



Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin  
och husdjursvetenskap**  
Institutionen för kliniska vetenskaper

# **Corneaulcus på häst – jämförelse mellan cytologi, mikrobiologisk odling och kliniska parametrar i en retrospektiv studie**

*Daniela Andersson*

*Uppsala  
2018*

*Examensarbete 30 hp inom veterinärprogrammet*

*ISSN 1652-8697  
Examensarbete 2018:01*



# Cornealulcus på häst – jämförelse mellan cytologi, mikrobiologisk odling och kliniska parametrar i en retrospektiv studie

## Corneal ulcer in horses – comparison of cytology, microbiological culture and clinical findings in a retrospective study

*Daniela Andersson*

**Handledare:** Lena Ström, institutionen för kliniska vetenskaper

**Examinator:** Marie Rhodin, institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

*Examensarbete i veterinärmedicin*

**Omfattning:** 30 hp

**Nivå och fördjupning:** Avancerad nivå, A2E

**Kurskod:** EX0830

**Utgivningsort:** Uppsala

**Utgivningsår:** 2018

**Delnummer i serie:** Examensarbete 2018:01

**ISSN:** 1652-8697

**Elektronisk publicering:** <http://stud.epsilon.slu.se>

**Nyckelord:** cornealulcus, cytologi, mikrobiologisk odling, hornhinnesår, häst

**Key words:** corneal ulcer, cytology, microbial culture, horse

Sveriges lantbruksuniversitet  
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap  
Institutionen för kliniska vetenskaper



## SAMMANFATTNING

Cornealulcus är vanligt förekommande på häst och jämfört med andra djurslag är hästen mer benägen att drabbas av komplicerande infektioner och keratomalaci, smältning av cornean (Ollivier, 2005). Tidig diagnostik och snabbt insatt adekvat behandling är avgörande för att ett cornealulcus ska läka utan komplikationer. I dagsläget är cytologi och mikrobiologisk odling de vedertagna diagnostiska metoderna och mikrobiologisk odling anses vara ”golden standard”, dock kan cytologi ge snabbare och kompletterande information (Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996). Till exempel kan man på cytologi undersöka förekomst av neutrofiler vilka ofta bidrar till en komplicerande smältning och också påvisa andra typer av inflammatoriska celler såsom eosinofiler och eventuell förekomst av svamp (Gilger, 2017; Matsumoto *et al.*, 1993; Ollivier, 2005).

Syftet med den här studien var att undersöka eventuellt samband mellan cytologisk provtagning och mikrobiologisk odling vid cornealulcus på häst. Syftet var också att ta reda på om antibiotikabehandling vid provtagningstillfället har betydelse för odlingsresultatet samt om det går att påvisa samband mellan de kliniska fynden som hästen presenteras med och typ av infektiöst agens. I studien ingick journaler från 38 cornealulcus som undersökts på hästkliniken vid Universitetsdjursjukhuset vid Sveriges lantbruksuniversitet under åren 2015 och 2016.

Resultatet visar att den cytologiska provtagningen oftare detekterade infektion jämfört med den mikrobiologiska odlingen men att det är viktigt att man kombinerar cytologi med mikrobiologisk odling för att få mer information och inte missa infektioner som obehandlade kan leda till ytterligare komplikationer. Nästan hälften (46 %) av de bakteriella odlingarna var positiva trots pågående antibiotikabehandling. Andelen positiva odlingar var något högre för obehandlade ulcus (64 %). Vidare sågs att cytologin och den mikrobiologiska odlingen överensstämde relativt bra avseende om infektion detekterats eller inte. Provsvaren överensstämde också bra när typ av bakterie på cytologin jämfördes med fynd av motsvarande bakterie på odlingen i de fall bakterierna var kocker eller kockoida.

Då detta är en retrospektiv studie finns det många osäkra parametrar och materialet är för litet för att dra säkra slutsatser. Däremot indikerar studien att cytologi är ett bra och viktigt diagnostiskt prov eftersom det går snabbt att få ett resultat vilket kan bidra med värdefull information om förekomst av inflammation och infektion. Cytologi bör kombineras med mikrobiologisk odling för att minimera risken att missa en eventuell komplicerande infektion och för att få ett bättre underlag för beslut om vidare antibiotikabehandling.

## SUMMARY

Corneal ulcer is frequently diagnosed in horses. Horses seem more prone to complications such as infections and keratomalacia compared to other domestic animals (Ollivier, 2005). Early diagnosis as well as prompt and adequate treatment is essential for the ulcer to heal without complications. Cytology and microbial culture are the diagnostic tests of choice and although microbial culture is regarded golden standard, cytology can generate quick and additional information (Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996). Cytology can, for example, give information about the presence of neutrophils, a cell that frequently contribute to the complicating keratomalacia, and additionally also detect fungus and other inflammatory cells such as eosinophils (Gilger, 2017; Matsumoto *et al.*, 1993; Ollivier, 2005).

The aim of this study was to compare cytology and microbial culture in corneal ulcer in horses, as well as to find out if ongoing antimicrobial treatment at the time of sampling was affecting the proportion of positive cultures. The aim was also to investigate any agreement between the clinical findings of the horse and the infectious agent. The study included medical records from 38 corneal ulcers examined at the equine hospital at University Animal Hospital at the Swedish University of Agricultural Sciences during the years 2015 and 2016.

The result shows that cytology more often detected infection compared to microbial culture, but also that it is very important to combine the two tests to minimize the risk of missing infections which could lead to further complications. Almost half (46%) of the cultures from ulcers treated with topical antimicrobials were positive. In untreated ulcers the percentage was a little higher (64%). Furthermore, there was a relatively high consistency between cytology and microbial culture regarding detection of infection or not. There was also a high degree of agreement regarding the findings of bacteria on cytology compared to corresponding bacteria on culture when the bacteria were cocci or coccoid.

As this is a retrospective study there are many unsure parameters and the material is too small to draw any certain conclusions. However, the results indicate that corneal cytology is a good and important diagnostic test as it generates a rapid result that may contribute with important information regarding the presence of inflammation and infection in corneal ulcers. The cytology should be combined with microbial culture to minimize the risk of not detecting a potentially complicating infection and to provide a better basis for decision making regarding further antimicrobial treatment.

## INNEHÅLL

Inledning.....	1
Litteraturoversikt.....	2
Corneas uppbyggnad och funktion.....	2
Ögats skyddsmekanismer.....	4
Ögonlock och ögonfransar.....	4
Konjunktiva.....	5
Tårfilm.....	5
Corneas immunförsvar och immunprivilegium.....	5
Cornealculus, definition och indelning.....	6
Normal sårhäkning i cornea.....	6
Okomplicerade yttliga ulcus.....	6
Komplicerade ulcus.....	7
Undersökningsmetodik, kliniska parametrar och diagnostiska metoder.....	7
Undersökningsmetodik och kliniska parametrar.....	7
Diagnostisk färgning.....	8
Diagnostisk provtagning.....	8
Mikrobiologisk odling.....	8
Cytologisk provtagning.....	9
Sammanfattning och syfte med den retrospektiva observationsstudien.....	9
Material och metod.....	10
Val av material och datainsamling.....	10
Delstudie 1: Jämförelse mellan cytologi och mikrobiologisk odling.....	10
Delstudie 2: Jämförelse mellan kliniska fynd och infektiöst agens.....	10
Resultat.....	11
Populationen.....	11
Delstudie 1.....	11
Cytologi.....	11
Mikrobiologisk odling.....	12
Jämförelse mellan cytologi och mikrobiologisk odling.....	12
Antibiotikabehandling.....	12
Delstudie 2.....	21
Diskussion.....	23
Referenser.....	27
Appendix 1 – Diagnoskoder.....	1





## INLEDNING

Cornealculus är vanligt förekommande på häst och orsakas ofta av trauma men andra orsaker kan vara defekter i tårfilmen eller immunmedierade, virus-, bakterie- och svampinducerade keratiter. Ögonens laterala placering på huvudet, hästarnas snabba reaktionsmönster och levnadsmiljön med många oundvikliga risker är predisponerande faktorer för traumatiska cornealculus (Gilger, 2017; Plummer, 2017).

Ett obehandlat, felaktigt eller otillräckligt behandlat cornealculus kan snabbt leda till komplikationer som infektion och smältning vilket på sikt kan ha en negativ påverkan på synen. Det tycks dessutom som att hästen är mer benägen än andra däggdjur att drabbas av komplikationer (Gilger, 2017). Orsaken till detta är inte helt klarlagd men det är på grund av komplikationsrisken mycket viktigt med en noggrann undersökning, korrekt provtagningsstrategi och adekvat och snabbt insatt behandling (Ollivier, 2005). Vid cornealculus undersöks ögat med fluoresceinfärgning och fokalt ljus med förstoring för att påvisa ulcus. I dagsläget är cytologisk undersökning och mikrobiologisk odling de vedertagna diagnostiska metoderna för att påvisa inflammation och/eller infektion (Comarella *et al.*, 2015; Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Ledbetter & Scarlett, 2008).

Syftet med detta examensarbete är att jämföra resultatet mellan den cytologiska provtagningen och den mikrobiologiska odlingen vid cornealculus på häst och undersöka om pågående antibiotikabehandling påverkar andelen odlingar med påvisad bakterie. Syftet är också att undersöka om det går att påvisa något samband mellan de kliniska fynd som hästen presenteras med och typ av infektiöst agens. Resultatet av studien kan ge en indikation på om det är nödvändigt att inkludera både cytologisk undersökning och mikrobiologisk odling vid provtagning, eller om det ena provet är att föredra framför den andra. Det skulle också kunna visa om det är lämpligt att gå vidare med odling även om hästen behandlas med antibiotika vid provtagningstillfället. Jämförelsen mellan de kliniska parametrarna relaterat till etiologiskt agens skulle eventuellt kunna ge ytterligare ledtrådar till vilken som är den bästa behandlingsstrategin innan provsvar har erhållits.

Cornea är en mycket viktig skyddsbarriär mellan ögats inre strukturer och omvärldens potentiellt skadliga agens och det är en komplex reaktion som startar när den utsätts för skada. Denna process tillsammans med en genomgång av corneas uppbyggnad, definitionen av cornealculus och undersökningsmetodik tas upp i litteraturstudien. Ögat är i det stora hela uppbyggt likadant hos alla däggdjur men vissa djurslagsskillnader finns. I detta arbete är det, av förklarliga skäl, hästens öga som är modell. I den följande retrospektiva observationsstudien har journaler från hästkliniken vid Universitetsdjursjukhuset (UDS) vid Sveriges lantbruksuniversitet (SLU) studerats utifrån relevanta parametrar. Då detta är en retrospektiv studie med många osäkra parametrar ska resultaten endast ses som indikationer och vidare studier med ett mer omfattande material är att föredra för att kunna dra säkrare slutsatser.

## LITTERATURÖVERSIKT

### Corneas uppbyggnad och funktion

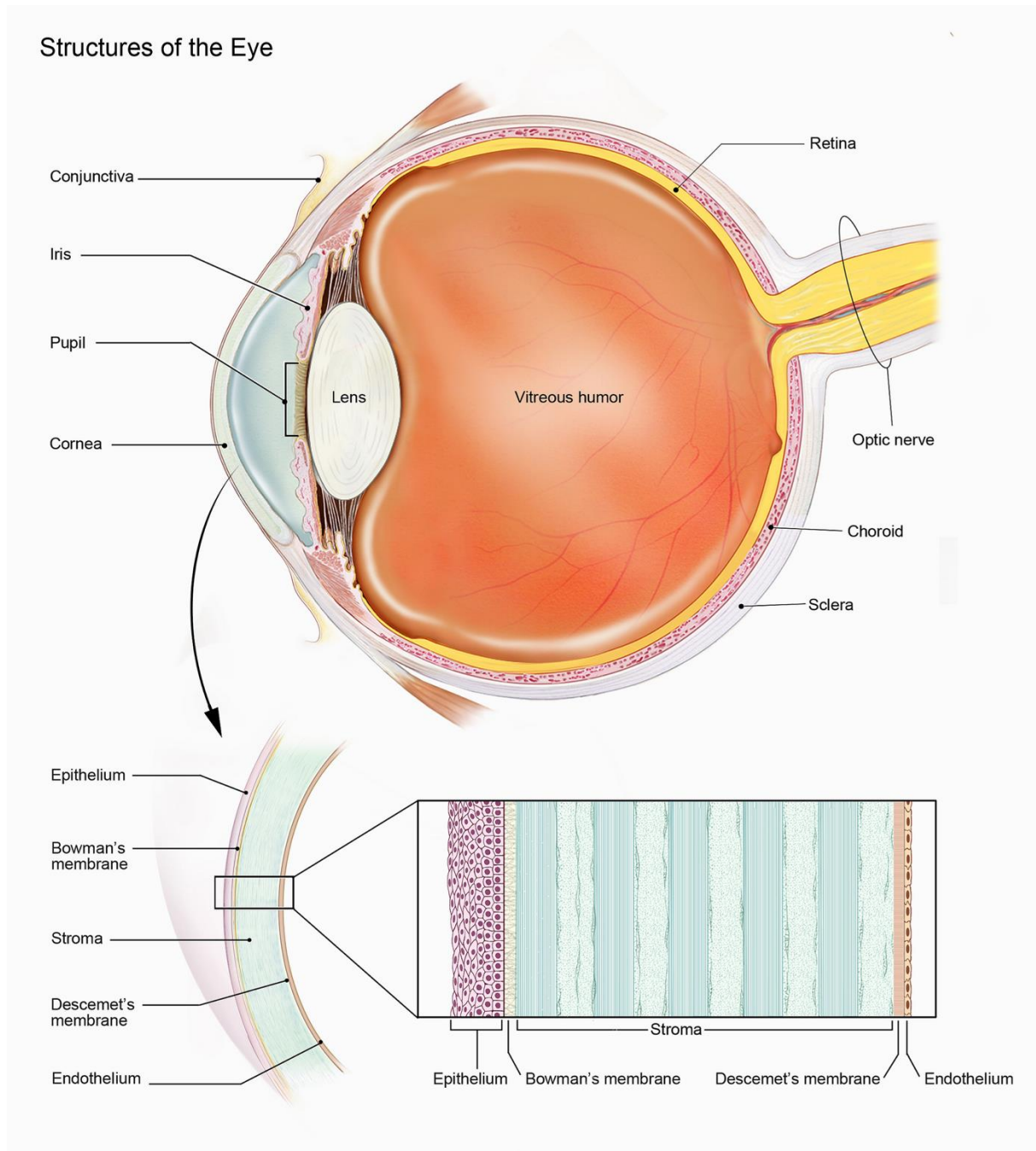
Ögats uppbyggnad kan enkelt beskrivas som en glob där en vägg innesluter linsen, glaskroppen och den främre och bakre kammaren med dess kammarvätska. Väggens består av tre lager. Ytterst det fibrösa lagret (*tunica fibrosa bulbi*) som utgörs av hornhinnan (*cornea*) och ögonvitan (*sclera*), i mitten det vaskulariserade lagret (*tunica vascularis bulbi*) som utgörs av åderhinnan (*choroidea*), regnbågshinnan (*iris*) och strålkroppen (*corpus ciliare*) och innerst det innerverade lagret (*tunica interna bulbi*) som består av näthinnan (*retina*). Inuti ögat, mellan cornea och linsen, finns den främre och bakre kammaren (*camera anterior et posterior*). Iris avdelar utrymmet och pupillen, öppningen i iris, förbinder de båda kamrarna och gör att kammarvätska (*humor aquosus*) kan flöda mellan dessa. Glaskroppen (*corpus vitreum*) fyller hålrummet mellan linsen och näthinnan. Figur 1 visar en schematisk bild över ögats anatomi.

