

# Die Elektroretinographie mit dem RETIport®-System beim Pferd: Normalbefunde bei Hell- und Dunkeladaptation

Simone Zulauf<sup>1</sup>, Vinzenz Gerber<sup>1</sup> und Walter Brehm<sup>2</sup>

Pferdeklinik, Departement für Klinische Veterinärmedizin der Universität Bern, Schweiz<sup>1</sup> und Chirurgische Tierklinik, Veterinärmedizinische Fakultät, Universität Leipzig, Deutschland<sup>2</sup>

## Zusammenfassung

Die Elektroretinographie stellt einen wichtigen Aspekt in der spezialisierten ophthalmologischen Diagnostik beim Pferd dar. Zur Integration des ERG in den ophthalmologischen Untersuchungsgang wurde ein standardisiertes Untersuchungsprotokoll für die elektroretinographische Diagnostik entwickelt. Das RETIport® ERG-Gerät der Firma Acri.Tec AG wurde eingesetzt, um anhand dieses Protokolles an 6 augengesunden Pferden in 18 Untersuchungen Normwerte nach Hell- und Dunkeladaptation zu erheben und die Wiederholbarkeit zu prüfen. Alle Untersuchungen fanden am stehenden und mit Detomidin sedierten Pferd statt. Parameter waren: a-Wellenamplitude, a-Latenzzeit, b-Wellenamplitude und b-Latenzzeit. Zwischen den 6 Pferden bestanden keine signifikanten Unterschiede in allen 4 Parametern, die Werte waren wiederholbar und zeigten wenig Streuung. Die Besonderheit des gewählten Verfahrens liegt in der Einheit aus Aktivelektrode und Blitzlicht: Durch den direkt auf der Koojiman-Elektrode aufgesetzten LED-Stimulator sind Bewegungsartefakte selten. Die Durchführung der elektroretinographischen Untersuchung am stehend sedierten Pferd war gut möglich. Die RETIport-Methode erwies sich als leicht anwendbar, sicher und zuverlässig und kann somit sehr gut in den ophthalmologischen Untersuchungsgang beim Pferd integriert werden.

**Schlüsselwörter:** Elektroretinographie, RETIport®, Koojiman-Elektrode, Pferd, Sedation, ophthalmologische Untersuchung

## Electroretinography with the RETIport®-System in the horse: Normal findings after light- and dark adaptation

Electroretinography is an important part of specialised ophthalmologic diagnostics in the horse. For the integration of ERG in the ophthalmologic examination, a standard equine ERG examination protocol was developed. The RETIport® ERG-system of Acri.Tec AG was used to define normal findings using 6 horses with healthy eyes which underwent 3 repeated examinations for a total of 18 examinations. The normal findings were taken after light- and dark adaptation and repeatability was tested. Every examination was taken in standing horses, sedated with detomidine. 4 parameters of the electroretinogram were taken: a-wave amplitude, a-latency time, b-wave amplitude, b-latency time. No significant differences in all 4 parameters were encountered amongst the 6 horses. Repeatability was excellent and variability low. The unity of the active electrode and the LED-Stimulator is the special feature of the RETIport device. Because of the inseparable unity of the Koojiman-Electrode and the LED-Stimulator, motion artefacts rarely occurred. The method proved to be easy, safe and reliable. Therefore, electroretinography in the standing sedated horse can well be integrated in the ophthalmologic examination using the RETIport system.

**Keywords:** Electroretinography, RETIport®, Koojiman electrode, horse, sedation, ophthalmologic examination

## Einleitung

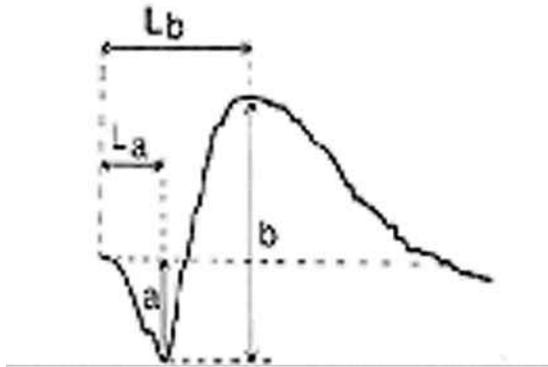
Verschiedene Krankheiten, allen voran die equine rezidivierende Uveitis (ERU), führen zu einer Trübung der optischen Medien. Die ophthalmoskopische Untersuchung des Augenhintergrundes ist in solchen Fällen nicht mehr möglich. Bei der ERU ist die erhaltene Funktionalität der Retina ausschlaggebend für die Entscheidung zur Operation. Voraussetzung für die elektroretinographische Diagnostik sind Normwerte und standardisierte Ableitetechniken, die für jede Tierart und jedes Gerät individuell erarbeitet werden müssen. Ziel dieses Projektes war es, mit dem RETIport® ERG-Gerät der Acri.Tec AG Normwerte augengesunder Pferde zu evaluieren. Weiterhin sollte geprüft werden, ob die Methode in der Praxis in den ophthalmologischen Untersuchungsgang integriert werden kann.

