Clemons CS. Corneal ulcers associated with cosmetic extended wear soft contact lenses. Ophthalmology 1987;94:109
- 7.- Hobden JA., Reidy JJ, O'Callaghan RJ, Insler MS, Hill JM. Quinolones in collagen shield to treat aminoglycoside-resistant pseudomonal keratitis. Invest. Ophthalmol. 1990;31:2241-43
- 8.- Silbiger J, Stern GA: Evaluation of Corneal collagen shields as a drug delivery device for the treatment of experimental *Pseudomonas* keratitis. Ophthalmology 1992;99:889-892
- 9.- Davis SD, Sarff LD, Hyndiuk RA. Comparison of therapeutic routes in experimental *Pseudomonas* Keratitis. Am j. Ophthalmol 1979;87:710-16
- 10.- Cagle GD, Davis S, Rosenthal A, Smith J. Topical tobramycin and gentamicin sulfate in the treatment of ocular infections: multicenter study. Current eye research. 1982;1:523-28
- 11.- O'Brien TP, Sawusch MR, Dick JD, Hamburg TR, Gottsch JD. Use of collagen corneal shields versus soft contact lenses to enhance penetration of topical tobramycin. J. Cataract Refract Surg. 1988;14:505-7

- 12- Unterman JR, Rootman DS, Hill JM, Parelman JJ, Thompson HW, Kaufman HE. Collagen shield drug delivery: Therapeutic concentrations of tobramycin in the rabbit cornea and aqueous humor. *J. Cataract Refract Surg* 1988;14:500-3
- 13- Hubden JA, Reidy JJ, O'callaghan RJ, Insler MS, Hill JM. Ciprofloxacin Iontophoresis for aminoglycoside-resistant pseudomonal Keratitis. *Invest Ophthalmol* 1990;31:1940-44
- 14- Rootman DS, Hobden Ja, Jantzen JA, Gonzale< JR, O'Callaghan RJ, Hill JM. Iontophoresis of tobramycin for the treatment of experimental Pseudomonas keratitis in the rabbit. *Arch. Ophthalmol* 1988;106:262-6
- 15- Gritz DC, Mc Donell PJ, Lee Ty, Tang-Liu D, Hubbard BB, Gwon A. Topical Ofloxacin in the Treatment of Pseudomonas Keratitis in a rabbit model. *Cornea* 1992;11:143-47
- 16- Boles SF, Refojo MF, Leong FL. Attachment of Pseudomonas to human-worn disposable etafilcon A contac lenses. *Cornea* 1992;11:47-52
- 17- Singh A, Hazlett L, Berk RS., Characterization of Pseudomonas adherence to unwounded cornea. *Invest. Ophthalmol.* 1991;32:2096-2104.
- 18- Monk JP, Campoh-Richards Deborah. Ofloxacin A review of its antibacterial activity, Pharmacokenetic properties and therapeutic use. *Drugs* 1987;33:346-91
- 19- Lawin-Brussel C:A., Refojo MF, Leong FL, Kenyon KR: Pseudomonas attachment to Low-Water and High-Water, Ionic and noionic, New and rabbit-worn soft contact lenses. *Invest. Ophthalmol.* 1991;32:657-62
- 20- Sawuch MR, O'Brien TP, Dick JD, Gottsch JD. Use of Collagen corneal Shields in the treatment of bacterial keratitis. *AM.J Opfhalmol.* 1988;106:279-81.