Det yttersta lagret i ögonglobens vägg har som funktion att ge stöd åt ögat och bibehålla dess form (*sclera*) samt släppa igenom ljus (*cornea*) (Dyce *et al.*, 2009; König & Liebich, 2009). Cornea utgör ungefär en fjärdedel av det yttersta lagret och är den glansiga, genomskinliga delen längst anteriort på ögat (framför iris och pupillen) och angränsar till sclera i den corneosclerala övergången. Corneas storlek och tjocklek varierar med hästarnas ålder och ras och tjockleken varierar också inom cornea mellan periferin och centralt. Cornea är tjockare perifert än centralt och har hos vuxna hästar en central medeltjocklek på mellan 812–893 µm beroende på mätmetod (Andrew *et al.*, 2001; Herbig & Eule, 2015; Ledbetter & Scarlett, 2009; Pirie *et al.*, 2014).

Histologiskt är hästens cornea uppbyggd av fyra huvudsakliga lager (figur 1). Dessa är utifrån och in *epitel*, *stroma*, *Descemets membran* och *endotel*. Epitellets basalmembran, *Bowmans membran*, omnämns inte som ett eget lager hos däggdjur då det, till skillnad från människa, inte är ett distinkt lager (Bacha & Bacha, 2012; Mescher, 2010).

Det yttre epitelet är lipofilt och består av ett cirka 175 µm tjockt, flerskiktat, ickekeratiniserat plattepitel i totalt 8–12 lager (Pirie *et al.*, 2014). Längst ner finns basalcellerna som fungerar som progenitorceller med en förnysetakt på 10–15 % per dag (Gilger, 2017). Cellerna differentierar till epitelceller och vandrar successivt centralt och anteriort för att slutligen stötas bort (Nagasaki & Zhao, 2003). I utkanten av cornea, vid *limbus*, där corneas epitel är övergående i konjunktivans epitel finns en reservoar av multipotenta stamceller som har förmågan att förnya sig genom asymmetrisk delning. Dessa stamceller differentierar till epitelceller och är på så vis viktiga både för corneas homeostas och regeneration vid skada (Lehrer *et al.*, 1998; Moriyama *et al.*, 2014). De ytligaste epitelcellerna är polariserade vilket är en viktig del i ögats skyddsmekanism. I det apikala membranet finns mikrovilli och på den membranbunden glykokalyx. Glykokalyxen består av glykoproteiner (muciner) som hålls samman av kolhydratbindande protein (galectin-3) och bildar en sammanhängande och skyddande barriär (Linden *et al.*, 2008). Mucinerna fångar upp mikrobiellt debris som sedan kan föras bort med tårfilmen och de har också en förmåga att förhindra adhesion av vissa mikroorganismer (Mantelli *et al.*, 2013). I epitelcellernas basolaterala membran finns tight-junctions som förhindrar att molekyler diffunderar igenom epitelet och mellan alla cellager i epitelet finns desmosomer, adherent junctions och gap junctions för att binda samman cytoskelett och tillåta signalering mellan intilliggande celler. Hemidesmosomer förankrar basalcellerna till det underliggande stromat (Torricelli *et al.*, 2013).

*Stromat* utgör 90% av corneas tjocklek, är hydrofilt och till största delen uppbyggt av ett extracellulärt matrix (ECM) bestående av vatten, kollagena fibrer (typ I och V) och proteoglykaner av fyra huvudsakliga typer (decorin, lumican, keratocan och mimecan) (Bacha & Bacha, 2012; Hassell & Birk, 2010; König & Liebich, 2009). De kollagena fibrerna är ordnade i heterogena fibriller av jämn stor diameter vilka i sin tur ligger arrangerade i lameller. Lamellerna är strukturerade i ett vinkelrätt mönster



Figur 1. Schematisk bild över ögats anatomi och corneas lager. Observera att Bowmans membran inte är ett distinkt lager i cornea hos däggdjur, som det är hos människa. Credit: National Eye Institute, National Institutes of Health (NEI/NIH).

och sträcker sig över hela corneas längd, parallellt med väggen. Den noggrant reglerade storleken av fibrer, fibriller och lameller samt dess arrangemang och avstånd till varandra ger minimal spridning av ljuset som faller in i ögat och bidrar till corneas transparens (Benedek, 1971; Hassell & Birk, 2010). Proteoglykanerna ligger mellan de kollagena fibrillerna och kan, tack vare sina vattenhållande egenskaper, reglera avståndet mellan dessa. Det är därmed proteoglykanerna som primärt ger stromat dess förmåga att komprimera och expandera (Hassell & Birk, 2010). Det fåtal celler som finns i stromat är keratocyter (en typ av fibroblaster). Keratocyterna har en kompakt cellkropp och dendritliknande cytoplasmiska utskott (lamellipodia) som bildar ett nätverk av celler med intracellulär signalering genom gap-junctions. Detta arrangemang samt keratocyternas höga innehåll av kristallin, en samling vattenlösliga proteiner, bidrar också till corneas transparens genom att minimera ljusspridningen (Hassell & Birk, 2010; Jester, 2008; Ledbetter & Scarlett, 2009). Keratocyterna ligger framför allt

anteriort i stromat och är relativt inerta, de varken delar sig eller genomgår apoptos särskilt ofta men spelar en viktig roll vid den normala sårsläkningen (se vidare under rubriken ”Normal sårsläkning i cornea”). Utöver keratocyter finns ett litet antal makrofager och antigenpresenterande celler (dendritiska celler och langerhanska celler) i stromat som en del i ögats immunförsvar (Ledbetter & Scarlett, 2009).

*Descemets membran*, endotelets basalmembran, separerar endotelet från stromat och består av kollagena fibrer i ett matrix av proteoglykaner och icke-kollagena komponenter (Kafarnik *et al.*, 2009). Descemets membran är hos en vuxen häst 30–40 µm tjockt och ökar i tjocklek med 2 µm per år och är därför tjockare hos äldre hästar (Pirie *et al.*, 2014).

*Endotelet* består av ett 20–25 µm tjockt, enkelt skikt av pentagon- och hexagonformade celler som bekläder corneas insida (Ledbetter & Scarlett, 2009). Det fungerar som en barriär mellan cornea och den främre kammaren och upprätthåller den osmotiska gradienten däremellan. Apikalt på endotelcellerna finns ”leaky junctions” som släpper igenom vatten, lösliga ämnen, makromolekyler och näringsämnen till Descemets membran och stromat. Varje cell har också en aktiv vattentransport med hjälp av ATPase-beroende Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-pumpar som pumpar vatten mot den osmotiska gradienten från stromat till den främre kammaren (Edelhauser, 2006).

Cornea är den första ytan ljuset möter och bryts igenom och en av corneas viktigaste funktioner, utöver att vara barriären mellan ögats inre och omvärlden, är således att släppa in ljus till ögats djupare strukturer. För att detta ska fungera krävs att cornea är transparent. Transparensen upprätthålls tack vare att stromats kollagena fibrer är så noggrant arrangerade och att vattenhalten i stromat hålls på en optimal nivå genom endotelets aktiva transport av vatten ut från stromat till den främre kammaren. Keratocyternas morfologi och innehåll av kristalliner bidrar också till transparensen som nämnts ovan (Benedek, 1971; Edelhauser, 2006; Hassell & Birk, 2010; Jester, 2008).

Cornea är rikligt innerverad med nervfibrer som härstammar från *nn. ciliaris*, vilka i sin tur härstammar från en av grenarna av *n. trigeminus* (kranialnerv V). Nervfibrerna kommer in i mitten av stromats djup, perifert från limbus och sträcker sig anteriort genom stromat mot epitelet. Nervtätheten är högre ju längre anteriort i cornea medan posteriort, vid Descemets membran, saknas nervfibrer helt. Hos däggdjur uppges anteriora cornea vara den känsligaste vävnaden med 300–600 gånger fler nervändar än i huden. Det här gör cornea mycket känslig för stimuli av både termisk, kemisk och mekanisk karaktär (Oliveira-Soto & Efron, 2003). Nerverna har flera funktioner i ögat. Dels är de den afferenta grenen för tår- och blinkreflexen och utgör därmed en viktig komponent i ögats skydd. De är också involverade i epitelregeneration och har på så vis en viktig roll vid skada på cornea. Förlust av nerver i cornea har visats ha effekt på epitelregeneration och -reparation, kunna orsaka ökad epitelpermeabilitet, fördröjd sårsläkning och minskad tårproduktion vilket i sin tur kan leda till andra problem i cornea (Goins, 2005).

## **Ögats skyddsmekanismer**

Cornea utgör gränsen mellan den yttre världen som är full av potentiellt skadliga agens, och ögats inre, synsystemet. Eftersom skador i cornea kan få förödande konsekvenser för ögat och därmed synen har ögat utvecklat en rad komplexa system som skydd. Orbitan, den hålighet i skallbenet i vilken ögat ligger, utgör ett mekaniskt skydd för en stor del av ögat. Dock skyddar den inte cornea och därför nämns ej denna struktur vidare under denna rubrik.

## **Ögonlock och ögonfransar**

Den kanske mest uppenbara fysiska barriären som skyddar ögat från ljus, trauma och främmande föremål är det övre och undre ögonlocket (*palpebralis superior et inferior*). Dessa sluts framför ögat i en blinkning för att skydda corneas integritet. Blinkningen har också till funktion att sprida tårfilmen över cornea och föra bort debris som fastnat i den (Gilger, 2017). Känselhår är lite längre och hårdare hårstrån som sitter en bit upp respektive ner på ögonlocken. De skyddar ögat genom att vid taktilt stimuli utlösa blinkning. Även ögonfransarna utlöser blinkning vid taktilt stimuli. Hästar har ögonfransar på de

övre ögonlocken (på de undre ögonlocken kan det finnas ett fåtal eller saknas helt) och de hjälper också till att skärma av cornea från ljuset som faller in på ögat (Moore, 1992).

### **Konjunktiva**

I konjunktivan finns öar av lymfatisk vävnad, så kallad *conjunctival associated lymphatic tissue* (CALT) som är en del i djurets normala immunsystem. I ögat är det CALT som står för den ”immunologiska övervakningen” av cornea och kan framför allt hos unga individer framträda som lymffolliklar. När corneas immunförsvar är aktiverat kommer dendritiska celler (DC) att ta sig till konjunktivans lymfatiska vävnad och presentera agens för naiva T-celler och därmed starta det förvärvade immunförsvaret (Bjerkås, 2010; Forrester *et al.*, 2010; Tizard, 2013).

### **Tårfilm**

Tårfilmen är en mycket viktig skyddande faktor i flera avseenden. Tårfilmen är uppbyggd av tre lager. Det yttersta lagret är ett lipidlager som bildas från de *meibomska körtlarna* i kanten av ögonlocken. Lipidlagrets uppgift är att skapa en slät, glatt yta som ögonlocken kan röra sig obehindrat över och det är också till för att fördröja avdunstningen av det andra lagret, den vattenhaltiga delen av tårfilmen (Bron *et al.*, 2004). Det andra lagret utgör den största delen av tårfilmen och består av ett vattenhaltigt skikt. Det bildas från tårkörtlarna och corneas och konjunktivans epitelceller och innehåller utöver salter, proteiner och muciner även immunoglobuliner, urea och kortisol som en del i ögats immunförsvar (Martín *et al.*, 1997; Ollivier, 2004). Detta skikt innehåller också pro- och antiinflammatoriska samt vasoaktiva cytokiner, kemokiner, proteaser och proteasinhistorer som håller den inflammatoriska processen i balans (Ollivier, 2004). Det innersta lagret av tårfilmen är ett muköst lager som bildas av konjunktivans bågceller. Detta lager binder tårfilmen till corneas epitel, smörjer detta och fångar upp debris som forslas bort via blinkning (Mantelli *et al.*, 2013).