## Allgemeines zur Elektroretinographie

Im Elektroretinogramm werden elektrische Potentiale aufgezeichnet. Diese entstehen auf Grund einer Lichtstimulation,

die zu photochemischen Umwandlungen in den lichtempfindlichen Teilen der Netzhaut und schliesslich zu einer Hyperpolarisation der Fotorezeptoren führt. Die plötzliche Potentialdifferenz kann mittels Elektroden abgeleitet und als Ausschlag aufgezeichnet werden. Bei einer Verschlechterung der retinalen Funktion verschlechtert sich die lichtinduzierte elektrische Aktivität der Netzhaut ebenfalls. Grundsätzlich kann das physiologische Elektroretinogramm in eine negative a-Welle, gefolgt von einer positiven b-Welle unterteilt werden (Abb. 1). Schon Mitte des 19. Jahrhunderts beobachtete der Mathematiker und Physiologe Emil Heinrich du Bois-Reymond in seiner Arbeit „Untersuchung über die tierische Elektrizität“ bei Fischen, Amphibien und Reptilien eine Potentialdifferenz zwischen Cornea und hinterem Augenabschnitt (*De Rouck* 1991). Es folgten unzählige Arbeiten verschiedener Forscher auf diesem Gebiet. Nachdem Riggs 1941 die Aktivelektrode in Form einer Kontaktlinse erfunden hatte, wurde die nichtinvasive Ableitung der elektrischen Potentiale direkt auf der Cornea möglich und die Elektroretinographie wurde zunehmend auch in der klinischen Diagnostik beachtet (*Riggs* 1941). Bis heute hat die Elektroretinographie in der Pferde-

medizin jedoch eine eher kleine Bedeutung. Ab 1977 leiteten Witzel et al. die ersten equinen Elektroretinogramme ab und veröffentlichten verschiedene Arbeiten zur kongenitalen Nachtblindheit beim Appaloosa (Witzel et al. 1977a, 1977b, 1978). 1980 leiteten Wouters et al. Elektroretinogramme von Pferden ab, um zum ersten Mal in der Geschichte der Elektroretinographie das equine Elektroretinogramm unter experimentellen Bedingungen näher zu charakterisieren (Wouters et al. 1980). In dieser Arbeit zeigten sie auch die funktionelle Dualität der equinen Retina mit Stäbchen- und Zapfenkomponenten auf. 1994 publizierte Reitenauer verschiedene Standardwerte von helladaptierten, in Allgemeinanästhesie



**Abb 1** ERG-Parameter, die in der ophthalmologischen Klinik üblicherweise zur Diagnose herangezogen werden: Die Amplitude der a-Welle (a) wird von der Nulllinie bis zum tiefsten Punkt der a-Welle gemessen. Die Amplitude der b-Welle (b) wird vom tiefsten Punkt der a-Welle bis zum Gipfel der b-Welle gemessen. Die Latenzzeit beider Wellen (La, Lb) wird vom Stimulusbeginn bis zum Peak der jeweiligen Welle gemessen (Perlman, Quelle: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>)

*ERG-parameters which are commonly used for diagnosis in clinical ophthalmology: The amplitude of the a-wave (a) is measured from the zero line to the deepest point of the a-wave. The amplitude of the b-wave is measured from the deepest point of the a-wave to the peak of the b-wave. The latency time of both waves (La, Lb) is measured from the begin of the stimulus to the peak of the respective wave (Perlman, source: <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>)*

liegenden und von stehend sedierten Pferden in Dunkeladaptation. Sie verglich die Werte von Pferden verschiedenen Geschlechts und Alters. Im Jahre 2003 entwickelten Komaromy et al. eine für die klinische Diagnostik anwendbare Methode der ERG-Ableitung bei stehend sedierten Pferden. In der Arbeit von Rottensteiner (2000) wurden erstmals verschiedene Indikationen für die Ableitung eines Elektroretinogramms beim Pferd dargestellt und näher erläutert. Sämtliche Autoren auf dem Gebiet der equinen Elektroretinographie hatten jedoch mit einer umständlichen Gerätschaft und den daraus resultierenden Problemen zu kämpfen.

Die Elektroretinographie lebt in der Veterinärmedizin bis heute eher ein Schattendasein und bleibt spezialisierten Zentren vorbehalten: Die technischen Anforderungen und die Kosten sind derzeit noch relativ nach wie vor hoch.