### **Corneas immunförsvar och immunprivilegium**

Hos häst är det fortfarande mycket som är okänt avseende corneas immunförsvar men man anser att immunologin generellt har stora likheter hos däggdjur och att det därför går att dra slutsatser utifrån andra djurslag, framför allt mus och människa (Matthews, 2008). Utöver funktionen som barriär har cornea ett högt utvecklat immunsystem där både det medfödda och förvärvade immunsystemet spelar en viktig roll. Immunförsvarets roll är, precis som i annan vävnad, att eliminera patogener samtidigt som normalfloran bibehålls. För att åstadkomma detta och samtidigt minimera risken för immunmedierade skador, som i sig skulle kunna leda till komplikationer, har cornea utvecklats till en immunprivilegerad zon (Niederhorn & Stein-Streilein, 2010). Immunprivilegium innebär att immunförsvaret, både det medfödda och förvärvade, i normalfallet är ”nedreglerat” men immunprivilegiet är inte något konstant utan kopplas bort när individen utsätts för en reell risk och det är viktigare att skydda individen än ögat, som vid ett cornealculus (Matthews, 2008; Niederhorn & Stein-Streilein, 2010). Det är immunprivilegiet som gör att risken för infektion är så stor när skada i cornea väl har uppstått.

I cornea finns celler med ”pattern recognition receptors” som en del av det medfödda immunförsvaret. När en patogen upptäcks startar en signalkaskad och inflammatoriska celler, framför allt neutrofiler och makrofager, rekryteras till platsen. Neutrofiler finns normalt sett inte i cornea vilket är ett karakteristika som används i diagnostiken. Neutrofiler i ett cytologiskt prov från cornea indikerar inflammation och infektion. De inflammatoriska cellerna utsöndrar endogena proteaser för att eliminera hotet och återställa vävnaden. Det är den enzymatiska nedbrytningen som, om den blir okontrollerad, orsakar de immunmedierade skadorna på cornea, så kallad *keratomalaci* eller *smältning* (mer om keratomalaci tas upp under rubriken ”Normal sårhäkning i cornea”). Proteasinhistorer finns i tårfilmen och cornea för att balansera den nedbrytande aktiviteten. Processen med de nedbrytande och inhiberande faktorerna är ständigt aktiv och bidrar i normalfallet till att hålla cornea frisk och intakt (Matthews, 2008). Ibland

rubbas den dock till följd av överaktivitet av endogena proteaser eller enzymer som frisätts från patogener vilket alltså leder till keratomalaci.

Att cornea är avaskulär är en avgörande faktor för immunprivilegiet då inflammatoriska komponenter inte kan ta sig dit via blodbanan. Det är också en förutsättning för att cornea ska vara transparent. Avsaknaden av blod- och lymfkärl upprätthålls tack vare att corneas epitel och stroma, tårffilmen och kammarvätskan uttrycker antiangiogena komponenter men detta kan hävas när inflammation och kärlinväxt är önskvärd (Dana & Streilein, 1996). Ytterligare faktorer som bidrar till immunprivilegiet är att de antigenpresenterande cellerna i cornea är omogna och tolerogena, det vill säga de tolererar en del antigen utan att dra igång en inflammatorisk process. Corneas epitel och endotel uttrycker också molekyler som förhindrar lymfoida immunceller från att komma in i den friska cornean (Gilger, 2017).

### **Cornealculus, definition och indelning**

Cornealculus kan ha flera olika orsaker. Trauma, både trubbigt och vasst, som orsakar lacerationer av olika grad i cornea är relativt vanligt förekommande på häst (Plummer, 2017). Detta beror dels på ögonens utsatta placering lateralt på huvudet, corneas utbuktning, hästarnas levnadsmiljö där det finns många oundvikliga risker och hästarnas flyktbenägna beteende. Corneas opportunistiska normalflora, defekter i tårffilmen och immunmedierade, virus-, bakterie- och svampinducerade keratiter är andra orsaker till att cornealculus uppstår (Gilger, 2017).

Cornealculus brukar klassificeras beroende på hur djup ulcerationen är, vilket tillsammans med eventuell cytologi och mikrobiologisk odling avgör vilken behandling som behöver sättas in. I *Equine Ophthalmology* (Gilger, 2017) anges tre kategorier. 1) *ytligt ulcus* där epitelet och eventuellt minimalt av stromat är skadat; 2) *penetrerande ulcus* där stromat i varierande djup, men inte involverande Descemets membran, är skadat och 3) *perforerande ulcus* där Descemets membran och endotelet är skadat och den främre kammaren exponerad.

Penetrerande ulcus delas enligt viss litteratur (Bjerkås, 2010) in i ytterligare två undergrupper: 2a) *grunt stromalt ulcus* med mindre än 50 % av stromat involverat och 2b) *djupt stromalt ulcus* med mer än 50 % av stromat involverat. Dessutom anges *descemetocele* som en egen kategori. Då är Descemets membran exponerat och i viss utsträckning skadat, men inte perforerat.

### **Normal sårhäkning i cornea**

På grund av sin utsatthet är cornea programmerad att reagera extremt snabbt vid skada. Immunförsvaret uppregleras för att täppa igen skadan och undvika att möjliga patogener får tillgång till ögats inre strukturer. Det är en komplex inflammatorisk process där epitelet, stromat och de corneala nerverna tillsammans med tårffilmen och tårkörtlarna är involverade. Processen dirigeras av olika cytokiner och receptorer och inflammatoriska celler bidrar till att eliminera patogener och debris (Wilson *et al.*, 2001). Hela den inflammatoriska responsen har som syfte att stabilisera och debridera såret, återställa celler och ECM och slutligen remodellera vävnaden för att återställa corneas struktur och funktion. Trots att mycket är känt om hur sårhäkningen i cornea går till finns det delar som fortfarande inte är helt kartlagda (Plummer, 2017). Den inflammatoriska responsen med påföljande sårhäkning skiljer sig lite beroende av vilka lager av cornea som är involverade. Gemensamt är dock att det som initierar den inflammatoriska responsen från omgivande intakt vävnad är att celler i cornea skadas.

### **Okomplicerade ytliga ulcus**

Ett okomplicerat ytligt epitelialt ulcus läker i regel relativt snabbt, det kan vara läkt inom några timmar upp till ett par dagar (Plummer, 2017). När epitelcellerna skadas släpper de ut cytokiner som aktiverar intilliggande epitelceller att omedelbart migrera över och täcka skadan. Epitelcellerna migrerar med en hastighet av 0,6 mm/dag och avstannar när cellerna får kontakt med varandra (Plummer, 2017). Epitelcellerna i skadan återställs sedan genom mitos av basalceller och stamceller från limbus. Vid

snabb, okomplicerad läkning ses vanligen inte särskilt mycket inflammatorisk respons. Även om ett yttligt epitelialt ulcus kan vara okomplicerat och läka snabbt utgör det alltid en viss ökad risk för infektion i och med att skyddsbarriären är skadad. Cytologisk och mikrobiologisk provtagning är vid ytliga ulcus dock endast relevant om såret visar tecken på komplicerande faktorer (SVS riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård, 2013).

### **Komplicerade ulcus**

Vid mer komplicerade ulcus, där mer eller mindre av stromat är involverat, är den inflammatoriska responsen mer komplex. När epitelcellerna skadas släpper de ut substanser (bland annat IL-1 och TNF- $\alpha$ ) som initierar apoptos av underliggande keratocyter (Plummer, 2017; Wilson *et al.*, 2001). Syftet med keratocyternas apoptos är att bilda en brandgata som förhindrar eller fördröjer infektiösa agens att få fäste i den skadade cornean och på så vis få tillträde till ögats inre strukturer och i förlängningen CNS (Plummer, 2017; Wilson *et al.*, 1996, 2001, 2007). Ungefär 12–24 timmar efter skadan vandrar neutrofiler in i den skadade cornean (Hanlon *et al.*, 2014). Neutrofilerna kommer från de limbala och konjunktivala blodkärlen och tårfilmen. I stromat rör de sig mellan lagren av keratocyter vilka, utöver de kollagena fibrerna i stromats ECM, fungerar som ett substrat för neutrofilerna att fästa till. Keratocyterna utsöndrar också kemokiner som styr neutrofilernas migration till skadan (Burns *et al.*, 2005). På plats i stromat bryter neutrofilerna med hjälp av proteaser ner skadad vävnad och fagocyterar debris. Något senare attraheras även makrofager till platsen, vilka fortsätter upprensningen av debris och startar den uppbyggande fasen i sår-läkningen (Wilson *et al.*, 2001).

Keratocyter i det intilliggande intakta stromat aktiveras och börjar proliferera inom 12–24 timmar efter skadan (Hassell & Birk, 2010; Wilson *et al.*, 2001). De aktiva keratocyterna kan omvandlas till fibroblaster eller myofibroblaster, vilka båda producerar komponenter för att bygga upp nytt ECM och är tillsammans med bland annat IL-1 och TNF- $\alpha$ , viktiga för att driva den inflammatoriska processen vidare (Hassell & Birk, 2010; Plummer, 2017; Wilson *et al.*, 1996, 2001, 2007).

Under sår-läkningen spelar proteolytiska enzymer och deras inhibitorer en huvudroll för att upprätthålla balansen mellan nedbrytning, uppbyggnad och remodelering i den skadade vävnaden. Proteaserna kan vara endogena (produceras av kroppens egna celler) eller exogena (produceras av invaderande patogener). Några av de mest studerade grupperna av proteaser är matrix metalloproteaser (MMPs) och serinproteaser (Gilger, 2017). MMPs produceras av keratocyter, corneas epitelceller och neutrofiler. Vissa MMPs finns normalt i den friska cornean medan andra uppregleras vid skada (Ollivier *et al.*, 2007). När inhibitionen inte balanserar den proteolytiska aktiviteten är det framför allt neutrofiler och deras proteaser som orsakar en för kraftig nedbrytning av cornea, så kallad keratomalaci eller smältning, men även bakteriella proteaser kan bryta ner stromalt ECM och dessutom aktivera latent corneala MMPs (Matsumoto *et al.*, 1993). Ett djupare ulcus med eller utan infektion kan förvärras och genom smältning resultera i ett perforerande ulcus på mindre än 24 timmar (Ollivier, 2005), vilket i sig utgör ett stort hot mot synen.

När såret är skyddat av ett nytt lager epitel, hotet från möjliga patogener undanröjt och cornea har påbörjat uppbyggnaden igen går den inflammatoriska processen in i det som kallas remodelering. Under en längre tid kommer stromats extracellulära matrix byggas om för att återigen bli transparent. Vissa sår läker med ärr som förblir kvar hela livet och kan, om de är omfattande, försämra synen.

## **Undersökningsmetodik, kliniska parametrar och diagnostiska metoder**

### **Undersökningsmetodik och kliniska parametrar**

En ögonundersökning ska börja med en noggrann anamnes vilken bör inkludera generella frågor om hästen och specifika frågor avseende ögonproblematiken. Efter en allmän klinisk undersökning ska själva ögonundersökningen och provtagningen göras i en systematisk ordning, dels för att delar av undersökningen inte ska interferera med varandra och dels för att inget ska glömmas bort. Gilger (2017)

rekommenderar av dessa anledningar att ett protokoll används som stöd i undersökningen. Ett viktigt observandum är att undersökningen aldrig får riskera att förvärra en skada. Ett descemetocele kan snabbt omvandlas till ett perforerande ulcus med ytterligare komplikationer som följd och det är därför bättre att avvakta tills hästen är sederad och lämpliga nerver bedövade än att med kraft försöka att öppna ett knipande öga (Cowell & Tyler, 2001).

Ögonundersökningen börjar på avstånd för att studera hästen avseende avvikelser och asymmetrier i huvudets och ögonens storlek, form och position. Viktiga kliniska parametrar som bedöms är *i*) epifora, mängd och typ; *ii*) blefarospasm (knipgrad) och *iii*) fransvinkel som ska vara i princip vinkelrät mot cornea och framför allt symmetrisk mellan ögonen. Ökat tårflöde, blefarospasm och sänkt fransvinkel kan indikera smärta i ögat och är vanliga kliniska fynd vid corneaulcus (Cooley, 1992). Innan hästen sederas och ögonlocken lokalbedövas undersöks också hotrespons, palpebral-, pupill- och dazzlereflex vilka tillsammans kontrollerar funktionerna i kranialnerv II, III och VII.

Efter sedering och nervblockad av *n. palpebralis* (motorisk) och eventuellt *n. supraorbitale* (sensorisk) undersöks cornea noggrant. Fokalt ljus och förstoring, gärna med oftalmoskop eller spaltlampa, underlättar bedömningen (Gilger, 2017). Cornea bedöms avseende *i*) ulcerationens lokalisation, utbredning och djup, *ii*) smältning, förekomst och grad, *iii*) cellinfiltrat, *iv*) corneaödem, *v*) kärlinväxt och *vi*) stromal abscess, förekomst, antal och lokalisation. Eftersom uveit är en vanlig och förväntad reaktion hos hästar vid corneaulcus och trauma mot ögat kontrolleras och graderas också *vii*) mios och *viii*) ljusväg. Uveiten är hos häst ofta reflektorisk, medierad genom *n. ophthalmicus* men även en komplicerande infektion i cornea kan underhålla uveiten (Ollivier, 2005).

### **Diagnostisk färgning**

Färgning av cornea bör ingå som en del av diagnostiken vid i princip alla problem som rör hästens ögon eller orbita för att få en uppfattning om corneas tillstånd. Fluorescein och rose bengal är de två mest använda färgerna för detta (Gilger, 2017). Färgning med fluorescein och rose bengal bör göras före administration av topikal anestetika i ögat på grund av att anestetikan är något cytotoxisk och kan leda till ett falskt positivt svar av den diagnostiska färgningen (Gelatt *et al.*, 2013).

Fluorescein används för att diagnostisera corneaulcus. Färgämnet binder till stromat men inte till intakta epitelceller eller Descemets membran vilket är en hjälp i bedömningen av ulcerationens utbredning och djup. Avläsningen underlättas av blått ljus. Vid misstänkt perforation kan fluorescein användas för att utföra *Seidels test* som görs genom att en större mängd koncentrerad fluorescein appliceras på ögat. Den koncentrerade färgen är orange och kommer om kammarvätska läcker ut ur ögat att spädas och då ändra färg till grön (Gelatt *et al.*, 2013).

Rose bengal färgar döda och devitaliserade epitelceller och används framför allt vid misstanke om virus- eller svampinducerad keratit. Eftersom rose bengal är cytotoxiskt ska det användas efter fluorescein för att undvika ett falskt positivt resultat av denna. Det ska av samma anledning inte användas rutinmässigt (Carastro, 2004). En fördel med rose bengal är att den fäster in till mycket ytliga keratiter, vilket fluorescein inte alltid gör (Brooks *et al.*, 2000).

### **Diagnostisk provtagning**

#### **Mikrobiologisk odling**

Den mikrobiologiska odlingen ska tas före all annan diagnostik för att förhindra kontamination. Den ska också helst tas före topikal anestesi eftersom bedövningsmedlet kan ha en negativ effekt på mikroorganismerna (Carastro, 2004). Provet ska tas med steril teknik. En svabb avsedd för mikrobiologisk provtagning fuktas med steril NaCl. Provet tas från kanten av ulcus. Utöver att ta reda på förekomst och artbestämning av bakterierna kan de resistensbestämmas för val av antibiotika (Gilger, 2017).



## Cytologisk provtagning

Innan cytologi tas ska cornea lokalbedövas. Oxibuprokain har visat sig ge lika bra bedövning men vara mindre vävnadstoxiskt än tetrakain varför detta är att rekommendera (Douet *et al.*, 2013). Provet tas sterilt och exsudat ska först försiktigt tvättas bort från ögat. Med hjälp av den trubbiga änden av en skalpell eller med en cytobrush samlas material från kanten av lesionen. Materialet överförs sedan så tunt som möjligt, helst i ett cellager, på objektglas och torkas innan det färgas med till exempel Giemsa eller annan snabbfärg. Internationell litteratur rekommenderar också gramfärgning för att få mer information om eventuellt etiologiskt agens (Gilger, 2017). Eftersom gramfärgningen förstör övriga cellers morfologi kan det inte göras på samma glas som det där man vill undersöka förekomst av inflammatoriska celler och därför är rekommendationen att lämna minst två glas för cytologisk analys (Cowell & Tyler, 2001; Gilger, 2017; muntlig kommunikation Anna Hillström, 2017). Provet analyseras sedan i mikroskop och bedöms utifrån förekomst av *i*) celler som normalt finns i cornea, *ii*) inflammatoriska celler och *iii*) icke cellulärt material som bakterier, svamphyfer, parasiter, melaningranula, växtdelar och andra främmande kroppar.

Prov taget från en frisk cornea innehåller normalt endast epitelceller men enstaka inflammatoriska celler kan förekomma, framför allt om provet ”kontamineras” med celler från konjunktiva (muntlig kommunikation Inger Lilliehöök, 2017). I en frisk cornea ligger epitelcellerna i sjök. Händelsevis kan enstaka epitelceller ligga en och en och kan då ”rulla ihop sig” och misstas för svamphyfer (Cowell & Tyler, 2001).

Prov taget från en cornea med ett cellulärt inflammationssvar har förutom epitelceller även förekomst av inflammatoriska celler. Huvudsakligen är dessa celler neutrofiler med mer eller mindre degenerativt utseende. Ett mindre antal lymfocyter, monocyter och plasmaceller kan förekomma. Fynd av eosinofiler är alltid ett observandum och indikerar antingen en akut hypersensitivitet, förekomst av parasiter eller eosinofil keratit då eosinofiler inte förekommer normalt i cornea (Gilger, 2017). Förekomst av ett fåtal neutrofiler bör inte tolkas som ett inflammatoriskt svar då det finns en gråzon där inflammation varken kan bekräftas eller uteslutas (muntlig kommunikation Inger Lilliehöök, 2017).

Det vanligaste icke-cellulära fyndet är bakterier. Bakteriernas form (kocker, kockoida bakterier eller stavar) och lokalisering i förhållande till varandra (en och en, i par eller kedjor) kan indikera vilken typ av bakterie det är. Förekomst av intracellulära bakterier indikerar i hög grad infektion. Finns det svamphyfer i provet är det bevis för en svampinfektion, medan det motsatta, frånvaro av svamphyfer, inte säkerställer frånvaro av svampinfektion eftersom hyferna kan ligga djupare än det cytologiska provet är taget. Hyferna kan särskiljas från de ”ihoprullade” epitelcellerna genom att de har parallella väggar, avdelningar separerade med septa och förgreningar i ojämna intervall. Inte alla svamphyfer färgar in bra men man kan ofta se en utlinjering av väggen (Gilger, 2017).

## Sammanfattning och syfte med den retrospektiva observationsstudien

Vid ett corneaulcus kan komplikationer snabbt tillstå och utgöra en allvarlig risk för ögat och synen. I diagnostiken finns det några viktiga karakteristika som har stor betydelse för val av behandling, bland annat förekomst av neutrofiler och mikroorganismer. På grund av den immunprivilegerade statusen och komplikationsrisken är tiden till att en korrekt behandling sätts in en avgörande faktor för utfallet. Syftet med den här studien är därför att ta reda på hur det cytologiska provsvaret överensstämmer med den mikrobiologiska odlingen avseende förekomst av infektion och förekomst av typ av bakterie. Syftet är också att undersöka om pågående antibiotikabehandling har en avgörande påverkan på odlingsresultatet och om det finns ett samband mellan etiologiskt agens och de kliniska fynd som hästen presenteras med.

## MATERIAL OCH METOD

### Val av material och datainsamling

Data inhämtades från journalsystemet Trofast på hästkliniken vid UDS, SLU från tidsperioden 2015-01-01 till 2016-12-31. Inklusionskriterierna var *i*) hästens primära diagnos var ett cornealculus och *ii*) prov för både cytologi och mikrobiologisk odling hade tagits vid samma tidpunkt. Sökningen gjordes med hjälp av relevanta diagnoskoder. Koderna som användes inkluderade diagnoser kopplade till ögon i stort och inte enbart cornealculus. Detta för att inte riskera att missa något fall med cornealculus då veterinärer ibland väljer att använda en mer övergripande diagnoskod. En komplett lista på diagnoskoder finns i bilaga 1. Den initiala sökningen resulterade i 129 journaler. Dessa journaler granskades utifrån inklusionskriterium ett och två vilket slutligen resulterade i 35 journaler med totalt 38 ulcus.

### Delstudie 1: Jämförelse mellan cytologi och mikrobiologisk odling

I studien förutsätts att all provtagning har genomförts enligt gällande principer. Rutinen för prov till den mikrobiologiska odlingen är att det tas före topikal anestesi och att provet tas från ulcerationen på cornea med en fuktad svabb avsedd för mikrobiologisk provtagning (ESwab). För den cytologiska provtagningen är rutinen att den tas efter topikal anestesi och samlas från kanten av ulcerationen med en cytobrush för cellprovtagning alternativt den trubbiga änden av ett skalpellblad.

De cytologiska proverna är uteslutande analyserade på Klinisk kemiska laboratoriet vid UDS där proverna färgas med Giemsa. Proverna gramfärgas inte rutinmässigt då gramfärgningen förstör övriga cellers morfologi. Vid fynd av bakterier rekommenderas istället mikrobiologisk odling för artbestämning. Utlåtandena svaras sedan ut skrivna i fritext. Dessa har därför standardiserats till ett av följande provsvar: inga tecken på inflammation eller infektion; purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer; septisk inflammation med misstänkt agens angivet eller purulent inflammation med osäkra tecken på bakterier.

Den mikrobiologiska odlingen är utförd vid Statens veterinärmedicinska anstalt (SVA). Utlåtandena har standardiserats och anges som ett av följande provsvar: ingen infektion påvisad (inkluderar provsvar där ingen växt är påvisad och växt av ospecifik blandflora i enstaka kolonier) eller vilket agens som påvisats.

Resultaten från den cytologiska provtagningen och mikrobiologiska odlingen jämfördes. Överensstämmelsen mellan positiv respektive negativ cytologi och odling analyserades med Cohens kappa. För bedömning av överensstämmelse användes följande indelning av kappa ( $\kappa$ -värde):  $< 0,3$ : dålig;  $0,3-0,5$ : acceptabel;  $0,51-0,8$ : bra och  $> 0,8$ : mycket bra. Odlingresultaten jämfördes med antibiotikabehandling vid provtagningstidpunkten.

### Delstudie 2: Jämförelse mellan kliniska fynd och infektiöst agens

För att studera överensstämmelsen mellan kliniska fynd och infektiöst agens sattes ytterligare ett inklusionskriterium upp. Detta var: fullständig journal avseende de kliniska parametrarna grad av blefarospasm (knipgrad), ljusväg, smältning, ulcusets djup och lokalisation. Dessa parametrar är valda då de på olika sätt reflekterar processer i cornea specifikt och ögat i stort. Knipgraden indikerar smärta, ljusväg är ett tecken på uveit och smältning visar att proteaser bryter ner cornea. Djupet av cornealculus är graderat enligt Bjerkås (2010). Journaler där beskrivning av en eller flera parametrar saknades uteslöts vilket resulterade i 28 ulcus.

Beskrivningen av de kliniska parametrarna standardiserades enligt följande: *blefarospasm* ( $< 50\%$  eller  $\geq 50\%$ ); *ljusväg* (lindrig, måttlig, kraftig eller hypopyon); *förekomst av smältning* (ja eller nej); *ulcusets djup* (ytligt (epitelialt eller grunt stromalt), djupt stromalt eller descemetocèle/perforerande) och *ulcusets lokalisation* (perifert eller centralt).

För att standardisera de kliniska parametrarnas allvarlighetsgrad användes ett vedertaget scoringsystem (Keay *et al.*, 2006). Scoringsystemet modifierades något för att kunna använda informationen i journalerna och för att vissa parametrar bättre speglar komplikationer i ulcus. Varje parameter tilldelades en poäng enligt följande: *blefarospasm* (ingen: 0; <50 %, 1; ≥50 %, 3); *ljusväg* (ingen: 0; lindrig-måttlig, 1; kraftig, 2; hypopyon, 3), *smältning* (nej, 0; ja, 2); *ulcusets djup* (ytligt, 1; djupt stromalt, 2; descemetocèle/perforerande, 3) och *ulcusets lokalisering* (perifert, 1; centralt, 2).

För varje ulcus adderades poängen för de kliniska parametrarna ihop till en totalpoäng (minst 2 poäng, max 13 poäng). Ju allvarligare kliniska parametrar, desto högre totalpoäng. Totalpoängen för ulcus orsakade av olika agens jämfördes sedan för att se om det fanns något samband mellan de kliniska parametrarnas allvarlighetsgrad och infektiöst agens.

## RESULTAT

### Populationen

Under perioden 2015-01-01 till 2016-12-31 inkom 129 hästar (46 hästar år 2015 respektive 83 hästar år 2016) med primärt corneaulcus till hästkliniken vid UDS. Av dessa hade både cytologisk provtagning och mikrobiologisk undersökning gjorts på 35 hästar (6 respektive 29 hästar). Av dessa 35 hästar hade 32 hästar unilaterala ulcus och tre hade bilaterala ulcus vilket resulterade i totalt 38 ulcus (se tabell 1).

Hästarnas medianålder var 9 år (range 5 månader–26 år) och könsfördelningen var 20 ston, 12 valacker och 3 hingstar. Representerade raser var amerikansk miniatyrhäst (1 st), arabiskt fullblod (3 st), fjordhäst (1 st), islandshäst (4 st), kallblodig travare (2 st), nordsvensk brukshäst (1 st), shetlandspöny (1 st), svensk ridponny (2 st), svensk varmblodig ridhäst (10 st), varmblodig travare (7 st) och korsningshäst (3 st).

Anamnesen sträckte sig från några timmar till 10 veckor (median 1 vecka) innan ankomst till UDS. Etiologin var i de flesta fall okänd, sex av hästarna hade dock en känd historia av kronisk keratit. Trettioen av hästarna (89 %) var remitterade från annan veterinär och övriga inkom direkt till hästkliniken vid UDS (tabell 1). Av de som inkom direkt var två hästar undersökta av veterinär i fält vid tidigare tillfälle. Tjugonio av hästarna (83 %) hade fått initial behandling innan de remitterades till UDS, fem (14 %) stod inte på behandling och för en (3%) häst angavs det inte om den stod på behandling eller inte. Initial behandling presenteras i tabell 1.

Corneaulcus förekom i höger öga i 17 fall (49 %), vänster öga i 15 fall (43 %) och båda ögonen i tre fall (8 %). Ulcusets lokalisering var perifer i 22 fall (58 %), central i 13 fall (34 %) och inte angiven i 3 fall (8 %). De flesta ulcus (76 %) var ytliga och resterande (24 %) djupa. Varken descemetocèle eller perforation förekom. Smältning förekom i 17 (45 %) av fallen och varierade från mycket lindrig till kraftig. Det fanns en eller flera ytliga stromala abscesser i 6 fall (16 %), vilka samtliga debriderades kirurgiskt på stående, sederad häst. Hästarna lämnade hästkliniken vid UDS när ulcus hade börjat uppvisa läkning och veterinärerna och djurägarna ansåg det möjligt att fortsätta medicinering hemma. Uppföljning till dess att ulcus hade läkt gjordes med jämna intervall på 28/38 (74 %) ögon. Tiden till fluoresceinnegativ var i medel 32,5 dagar (range 3–149 dagar). För övriga 10/38 (26 %) ögon gjordes ingen slutlig uppföljning på UDS. Karakteristika och kliniska fynd är sammanställda i tabell 1.