### Eigene Untersuchungen

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Basis für eine Integration der elektroretinographischen Untersuchung in eine

spezialisierte ophthalmologische Untersuchung zu legen. Da Normwerte der physiologischen Retina und standardisierte Ableitetechniken eine Voraussetzung für die elektroretinographische Diagnostik sind, musste ein Untersuchungsgang entwickelt werden, auf Grundlage dessen die Normwerte augensunder Pferde bestimmt werden konnten. Um sowohl eine zapfendominierte wie auch eine stäbchendominierte Untersuchung durchzuführen, sollte einerseits nach Helladaptation und andererseits nach Dunkeladaptation abgeleitet werden. Eine relativ einfache und praxistaugliche Anwendung des Verfahrens ist Bedingung für die Integration der ERG-Untersuchung in eine spezialisierte, ambulant durchzuführende oph-



**Abb 2** RETIport®-ERG-Gerät: Der Computer mit der ERG-Software ist die zentrale Einheit des Systems, darunter die Power Box (Transformator). *RETIport®-ERG-device: The computer with the ERG-software functions as the central unit of the system, underneath the Power Box (Transformer).*

thalmologische Untersuchung. Die erleichterte Einbindung der Elektroretinographie in den ophthalmologischen Untersuchungsgang beim Pferd wird die diagnostischen Möglichkeiten in der Routinediagnostik um den wichtigen elektrophysiologischen Aspekt erweitern.

### Material und Methoden

Sechs Pferde standen zur Evaluation von Normwerten zur Verfügung. Keines der 6 Pferde litt an einer Krankheit oder war unter medikamenteller Behandlung, die einen Einfluss auf das Auge vermuten liess und alle 6 Pferde wurden in einer kurzen Allgemeinuntersuchung als gesund befunden. Eine weitere Voraussetzung für die Aufnahme in die Projektgruppe war, dass die Pferde in einer vorgängig durchgeführten allgemeinen ophthalmologischen Untersuchung ohne pathologische Befunde waren. Das Alter der 4 Stuten und 2 Wallache lag zwischen 7 und 17 Jahren. 1 der 6 Pferde war ein Freiberger, bei den anderen handelte es sich um Warmblüter. Laut einer 1994 veröffentlichten Arbeit gibt es bei Pferden unterschiedlichen Alters oder Geschlechts unter den gleichen Versuchsbedingungen keine signifikanten Unterschiede in den Normwerten des Elektroretinogramms (Reitenauer 1994). Alle 6 Pferde wurden dreimal an unterschiedlichen Tagen mit demselben Protokoll elektroretinographisch untersucht.

Für die elektroretinographische Untersuchung wurde das RETIport®-ERG-Gerät<sup>1</sup> verwendet. Das RETIport®-System basiert auf einer Software, die entwickelt wurde, um elektro-

physiologische Signale aufzunehmen, zu analysieren und zu speichern. Die zentrale Einheit ist der PC. Dieser ist wie alle anderen Teile des Systems über die Power Box (Trenn-Transformator MT 1000) ans Versorgungsnetz angeschlossen (Abb. 2).

Der Patient wird über 3 Elektroden mit der Geräteeinheit verbunden: Als Erdungs- und Referenzelektroden werden Nadelelektroden (Abb. 3) benutzt, die subkutan am Patienten platziert werden. Bei der Aktivelektrode handelt es sich um eine Kooijman-Elektrode mit direkt aufgesetztem LED-Stimulator (Abb. 3). Diese wird wie eine Kontaktlinse direkt auf der Cor-



**Abb 3** Zwei Nadelelektroden und rechts davon die Kooijman-Elektrode mit direkt aufgesetztem LED-Stimulator und spezieller Haftplatte für Pferde.

*Two needle electrodes and on the right side the Kooijman-electrode, the LED-Stimulator on top of it and the special contact plate for horses.*

nea platziert. Die starre Einheit von Kontaktlinse und LED-Stimulator garantiert einen konstanten Abstand der Lichtquelle zum Auge. Der kombinierte Aufsatz sorgt auch dafür, dass die Lichtblitze bei über der Pupille aufgesetzter Kontaktlinse möglichst gerade (entlang der optischen Achse) ins Auge geleitet werden. Auf die Aktivelektrode wurde eine eigens für Pferde entwickelte Haftplatte aufgesteckt, welche eine gute Positionierung und Haftung im Pferdeauge bewirkt (Abb. 4).