### Delstudie 1

#### *Cytologi*

För de 38 ulcus som provtogs för cytologi var resultaten följande: purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer 10/38; septisk inflammation med förekomst av enbart kocker eller kockoida bakterier 17/38; septisk inflammation med förekomst av enbart stavar 5/38; septisk inflammation med förekomst av både kocker och stavar 3/38; septisk inflammation med förekomst av mykoplasma 1/38 och purulent inflammation med osäker förekomst av bakterier 2/38.

### **Mikrobiologisk odling**

Den mikrobiologiska odlingen visade följande resultat: ingen infektion påvisad 19/38; *Streptococcus* spp. 14/38; *Moraxella* spp. 2/38; *Staphylococcus aureus* 1/38; *Actinobacillus suis-like* 1/38; *Pseudomonas* spp. 1/38; *Nicoletella semolina* 1/38 (i ett av proverna växte både *Streptococcus* spp. och *Actinobacillus suis-like*) (se tabell 1).

### **Jämförelse mellan cytologi och mikrobiologisk odling**

Av de 28 cytologiska proverna som visade tecken på infektion hade drygt hälften (64 %) påvisad infektion på den mikrobiologiska odlingen. Av de 10 cytologiska proverna där inga tecken på infektion påvisades hade 9/10 (90 %) inte heller någon infektion påvisad vid den mikrobiologiska odlingen men en (10 %) hade växt av *S. aureus*.

Överensstämmelsen mellan positiv respektive negativ cytologi och odling var 74 % ( $\kappa$ -värde 0,47). Av de 10 cytologiska proverna utan tecken på infektion hade 9/10 (90 %) inte heller någon infektion påvisad vid den mikrobiologiska odlingen men en (10 %) hade växt av *S. aureus*. Av de 28 cytologiska proverna som visade tecken på infektion hade drygt hälften (64 %) påvisad infektion på den mikrobiologiska odlingen.

Fynd av kocker eller kockoida bakterier på cytologin och motsvarande fynd på odlingen överensstämde i 75 % av proverna. Av 20 prover som hade förekomst av kocker eller kockoida bakterier på cytologin påvisades *Streptococcus* spp. (12/20, 60 %), *Moraxella* spp. (2/20, 10 %), *Nicoletella semolina* (1/20, 5 %) eller ingen infektion (5/20, 25 %) vid den mikrobiologiska odlingen. Fynd av stavar på cytologin överensstämde endast i 12,5 % med fynd av stavar på odlingen. Av 8 prover med fynd av stavformade bakterier på cytologin påvisades *Actinobacillus suis-like* i ett av proverna vid den mikrobiologiska odlingen.

I tabell 1 finns en sammanställning av resultaten från den cytologiska provtagningen och odlingen.

### **Antibiotikabehandling**

Majoriteten av ulcus (74 %) stod på någon form av antibiotikabehandling vid provtagningstillfället, 5% hade avslutat antibiotikabehandlingen 4 dagar före provtagningen, 18% stod inte på behandling och för 3% fanns det inte angivet om de stod på behandling eller ej. Av de ulcus som stod på antibiotikabehandling fick 89 % (25/28) enbart topikal antibiotika (fusidinsyra 10 st; kloramfenikol 11 st; bensylpenicillin 2 st; ciprofloxacin 1 st; okänd 1 st), 3,5 % (1/28) fick både topikal och systemisk antibiotika (fusidinsyra och bensylpenicillin) och 7,5 % (2/28) fick enbart systemisk antibiotika (bensylpenicillin). För ulcus behandlade med topikal antibiotika var tiden från insatt behandling till provtagning i median 8,5 dagar (negativ odling) respektive 7 dagar (positiv odling). För ulcus som inte behandlats var tiden från upptäckt till provtagning 6,5 dagar (negativ odling) respektive 2 dagar (positiv odling).

Av de 26 corneaulcus som fick topikal antibiotikabehandling visade 20/26 (77 %) tecken på infektion på cytologin och 12/26 (46 %) var positiva på odling. För de 11 corneaulcus som inte stod på någon antibiotikabehandling (hit räknas också de två ulcus som enbart hade fått en dos systemisk antibiotika) visade 7 st (64 %) tecken på infektion på cytologin och 7 st (64 %) var positiva på odlingen.

Tabell 1. *Karakteristika, kliniska fynd och resultat av cytologi och odling hos 35 hästar (38 ögon) med corneaulcus*

Fall	Ras Ålder Kön	Duration Rem/ej rem Tid till läkning	Initial behand.	Kliniska parametrar	Utbredning (mm) Djup Central/perifert	Resultat cytologi	Resultat odling
1	Vbl 2 år Sto	3 d Rem 38 d	a, e	T: Måttligt B: $\geq 50$ % M: Kraftig L: Kraftig S: Ja	20 x 20 mm Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
2	Korsning 12 år Val	14 d Rem 12 d	a, c, d, e	T: Lindrigt B: $\geq 50$ % M: Kraftig L: Kraftig S: Ja	10 x 8 mm Ytligt Centralt	Septisk inflammation med eventuellt kocker till kockoida stavar	<i>Pseudomonas</i> spp.
3	SWB 21 år Sto	7 d Ej rem <sup>#</sup> 16 d	a	T: Lindrigt B: $< 50$ % M: Lindrig L: ? S: Nej	12 x 4 mm Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
4	Islands- häst 3 år Hingst	0 d Rem 7 d	b, c, e	T: Rikligt mukopurulent B: $< 50$ % M: Kraftig L: Kraftig S: Nej	10 x 8 mm Djupt Perifert	Septisk inflammation med kocker i par och kedjor	<i>Streptococcus</i> spp.

5	SWB	1 d		T: Purulent			
	3 år	Rem		B: $\geq 50$ %	7 x 7 mm biofilm	Septisk inflammation med	
	Sto	4 d	-	M: Kraftig L: Hypopyon S: Ja	Ytligt ?	intracellulära stavformade bakterier <sup>‡</sup>	<i>Actinobacillus suis</i> -like och <i>Streptococcus</i> spp.
6	Korsning	1–7 d		T: Måttligt seromuköst			
	15 år	Rem		B: $\geq 50$ %	10 x 10 mm	Septisk inflammation med	
	Sto	53 d	-	M: Kraftig L: ? S: Ja	Ytligt Centralt	intra- och extracellulära stavformade bakterier och kocker	<i>Nicoletella semolina</i> <sup>**</sup>
7	Arabiskt fullblod	6 d <sup>†</sup>		T: Lindrigt seröst			
	3 år	Rem		B: $\geq 50$ %	7 x 8 mm		
	Sto	?	f	M: ? L: Lindrig S: Nej	Ytligt Centralt	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
8	SWB	14 d		T: Lindrigt seröst			
	10 år	Ej rem <sup>#</sup>		B: $\geq 50$ %	10 x 8 mm		
	Sto	142 d	-	M: Nej L: Lindrig S: Ja	Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
9	Vbl	1 d		T: ?			
	2 år	Rem		B: <50 %	4 x 5 mm		
	Hingst	32 d	a, b, e, f	M: Kraftig L: Hypopyon S: Ja	Djupt* Centralt	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad

				T: Mukopurulent B: <50 % M: Nej L: ? S: Ja	6 x 6 mm Ytligt Perifert	Purulent inflammation med osäkra fynd av en intracellulär stavformig bakterie	Ingen infektion påvisad
10	AMH 12 år Val	2 d Rem 24 d	a, c, d,				
				T: Lindrigt seromuköst B: <50 % M: Lindrig L: Ja S: Nej	3 x 4 mm Ytligt** Perifert	Septisk purulent inflammation med kockoida bakterier intra- och extracellulärt	<i>Streptococcus</i> spp.
11	Islands- häst 18 år Val	2 d Rem ?	a, c, e				
				T: Seröst B: ≥50 % M: Kraftig L: ? S: Nej	11 x 11 mm Ytligt Centralt	Septisk inflammation med kockoida bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.
12	Vbl 23 år Sto	7 d Rem 30 d	a, c, e				
				T: Rikligt purulent B: ≥50 % M: Ja L: Hypopyon S: Ja	17 x 17 mm Djupt Centralt	Septisk inflammation med små kockoida bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.
13	Kallblods- travare 1 år Hingst	5 d Rem 29 d	a				
				T: Rikligt purulent B: ≥50 % M: Kraftig L: Kraftig S: Ja	5 x 5 mm Djupt Perifert	Septisk purulent inflammation med kockoida bakterier och enstaka stavar	Ingen infektion påvisad
14	Vbl 2 år Sto	1–2 d Rem 16 d	?				

15	Shetland 11 år Sto	0 d Ej rem ?	-	T: Rikligt purulent B: <50 % M: Kraftig L: Kraftig S: Nej	10 x 10 mm Ytligt Perifert	Septisk inflammation med eventuell förekomst av kockoida bakterier <sup>‡</sup>	Ingen infektion påvisad
16	SWB 12 år Val	21 d† Ej rem 14 d	a, c, d, e	T: Måttligt seröst B: <50 % M: Måttlig L: ? S: Nej	6 x 8 mm Djupt Centralt	Septisk purulent inflammation med intra- och extracellulära korta stavar	Ingen infektion påvisad
17	Vbl 26 år Sto	21 d Rem 32 d	a, d, e	T: Måttligt seromuköst B: ≥50 % M: Nej L: Lindrig S: Nej	10 x 20 mm Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
18	SWB 2 år Sto	3 d Rem 27 d	a, c, d, e	T: Rikligt purulent B: ≥50 % M: Nej L: Ja S: Ja	10 mm x 10 mm Djupt ?	Septisk inflammation med små kockoida bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.
19	NSV 1 år Sto	0 d Rem 14 d	b, c, d, e	T: Lindr-måttl mukopurulent B: ≥50 % M: Lindrigt L: Hypopyon S: Nej	3 x 3 mm Djupt* Centralt	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	<i>Staphylococcus aureus</i>



	Islands- häst	10 d		T: Lindrigt mukopurulent B: $\geq 50$ % M: Kraftig	3 x 6 mm		
20	14 år Val	Rem 14 d	a, c, e	L: Kraftig S: Ja	Djupt Perifert	Septisk inflammation med små stavformade bakterier	Ingen infektion påvisad
	SWB	14 d <sup>†</sup>		T: Måttligt seröst B: $\geq 50$ % M: Nej	?		
21	20 år Val	Rem 149 d	a, c, e	L: Måttlig S: Ja	Ytligt Centralt	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
	Fjordhäst	11–14 d		T: Lindrigt seröst B: $\geq 50$ % M: Nej	10 x 5 mm		
22	7 år Sto	Rem 37 d	a, c, e	L: - S: Nej	Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
	SWB	14 d <sup>†</sup>		T: ? B: ? M: Kraftig	?		
23	3 år Sto	Rem ?	a, c, e, f	L: Kraftig S: Nej	Ytligt Perifert	Septisk inflammation med intra- och extracellulära stavformade bakterier <sup>‡</sup>	Ingen infektion påvisad
	Korsning	7 d <sup>†</sup>		T: Lindrigt muköst B: $< 50$ % M: -	6 x 9 mm		
24 (hö)	13 år Val	Rem 129 d	a, c, e	L: Lindrig S: Ja	Ytligt Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier <sup>‡</sup>	<i>Streptococcus</i> spp.

24	(vä)		7 d† Rem ?	a, c, e	T: Lindrigt mukopurulent B: ≥50 % M: Lindrig L: Kraftig S: Ja	8 x 10 mm Ytligt Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier i kedjor‡	<i>Streptococcus</i> spp.
25	(hö)	SRP 13 år Sto	14 d Rem ?	a, c, e	T: Kraftigt mukopurulent B: ≥50 % M: Kraftig L: Hypopyon S: Ja	10 x 8 mm Djupt** Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.
25	(vä)		14 d Rem ?	a, c, e	T: - B: <50 % M: - L: - S: Nej	7x 4 mm Ytligt** Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier intracellulärt	<i>Streptococcus</i> spp.
26		Vbl 9 år Val	7 d† Rem ?	a	T: Lindrigt muköst B: <50 % M: Kraftig L: Måttlig S: Nej	10 x 12 mm Ytligt Perifert	Septisk inflammation med mykoplasma	Ingen infektion påvisad
27		SWB 14 år Val	5 d Rem 20 d	a, c, d, e	T: Lindrigt seröst B: ≥50 % M: Nej L: Kraftig S: Ja	8 x 6 mm Ytligt ?	Septisk inflammation med extracellulära stavformiga bakterier och enstaka kockoida bakterier	Ingen infektion påvisad

				T: Lindrigt seröst B: <50 % M: Nej L: - S: Nej	7 x 6 mm Ytligt Centralt	Septisk inflammation med kockoida bakterier	Ingen infektion påvisad
28	SRP 9 år (hö) Val	3 d Rem 18 d	a, c, d, e				
28	(vä)	11–12 d Rem 18 d	a, c, d, e	T: Måttligt serröst B: ≥50 % M: Kraftig L: Kraftig S: Nej	5 x 6 mm Ytligt** Centralt	Septisk inflammation med stavformiga bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.
29	Arabiskt fullblod 23 år Sto	7 d Rem ?	a, c, e	T: Seröst B: <50 % M: Nej L: - S: Nej	4 x 7 mm Ytligt** Centralt	Septisk inflammation med kockoida bakterier i kedjor, troligen streptococcus	<i>Streptococcus</i> spp.
30	Vbl 9 år Sto	70 d Rem 20 d	a	T: Lindrigt purulent B: <50 % M: Ja L: Måttlig S: Ja	5 x 5 mm Ytligt** Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier både intra- och extracellulärt	<i>Streptococcus</i> spp.
31	Kallblods- travare 6 år Sto	1 d Rem 3 d	d, e	T: Seröst B: ≥50 % M: Kraftig L: ? S: Nej	7 x 3 mm Ytligt Centralt	Septisk inflammation med kockoida till stavformade bakterier	<i>Streptococcus</i> spp.

	Arabiskt fullblod	19 d		T: Seröst B: <50 % M: Nej	2 x 3 mm		
32	7 år Val	Rem 5 d	a, e	L: - S: Nej	Ytligt Perifert	Purulent inflammation utan tecken på mikroorganismer	Ingen infektion påvisad
	SWB	2 d		T: Måttligt seröst B: ≥50 % M: Måttlig	Sprickbildning		
33	3 år Sto	Rem ?	-	L: - S: Nej	Ytligt Perifert	Septisk inflammation med kockoida stavar	<i>Moraxella equi</i>
	Islands- häst	4–5 d		T: Lindrigt seröst B: <50 % M: Nej	7 x 7 mm		
34	5 mån Sto	Rem 7 d	-	L: - S: Nej	Ytligt Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier	<i>Moraxella spp.</i>
	SWB	11 d		T: Seröst B: ≥50 % M: Nej	15 x 20 mm		
35	7 år Val	Rem 5 d	a, c, d	L: Lindrig S: Nej	Ytligt Perifert	Septisk inflammation med kockoida bakterier	Ingen infektion påvisad

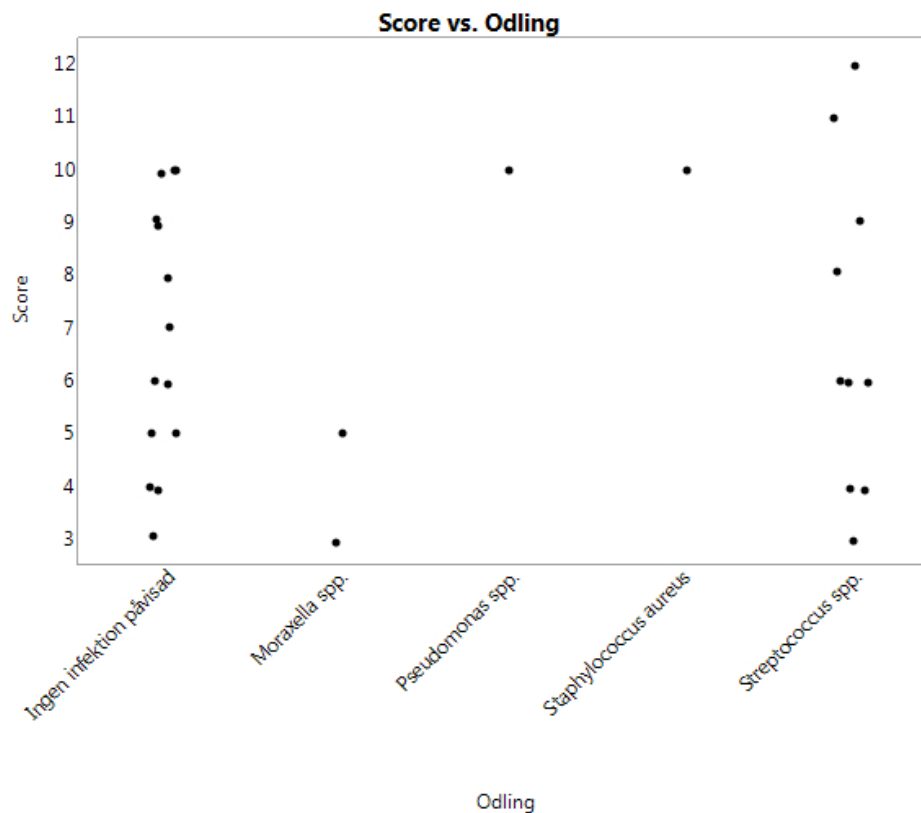
AMH: amerikansk miniatyrhäst; SRP: svensk ridponny; rem: remitterad; T: tårflöde; B: blefarospasm; M: mios; L: ljusväg; S: smältning; †: känd historia av kronisk keratit; #: undersökt och/eller behandlad av veterinär i fält vid tidigare tillfälle; a: topikal antibiotika; b: systemisk antibiotika; c: atropin; d: serum/EDTA/plasma; e: systemisk NSAID; f: kortikoider; \*: misstanke om perforation; \*\*: förekomst av intrastromal abscess; ‡: tecken på eosinofil keratit; ††: oklar klinisk betydelse, normalt luftvägspatogen

## Delstudie 2

Av de 35 hästarna som hade haft ett primärt corneaulcus fanns fullständiga journaler avseende de kliniska parametrarna *knipgrad*, *ljusväg*, *smältning*, *ulcusets djup* och *lokalisering* för 25 av hästarna. Tre av dessa hade bilaterala ulcus vilket resulterade i 28 ögon med mätbara kliniska parametrar.

Alla ögon uppvisade någon grad av blefarospasm. Ljusväg förekom i 75 % av fallen och smältning i 50 %. Majoriteten av ulcusen var ytliga (75 %), inget var vid undersökningstillfället ett descemetocoele eller perforerande även om tidigare perforation misstänktes i två fall. Sex ulcus hade en eller flera intrastromala abscesser. Den kliniska scoringen varierade mellan 3–12 (median 6,0) (figur 2). De kliniska fynden, kliniskt score och odlingsresultat är sammanställt i tabell 2.

Av de prover där ingen infektion kunde påvisas vid odlingen (14/28, 50 %) varierade den kliniska scoringen mellan 3–10 (median 6,5). Den största gruppen av positiva odlingar utgjordes av *Streptococcus* spp. (10/28, 71 %) och hade en klinisk scoring mellan 3–12 (median 6,0). *Moraxella* spp. var det näst vanligaste fyndet på odling (2/28, 14 %). Dessa ulcus hade en klinisk scoring mellan 3–5 (median 4). Endast ett ulcus var positivt för respektive *Pseudomonas* spp. och *Staphylococcus aureus*. Den kliniska scoringen för båda dessa var 10.



Figur 2. Klinisk score och odlingsresultat från 28 corneaulcus. Fördelningen av fynd vid den mikrobiologiska odlingen var ingen infektion påvisad (14 st); *Moraxella* spp. (2 st); *Pseudomonas* spp. (1 st); *Staphylococcus aureus* (1 st) och *Streptococcus* spp. (10 st).

Tabell 2. Kliniska fynd och odlingsresultat från 28 corneaulcus

Fall	Blefarospasm	Ljusväg	Smältning	Djup	Lokal.	Score	Odling
1	≥50%	Kraftig	Ja	Ytligt	P	9	Ingen infektion påvisad
2	≥50%	Kraftig	Ja	Ytligt	C	10	<i>Pseudomonas</i> spp.
4	<50%	Kraftig	Nej	Djupt	P	6	<i>Streptococcus</i> spp.
7	≥50%	Lindrig	Nej	Ytligt	C	7	Ingen infektion påvisad
8	≥50%	Lindrig	Ja	Ytligt	P	8	Ingen infektion påvisad
9	<50%	Hypopyon	Ja	Djupt*	C	10	Ingen infektion påvisad
11	<50%	Måttlig	Nej	Ytligt**	P	4	<i>Streptococcus</i> spp.
13	≥50%	Hypopyon	Ja	Djupt	C	12	<i>Streptococcus</i> spp.
14	≥50%	Kraftig	Ja	Djupt	P	10	Ingen infektion påvisad
15	<50%	Kraftig	Nej	Ytligt	P	5	Ingen infektion påvisad
17	≥50%	Lindrig	Nej	Ytligt	P	6	Ingen infektion påvisad
19	≥50%	Hypopyon	Nej	Djupt*	C	10	<i>Staphylococcus aureus</i>
20	≥50%	Kraftig	Ja	Djupt	P	10	Ingen infektion påvisad
21	≥50%	Måttlig	Ja	Ytligt	C	9	Ingen infektion påvisad
22	≥50%	-	Nej	Ytligt	P	5	Ingen infektion påvisad
24 hö	<50%	Lindrig	Ja	Ytligt	P	6	<i>Streptococcus</i> spp.
24 vä	≥50%	Kraftig	Ja	Ytligt	P	9	<i>Streptococcus</i> spp.
25 hö	≥50%	Hypopyon	Ja	Djupt**	P	11	<i>Streptococcus</i> spp.
25 vä	<50%	-	Nej	Ytligt**	P	3	<i>Streptococcus</i> spp.
26	<50%	Måttlig	Nej	Ytligt	P	4	Ingen infektion påvisad
28 hö	<50%	-	Nej	Ytligt	C	4	Ingen infektion påvisad
28 vä	≥50%	Kraftig	Nej	Ytligt**	C	8	<i>Streptococcus</i> spp.
29	<50%	-	Nej	Ytligt**	C	4	<i>Streptococcus</i> spp.
30	<50%	Måttlig	Ja	Ytligt**	P	6	<i>Streptococcus</i> spp.
32	<50%	-	Nej	Ytligt	P	3	Ingen infektion påvisad
33	≥50%	-	Nej	Ytligt	P	5	<i>Moraxella</i> spp.
34	<50%	-	Nej	Ytligt	P	3	<i>Moraxella</i> spp.
35	≥50%	Lindrig	Nej	Ytligt	P	6	Ingen infektion påvisad

\*: misstänkt perforation; \*\*: stromal abscess; P: perifert; C: centralt

## DISKUSSION

Som beskrivet i litteraturstudien kan ett cornealculus snabbt drabbas av komplikationer som infektion och smältning och därför är snabb och tillförlitlig diagnostik som syftar till att identifiera inflammation, infektiöst agens och antibiotikaresistensbestämma bakterier av största vikt (Ollivier, 2005). I den internationella litteraturen beskrivs både inom human- och veterinärmedicin en tradition av att behandla cornealculus empiriskt utan föregående diagnostisk provtagning, ett förfarande som kan användas vid okomplicerade cornealculus och som gör att man vinner tid. När provtagning görs är cytologi och mikrobiologisk odling de vedertagna metoderna och mikrobiologisk odling anses vara "golden standard" (Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996; Pakzad-Vaesi *et al.*, 2015; SVS riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård, 2013).

Denna retrospektiva studie visar att fler av de cytologiska proverna detekterade infektion (74 %) jämfört med odlingarna (50%). Det är resultat som skiljer sig från tidigare publicerade data (Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996). Massa *et al.* (1999) gjorde en prospektiv studie där 48 djur av olika arter med misstänkt infektiös ulcerativ keratit ingick. De provtog ulcerationerna för både cytologi och odling enligt normal standard. Deras resultat visade att den mikrobiologiska odlingen hade en liten fördel (60 %) jämfört med det cytologiska provet (54 %) när metoderna jämfördes för detektion av infektion. Däremot ökade andelen provsvar där man kunde identifiera infektion när mikrobiologisk odling och cytologi kombinerades (73 %), vilket också var deras hypotes. I vår studie ökade inte andelen provsvar där man kunde identifiera infektion nämnvärt när cytologi och odling kombinerades (74 % respektive 76 %) då endast ett prov påvisade växt på odling utan att man såg bakterier på cytologin. Skillnaderna i resultat mellan studierna skulle kunna bero på provtagningsrutiner, kompetens hos provtagaren och den som tolkar proverna. I en prospektiv studie, som den av Massa *et al.* (1999), kan provtagningen standardiseras. Den möjligheten finns inte i en retrospektiv studie som denna utan här har det istället förutsatts att klinikens provtagningsrutiner har följts. Det går inte att utesluta att det finns vissa skillnader i provtagningsförfarandet då det var flera olika veterinärer inblandade, alla med olika mycket erfarenhet av cornealculus, och provtagningstekniken måste därför ses som en osäkerhetsfaktor. En annan osäkerhetsfaktor är att i gruppen "ingen infektion påvisad" i odlingssvaren kan det gömma sig prover som egentligen påvisade växt av bakterier men där laboratoriet har valt att svara ut dessa som ospecifika fynd utan klinisk relevans. Att provmaterialet är relativt litet (endast 38 ulcus) kan naturligtvis också bidra. Trots att det i flera studier är den mikrobiologiska odlingen som genererar mest och säkrast information då patogenerna kan artbestämmas och bakterier antibiotikaresistensbestämmas, finns det konsensus att cytologisk provtagning har en viktig plats i diagnostiken (Gilger, 2017; Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Massa *et al.*, 1999; Pakzad-Vaesi *et al.*, 2015). Som litteraturstudien visar är cytologisk provtagning viktig ur flera aspekter. Cytologi kan ge snabb information om vilken typ av agens som finns närvarande, till exempel kocker, kockoida eller stavformade bakterier, och kan därmed ge information inför val av antibiotikabehandling innan resultatet från den mikrobiologiska odlingen finns tillhands. Enligt svensk antibiotikapolicy (SVS riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård, 2013) ska ett ytligt okomplicerat cornealculus utan tecken på infektion eller smältning på grund av komplikationsrisken behandlas med antibiotika profylaktiskt. Rekommendationen är att välja ett antibiotikum med smalt spektrum, till exempel fusidinsyra, och det är inte nödvändigt att provta dessa ulcus förutsatt att de läker som förväntat. Vid djupare cornealculus och vid tecken på infektion, smältning eller andra komplikationer ska cytologi och mikrobiologisk odling alltid göras och behandling med ett antibiotikum med bredare spektrum, till exempel kloramfenikol, gentamicin eller ciprofloxacin, kan vara indicerat. I internationell litteratur beskrivs till skillnad från den svenska rekommendationen att cornealculus oavsett allvarlighetsgrad ofta behandlas empiriskt med bredspektrumantibiotika, ibland i kombinationer, och att man sällan provtar för vidare diagnostik (Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996). Med tanke på risken för antibiotikaresistens är det viktigt att inte behandla bakteriella infektioner med bredare antibiotika än nödvändigt. Skulle fler komplicerade cornealculus provtas och antibiotikavalet baseras på resultatet skulle det internationella användandet av bredspektrumantibiotika eventuellt minska. Men, för att komma dit måste man se värdet av detta mer

komplikerade förfarande och ökade kostnader och inte som McLeod *et al.* (1995) ifrågasätta värdet av diagnostisk provtagning då de flesta corneaulcus läker utan komplikationer på insatt behandling.

En annan fördel med cytologisk provtagning är att man kan undersöka förekomst av neutrofiler i ulcus och därmed avgöra risken för keratomalaci, en allvarlig komplikation orsakad av en överdriven aktivitet av de nedbrytande proteaserna från neutrofiler och/eller patogener (Gilger, 2017; Matsumoto *et al.*, 1993; Ollivier, 2005). Cytologi är därför ett bra diagnostiskt prov för att få ytterligare information om risken för keratomalaci och utifrån detta välja lämplig kompletterande behandlingsstrategi. Med hjälp av cytologi kan också andra typer av inflammatoriska celler detekteras. Fynd av eosinofiler på cytologi är till exempel alltid ett observandum då denna celltyp inte finns normalt i cornea. Eosinofiler indikerar en akut hypersensitivitet, parasitinfektion eller eosinofil keratit, diagnoser som inte kan ställas med hjälp av mikrobiologisk odling (Gilger, 2017). Cytologi är också viktigt för att påvisa svampinfektion. Fynd av svamp på cytologin föranleder svampodling, något som inte görs rutinemässigt i Sverige eftersom svampinducerade keratiter är ovanliga under svenska förhållanden (Neumann & Sjöstrand, 1993). I vår studie påvisades ingen svamp i de cytologiska proverna men värt att nämna är att det i ett av de cytologiska proverna påvisades mykoplasma. Den mikrobiologiska odlingen påvisade dock inget agens i detta fall vilket förmodligen beror på att mykoplasma är mycket svårödlad och kan förekomma som opportunist i samband med hornhinnesår.

Överensstämmelsen mellan cytologi och mikrobiologisk odling var i studien som helhet 74 % och statistisk analys av Cohens kappa gav ett värde på 0,47 vilket tolkas som acceptabel överensstämmelse. Våra resultat stämmer väl överens med resultatet som Hindley *et al.* (2016) visade i en prospektiv studie. De studerade sambandet mellan kliniska parametrar och infektiöst agens hos 71 hundar med infektiös keratit och kunde visa en överensstämmelse på 70 % mellan cytologi och odling. Vad som kan vara än mer intressant ur ett behandlingsperspektiv är sambandet mellan förekomst av kocker/kockoida bakterier eller stavar på cytologi och motsvarande typ av bakterie på odling. Litteraturen uppvisar en stor variation vad gäller detta. Massa *et al.* (1999) visade en överensstämmelse på 85 % medan den i en retrospektiv studie av McLeod *et al.* (1996), som undersökte betydelsen av odling, cytologi och resistensbestämning av bakterier i 81 fall av infektiös keratit på människor, endast var 26,8 %. I vår studie varierade överensstämmelsen mycket beroende på typ av bakterie. I de fall cytologin påvisade kocker eller kockoida bakterier var överensstämmelsen hög (75 %) men när cytologin visade tecken på stavformade bakterier var den däremot låg, endast 12,5 %. Av de 20 cytologiska proverna med kocker eller kockoida bakterier återfanns *Streptococcus* spp., *Moraxella* spp. eller *Nicoletella semolina* på odlingen i 15 av dem, resterande 5 prover påvisade ingen växt. *Moraxella* spp. är en kockoid stav, men kan på grund av sitt utseende och att de kan ligga i par och kedjor vara svår att särskilja från kocker på cytologin, varför de tagits upp i denna grupp. I endast ett av de åtta proverna som påvisade stavformade bakterier på cytologin växte det en stavformad bakterie på odlingen (*Actinobacillus suis-like*), i fem av proverna påvisades ingen växt och i två av proverna växte kocker (ett av dessa hade också påvisat kocker på cytologin). En anledning till den stora skillnaden i överensstämmelse beroende på typ av bakterie kan återigen vara att materialunderlaget är litet eller att det kan vara svårt att avgöra på cytologin om bakterien är en kock, kockoid till stavformad eller stavformad bakterie. Ytterligare en möjlig förklaring kan vara att stavarna eventuellt behöver längre tid på sig att växa ut på den aeroba odlingen och att odlingen för dem har avslutats för tidigt, att de är anaeroba eller att de är känsligare för provet hanteras mellan provtagningen och odlingen eller på grund av pågående antibiotikabehandling.

Trots att överensstämmelsen mellan cytologi och odling är hög när infektion inte påvisas på cytologin är det riskabelt att avstå från att göra en mikrobiologisk odling. I den här studien förekom ett fall där man inte såg tecken på infektion på cytologin men odlingen påvisade växt av *S. aureus*. Det fanns även två fall med osäkra tecken på bakterier på cytologin varav ett påvisade växt av *Pseudomonas* spp. på odlingen. Dessa fynd samt resultat från andra studier visar att det är viktigt att gå vidare med mikrobiologisk odling för att minska risken för allvarliga komplikationer.



Med tanke på att många av de corneaulcus som kommer in till remissinstans, såsom hästkliniken på UDS, redan står på antibiotikabehandling är det en relevant frågeställning huruvida den pågående antibiotikabehandlingen har en avgörande påverkan på odlingsresultatet och om det går att dra en slutsats om det är lämpligt att göra en odling eller inte. I den här studien stod 26 corneaulcus på behandling med topikal antibiotika vid provtagningsstillfället. Resultatet visar en viss skillnad i andel positiva odlingar från ulcus som har behandlats (46 %) respektive inte behandlats (64%) med topikal antibiotika. Massa *et al.* (1999) visade liknande resultat för ulcus som stod på antibiotikabehandling (53 %) men en högre andel var positiva av de som inte stod på behandling (90%). Att andelen positiva odlingar trots pågående topikal antibiotikabehandling ändå är relativt hög kan bero på antibiotikaresistens hos infekterande agens, felaktig dos eller frekvens samt felaktig administration av läkemedlet. Det bör påpekas att djur (särskilt hästar) kan vara svåra att administrera ögonläkemedel till följd av ovillighet att samarbeta, vilket kan påverka mängden läkemedel som deponeras i ögat. Att odlingsresultatet i den här studien påvisade infektion i nästan hälften av de ulcus som behandlats med topikal antibiotika beror inte på behandlingstiden då denna inte skiljer sig nämnvärt jämfört med odling där infektion inte påvisades (7 respektive 8,5 dagar). Utöver de 26 ulcus som stod på topikal behandling var två ulcus behandlade med systemisk antibiotika. Dessa hade endast fått en dos vardera före remiss till hästkliniken och eftersom systemisk antibiotika inte är effektivt i ett corneaulcus innan blodkärl har vuxit in i cornea har dessa hanterats som obehandlade i denna studie. Även då provmaterialet i den här studien är relativt litet visar resultatet att det är värt att göra en mikrobiologisk odling trots pågående antibiotikabehandling och som nämnt ovan rekommenderar även Massa *et al.* (1999) att cytologi och odling bör kombineras för ett så säkert provresultat som möjligt.

Ett observandum som är värt att kommentera i den här studien är att det av de 6 ulcus med intrastromala abscesser som förekom i studien påvisades *Streptococcus* spp. i 100 % av odlingarna. Detta kan ge stöd i valet av antibiotika för liknande fall. En parentes i studien är att den kliniska betydelsen av *Nicoletella semolina* i corneaulcus är något oklar då det är en luftvägspatogen och inget vanligt förekommande etiologiskt agens vid infektiösa corneaulcus (Hindley *et al.*, 2016; Keller & Hendrix, 2005; Ledbetter & Scarlett, 2008; Massa *et al.*, 1999; McLeod *et al.*, 1996).

Den kliniska scoringen som användes i delstudie två, där vi undersökte de kliniska parametrarna i relation till infektiöst agens, har sin grund i ett vedertaget scoringsystem (Keay *et al.*, 2006). Det har dock modifierats för att inkludera kliniska parametrar som är viktiga i bedömningen av ulcusets allvarlighetsgrad, som blefarospasm, smältning och ljusväg. Även Hindley *et al.* (2016) använde en modifierad variant av scoringsystemet i sin studie där de studerade sambandet mellan kliniska parametrar och infektiöst agens hos 71 hundar med infektiös keratit. Vår studie gav inga entydiga resultat då det inte gick att urskilja några tydliga skillnader i kliniskt score mellan olika agens. Det finns dessutom flera osäkerhetsfaktorer som sannolikt påverkar resultatet. Dels är detta en retrospektiv studie där flera olika veterinärer graderat de kliniska parametrarna och det har inte funnits definierade riktlinjer för graderingen. Dessutom är de kliniska parametrarna relativt ospecifika i sig. Grad av blefarospasm vid smärta kan till exempel variera beroende på hästens temperament, det vill säga hur benägen just den individen är att visa smärta. Den är också nära relaterad till graden av uveit som i sin tur inte enbart beror på förekomst av infektion i ulcus eller ej, utan också kan vara orsakad av det trauma mot ögat som uppstod i samband med att såret uppkom. Trots att inga säkra slutsatser kan dras utifrån resultatet från delstudie två finns det några allmänna kommentarer om fynden som kan vara värda att hålla i minnet vid den kliniska undersökningen av corneaulcus. *Pseudomonas* spp. och *S. aureus* utmärkte sig med höga score (10) men resultatet är baserat på endast en odling för respektive bakterie varför det är svårt att säkert veta om detta är representativt för dessa agens i allmänhet. Vidare sågs i den här studien att de två proverna med *Moraxella* spp. hade ett lågt score (3 respektive 5). *Streptococcus* spp., som var den vanligast förekommande bakterietypen, verkar kunna presenteras med allt från lindriga till kraftiga kliniska fynd men hade en median som var lägre än den för både *Pseudomonas*, *S. aureus* och gruppen där ingen infektion påvisades (score range 3–12; median 6,0). I studien av Hindley *et al.* (2016) var *Pseudomonas* i likhet med den här studien associerad med ett högre score (6,0) medan både

*Streptococcus* och *Staphylococcus* var associerade med lägre score (5,78 respektive 4,40), skillnaden var dock inte signifikant vid statistisk analys.

För att kunna dra säkrare slutsatser angående eventuellt samband mellan klinisk allvarlighetsgrad och infektiöst agens behövs ett större material och det ideala vore naturligtvis en prospektiv studie med standardiserade kliniska parametrar och provtagning. Om de kliniska fynden skulle visa sig ha ett samband med infektiöst agens kan det ha viss betydelse för kliniskt verksamma veterinärer som komplement till cytologisk och mikrobiologisk provtagning. Utifrån cornealucusetts karaktär och de kliniska fynden skulle de, tillsammans med eventuell cytologi och odling, kunna göra en bedömning och mycket tidigt i förloppet sätta in korrekt behandling och därmed förbättra förutsättningarna till snabb sårsläkning, minimera risken för komplikationer och därmed minskat lidande för hästen. Det skulle också vara en fördel i de fall ekonomi är en begränsande faktor. Vid journalgenomgången framkom det att vissa av hästarna som inkom till hästkliniken på UDS hade kostnadsrestriktioner. I sådana situationer blir det veterinärens uppgift att värdera och välja den bästa diagnostiska metoden. Om det går att utläsa mer information från den kliniska undersökningen skulle det bli lättare för veterinären att fatta välgrundade beslut angående fortsatt provtagning och behandlingsplan.

Allt material till den här studien är insamlat från fall som inkom till hästkliniken vid UDS under åren 2015–2016. Åldersspannet sträckte sig mellan 5 månader till 26 år och många olika raser finns representerade. Det var något fler ston än valacker och hingstar (20 ston, 12 valacker och 3 hingstar) vilket förmodligen är en slump. Som diskuterats tidigare skulle ett mer omfattande material kunna ge säkrare resultat. För en retrospektiv studie skulle fall från flera av de större hästklinikerna kunna bidra med mer information. Utöver alla parametrar som är studerade i det här arbetet skulle man eventuellt också kunna särskilja årstids- och geografiska skillnader avseende infektiöst agens.

Sammanfattningsvis visar den här studien att cytologi är ett bra och viktigt prov för att diagnostisera cornealucus då det kan ge snabb och relevant information som kan vara till hjälp vid val av behandlingsstrategi och minska risken för komplikationer som keratomalaci och infektion. Litteraturstudien och den retrospektiva observationsstudien visar också att cytologisk undersökning och mikrobiologisk odling bör kombineras för att maximera möjligheten att detektera en komplicerande infektion. Risken är annars att man missar en infektion som behöver behandlas, vilket i sig ökar risken för komplikationer såsom synnedsättning och ökat lidande för hästen. Ytterligare en viktig slutsats från denna studie är att trots antibiotikabehandling vid provtagningstillfället sågs en hög andel positiva odlingar och det är därför klokt att provta för mikrobiologisk odling trots pågående antibiotikabehandling vid komplicerade ulcus då detta kan ge värdefull information för fortsatt behandling. De kliniska parametrarna skulle om det kunde påvisas ett samband med infektiöst agens ge viktig information vid val av lämplig behandlingsstrategi, men på grund av ett mycket litet material och osäkerhet i de kliniska parametrarna i denna retrospektiva studie kunde inga säkra slutsatser dras.

## REFERENSER

- Andrew, S.E., Ramsey, D.T., Hauptman, J.G. & Brooks, D.E. (2001). Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanatized horses. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 62, ss. 479–482.
- Bacha, W.J. & Bacha, L.M. (2012). *Color Atlas of Veterinary Histology*. 3rd ed. Wiley Blackwell, Ames, Iowa.
- Benedek, G.B. (1971). Theory of the transparency of the eye. *Applied Optics*, vol. 10, ss. 459–473. <https://doi.org/10.1364/AO.10.000459>
- Bjerkås, E. (2010). *Veterinaer oftalmologi*. Norges Veterinaerhøgskole, Oslo.
- Bron, A.J., Tiffany, M.J., Gouveia, S.M., Yokoi, N. & Voon, L.W. (2004). Functional aspects of the tear film lipid layer. *Experimental Eye Research*, vol. 78, ss. 347–360. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2003.09.019>
- Brooks, D.E., Andrew, S.E., Denis, H., Strubbe, D.T., Biros, D.J., Cutler, T.J., Samuelson, D.A. & Gelatt, K.N. (2000). Rose bengal positive epithelial microerosions as a manifestation of equine keratomycosis. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 3, ss. 83–86.
- Burns, A.R., Li, Z. & Smith, C.W. (2005). Neutrophil migration in the wounded cornea: the role of the keratocyte. *The Ocular Surface*, vol. 3, ss. 173–176. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70249-5](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70249-5)
- Carastro, S.M. (2004). Equine ocular anatomy and ophthalmic examination. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 20, ss. 285–299. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.04.013>
- Comarella, J.D., Gravitol Costa Saraiva, P. & Petersen Saraiva, F. (2015). Corneal ulcer: a retrospective study of a cases seen at the Hospital das Clínicas, Federal University of Espírito Santo. *Revista Brasileira De Oftalmologia*, vol. 74, ss. 76–80. <https://doi.org/10.5935/0034-7280.20150018>
- Cooley, P.L. (1992). Normal equine ocular anatomy and eye examination. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 8, ss. 427–449. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30434-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30434-0)
- Cowell, R. & Tyler, R. (2001). *Diagnostic Cytology and Hematology of the Horse*. Mosby, St. Louis.
- Dana, M.R. & Streilein, J.W. (1996). Loss and restoration of immune privilege in eyes with corneal neovascularization. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 37, ss. 2485–2494.
- Douet, J.-Y., Michel, J. & Regnier, A. (2013). Degree and duration of corneal anesthesia after topical application of 0.4% oxybuprocaine hydrochloride ophthalmic solution in ophthalmically normal dogs. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 74, ss. 1321–1326. <https://doi.org/10.2460/ajvr.74.10.1321>
- Dyce, K.M., Sack, W.O. & Wensing, C.J.G. (2009). *Textbook of Veterinary Anatomy*, 4th ed. Saunders, London.
- Edelhauser, H.F. (2006). The balance between corneal transparency and edema, The Proctor Lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 47, ss. 1755–1767.
- Forrester, J.V., Heping, X., Kuffová, L., Dick, A.D. & McMenamin, P.G. (2010). Dendritic cell physiology and function in the eye. *Immunological Reviews*, vol. 234, ss. 282–304.
- Gelatt, K.N., Gilger, B.C. & Kern, T.J. (2013). *Veterinary Ophthalmology*. Wiley Blackwell, Ames, Iowa.
- Gilger, B.C. (2017). *Equine Ophthalmology*, 3rd ed. ed. Wiley Blackwell, Ames, Iowa.

- Goins, K.M. (2005). New insights into the diagnosis and treatment of neurotrophic keratopathy. *The Ocular Surface*, vol. 3, ss. 96–110.
- Hanlon, S.D., Smith, C.W., Sauter, M.N. & Burns, A.R. (2014). Integrin-dependent neutrophil migration in the injured mouse cornea. *Experimental Eye Research*, vol. 120, ss. 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.01.004>
- Hassell, J.R. & Birk, D.E. (2010). The molecular basis of corneal transparency. *Experimental Eye Research*, vol. 91, ss. 326–335. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2010.06.021>
- Herbig, L.E. & Eule, J.C. (2015). Central corneal thickness measurements and ultrasonographic study of the growing equine eye. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 18, ss. 462–471. <https://doi.org/10.1111/vop.12252>
- Hindley, K.E., Groth, A.D., King, M., Graham, K. & Billson, F.M. (2016). Bacterial isolates, antimicrobial susceptibility, and clinical characteristics of bacterial keratitis in dogs presenting to referral practice in Australia. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 19, ss. 418–426. <https://doi.org/10.1111/vop.12325>
- Jester, J.V. (2008). Corneal crystallins and the development of cellular transparency. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, vol. 19, ss. 82–93. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.09.015>
- Kafarnik, C., Murphy, C.J. & Dubielzig, R. (2009). Canine duplication of Descemet's membrane. *Veterinary Pathology*, vol. 46, ss. 464–473. <https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0183-K-FL>
- Keay, L., Edwards, K., Naduvilath, T., Taylor, H.R., Snibson, G.R., Forde, K. & Stapleton, F. (2006). Microbial keratitis. *Ophthalmology*, vol. 113, ss. 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2005.08.013>
- Keller, R.L. & Hendrix, D.V. (2005). Bacterial isolates and antimicrobial susceptibilities in equine bacterial ulcerative keratitis (1993-2004). *Equine Veterinary Journal*, vol. 37, ss. 207–211.
- König, H.E. & Liebich, H.G. (2009). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas Full Collection*, 4th ed. Schattauer.
- Ledbetter, E.C. & Scarlett, J.M. (2009). In vivo confocal microscopy of the normal equine cornea and limbus. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 12, ss. 57–64. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2009.00730.x>
- Ledbetter, E.C., Scarlett, J.M., 2008. Isolation of obligate anaerobic bacteria from ulcerative keratitis in domestic animals. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 11, ss. 114–122. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2008.00610.x>
- Lehrer, M.S., Sun, T.-T. & Lavker, R.M. (1998). Strategies of epithelial repair: modulation of stem cell and transit amplifying cell proliferation. *Journal of Cell Science*, vol. 111, ss. 2867–2875.
- Linden, S.K., Sutton, P., Karlsson, N.G., Korolik, V. & McGuckin, M.A. (2008). Mucins in the mucosal barrier to infection. *Mucosal Immunology*, vol. 1, ss. 183–197. <https://doi.org/10.1038/mi.2008.5>
- Mantelli, F., Mauris, J. & Argüeso, P. (2013). The ocular surface epithelial barrier and other mechanisms of mucosal protection: from allergy to infectious diseases. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, vol. 13, ss. 563–568. <https://doi.org/10.1097/ACI.0b013e3283645899>
- Martín, E., Molleda, J.M., Ginel, P.J., Novales, M., Lucena, R. & López, R. (1997). Total protein and immunoglobulin concentrations in equine tears. *Zentralblatt Fur Veterinarmedizin. Reihe A*, vol. 44, ss. 461–465.
- Massa, K.L., Murphy, C.J., Hartmann, F.A., Miller, P.E., Korsower, C.S. & Young, K.M. (1999). Usefulness of aerobic microbial culture and cytologic evaluation of corneal specimens in the

- diagnosis of infectious ulcerative keratitis in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, vol. 215, ss. 1671–1674.
- Matsumoto, K., Shams, N.B., Hanninen, L.A. & Kenyon, K.R. (1993). Cleavage and activation of corneal matrix metalloproteases by *Pseudomonas aeruginosa* proteases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 34, ss. 1945–1953.
- Matthews, A.G. (2008). An overview of recent developments in corneal immunobiology: potential relevance in the etiogenesis of corneal disease in the horse. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 11, ss. 66–76.
- McLeod, S.D., Kolaoudouz-Isfahani, A., Rostamian, K., Flowers, C.W., Lee, P.P. & McDonnell, P.J. (1996). The role of smears, cultures, and antibiotic sensitivity testing in the management of suspected infectious keratitis. *Ophthalmology*, vol. 103, ss. 23–28.
- Mescher, A.L. (2010). *Junqueira's Basic Histology Text & Atlas*, 12th ed. The McGraw-Hills Company.
- Moore, C.P. (1992). Eyelid and nasolacrimal disease. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 8, ss. 499–519.
- Moriyama, H., Kasashima, Y., Kuwano, A. & Wada, S. (2014). Anatomical location and culture of equine corneal epithelial stem cells. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 17, ss. 106–112.  
<https://doi.org/10.1111/vop.12050>
- Nagasaki, T. & Zhao, J. (2003). Centripetal movement of corneal epithelial cells in the normal adult mouse. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 44, ss. 558–566.  
<https://doi.org/10.1167/iovs.02-0705>
- Neumann, M. & Sjöstrand, J. (1993). Central microbial keratitis in a Swedish city population. A three-year prospective study in Gothenburg. *Acta Ophthalmologica* vol. 71; ss. 160–164.
- Nieder Korn, J.Y. & Stein-Streilein, J. (2010). History and physiology of immune privilege. *Ocular Immunology and Inflammation*, vol. 18, ss. 19–23. <https://doi.org/10.3109/09273940903564766>
- Oliveira-Soto, L. & Efron, N. (2003). Morphology of corneal nerves in soft contactlens wear. A comparative study using confocal microscopy. *Ophthalmic and Physiological Optics*, vol. 23, ss. 163–174.
- Ollivier, F.J. (2005). Medical and surgical management of melting corneal ulcers exhibiting hyperproteinase activity in the horse. *Clinical Techniques in Equine Practice*, vol. 4, ss. 50–71.  
<https://doi.org/10.1053/j.ctep.2005.03.012>
- Ollivier, F.J. (2004). The precorneal tear film in horses: its importance and disorders. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 20, ss. 301–318.  
<https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.04.008>
- Ollivier, F.J., Gilger, B.C., Barrie, K.P., Kallberg, M.E., Plummer, C.E. & O'Reilly, S. (2007). Proteinases of the cornea and precorneal tear film. *Veterinary Ophthalmology*, vol. 10, ss. 199–206.  
<https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2007.00546.x>
- Pakzad-Vaesi, K., Lévassieur, S.D., Schendel, S., Mark, S., Mathias, R., Roscoe, D. & Holland, S.P. (2015). The corneal ulcer one-touch study: A simplified microbiological specimen collection method. *American Journal of Ophthalmology*, vol. 159, ss. 37–43.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajo.2014.09.021>
- Pirie, C.G., Alario, A.F., Barysaukas, C.M., Gradil, C. & Uricchio, C.K. (2014). Manual corneal thickness measurements of healthy equine eyes using a portable spectral-domain optical coherence tomography device. *Equine Veterinary Journal*, vol. 46, ss. 631–634.  
<https://doi.org/10.1111/evj.12198>

- Plummer, C.E. (2017). Corneal response to injury and infection in the horse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 33, ss. 439–463. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2017.07.002>
- SVS, (2013). *Sveriges Veterinärmedicinska Sällskaps riktlinjer för användning av antibiotika inom hästsjukvård*.
- Tizard, I.R. (2013). *Veterinary Immunology*, 9th ed. Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Torricelli, A.A.M., Vivek, S., Santhiago, M.R. & Wilson, S.E. (2013). The corneal epithelial basement membrane: Structure, function, and disease. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 54, ss. 6390–6400. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12547>
- Wilson, S.E., Chaurasia, S.S. & Medeiros, F.W. (2007). Apoptosis in the initiation, modulation and termination of the corneal wound healing response. *Experimental Eye Research*, vol. 85, ss. 305–311. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2007.06.009>
- Wilson, S.E., He, Y.-G., Weng, J., Li, Q., McDowall, A.W., Vital, M. & Chwang, E.L. (1996). Epithelial injury induces keratocyte apoptosis: Hypothesized role for the interleukin-1 system in the modulation of corneal tissue organization and wound healing. *Experimental Eye Research*, vol. 62, ss. 325–338.
- Wilson, S.E., Mohan, R.R., Mohan, R.R., Ambrósio, R.J., Hong, J. & Lee, J. (2001). The corneal wound healing response: Cytokine-mediated interaction of the epithelium, stroma, and inflammatory cells. *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 20, ss. 625–637. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(01\)00008-8](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(01)00008-8)

## BILAGA 1 – DIAGNOSKODER

Följande är de diagnoskoder som användes vid sökningen av journaler i Trofast vid hästkliniken vid UDS.

ÖA711	Sår övre/nedre ögonlock
ÖC401	Herpeskeratit
ÖC41	Akuta inflammationstillstånd kornea sklera
ÖC4111	Akuta ytliga (epiteliala) ulcera, kornea sklera
ÖC413	Specifika akuta tillstånd, kornea sklera
ÖC4211	Kroniska ytliga (epiteliala) sår, korna sklera
ÖC42112	Kroniska epiteliala erosioner, inklusive ”boxerulcus”
ÖC4221	Hornhinnesar, stromala/djupt ulcus i kornea
ÖC42211	Hornhinnesar, stromalt, ej descemetocele eller perforerande
ÖC42213	Hornhinnesar smältande (=keratomalaci)
ÖC42214	Hornhinnesar perforerande
ÖC4231	Intrastromal nekros/abscess i hornhinna
ÖC4242	Eosinofil proliferativ keratit o/e eosinofil konjunktivit
ÖC4292	Kronisk ytlig keratit, ”pannus”
ÖC5	Immunmedierade tillstånd, kornea sklera
ÖC711	Traumatiska hornhinnesar, ej perforerande
ÖC712	Traumatiska hornhinnesar, perforerande
ÖC7121	Traumatiska hornhinnesar pga skarpt våld, kornea
ÖC7122	Traumatiska hornhinnesar pga trubbigt våld, kornea
ÖC72	Främmande kroppar, kornea sklera
ÖD41	Akuta inflammationstillstånd, uvea fr ögonkammare
ÖD4111	Främre akut uveit utan uppenbart purulenta inslag
ÖD4191	Akut traumatisk uveit
ÖD42	Kroniska inflammationstillstånd, uvea fr ögonkammaren
ÖE201	Katarakt, ej kongenital, ej nutritionell