Das Gerät verfügt über eine eingebaute Funktion zur Impedanzmessung, zur Mittelwertbildung und Artefaktaufzeichnung. Am Gerät wurden zwei verschiedene Einstellungen gewählt:

#### Skotopische Messung

Zur Messung der stäbchendominierten Antwort (nach Dunkeladaptation) wurden einzelne Weisslichtblitze mit einer Intensität von 0 dB Standard Flash ( $3\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ ) und einer Frequenz von 0.3 Hz gewählt.

#### Photopische Messung

Zur Messung der zapfendominierten Antwort (nach Helladaptation) wurden einzelne Weisslichtblitze mit einer Intensität von 0 dB Standard Flash und einem Hintergrundlicht ( $25\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ ) und einer Frequenz von 1.299 Hz gewählt.

Vor jeder einzelnen Messung wurde die Impedanz getestet. Eine Impedanz unter 10 kW wurde akzeptiert. Sowohl bei der skotopischen wie auch bei der photopischen Messung führte das Gerät 20 Einzelmessungen durch, die am Schluss gemittelt wurden. Durch die Mittelwertbildung wird das Signal/Rausch-Verhältnis verbessert und die Potentiale erschei-

nen deutlicher. Der Mittelwert ergibt schliesslich das Elektroretinogramm, das ausgewertet wird. Ausserdem wurden mittels der Artefakt-Funktion des Gerätes unerwartet hohe Signale automatisch verworfen. Solche Signale können durch Elektrodenbewegungen oder andere Beeinträchtigungen entstehen. Die Signale wurden innerhalb der Grenzen von -1 mV und +1 mV aufgezeichnet, die Hoch- und Tiefpass-Filter arbeiteten zwischen 1-300 Hz und die Verstärkereinstellung betrug 1.

Die Untersuchungen wurden im Großtier-Ultraschallraum des Tierspitals Bern durchgeführt. Dieser Raum besitzt auf der



**Abb 4** Platzierte Referenz-, Erdungs- und Aktivelektrode. *Reference, ground and active electrode in place.*

rechten Seite vom Pferd zwei Fenster gegen aussen und auf der linken Seite vom Pferd ein Fenster gegen einen Gang im Innern des Gebäudes hin. Alle 3 Fenster wurden mit Storen verschlossen. Die Lichtverhältnisse im Raum konnten, bedingt durch die kleinen Spalten in den Lamellen-Jalousien, wetterabhängig leicht variieren. Die Bildschirme von im Raum fest installierten Computern und Ultraschallgeräten wurden abgestellt. Die Messung der Lichtintensität wurde mit einem Luxmeter vorgenommen. Das Luxmeter wurde stets an denselben Stellen, sowohl links wie auch rechts, in Kopfnähe des Pferdes auf einer horizontalen Fläche 60 cm ab Boden platziert. Der Fotosensor zeigte nach oben. 3 unterschiedliche Beleuchtungsstärken wurden für das Untersuchungsprotokoll definiert, sie folgten stets in der unten stehenden Reihenfolge aufeinander:

#### Voradaptation

Die Voradaptation fand im Vorraum des Ultraschallraums statt. Dieser Vorraum ist fensterlos und besitzt eine Türe gegen aussen, sowie mehrere Türen gegen Innenräume. Alle Türen waren geschlossen und die gesamte künstliche Deckenbeleuchtung war eingeschaltet. Hier wurden die Pferde während 5 Minuten bei 350 Lux präadaptiert.

## Dunkeladaptation

Die Dunkeladaptation fand im Ultraschallraum statt. Hier stand das Pferd während 20 Minuten im abgedunkelten Raum. Beide Fenster rechts vom Pferd waren mit Lamellenstoren verdunkelt, das Fenster links vom Pferd wurde durch ein Rollo verschlossen. Die Beleuchtungsstärke betrug rechts vom Pferdekopf 0.2-0.6 Lux, links vom Pferdekopf 0.2-0.5 Lux.

## Helladaptation

Die Helladaptation fand ebenfalls im Ultraschallraum statt. Beide Fenster rechts vom Pferd waren wie bei der Dunkeladaptation mit Lamellenstoren verdunkelt, das Fenster links vom Pferd wurde durch ein Rollo verschlossen. Die künstliche Raumbelichtung (2 Lampenreihen an der Decke) war eingeschaltet. Die Beleuchtungsstärke betrug rechts vom Pferdekopf 170-171 Lux, links vom Pferdekopf 204-206 Lux. Die Helladaptation dauerte 10 Minuten.

Zur elektroretinographischen Untersuchung wurde das Pferd sediert in den Untersuchungsstand im Ultraschallraum gestellt und beidseits des Kopfes angebinden. Das Schopfhaar des Pferdes wurde mit Hilfe eines Klebebandes hochgebunden. Die Geräteeinheit war auf einem fahrbaren Tischchen links vom Pferdekopf aufgebaut. Der Bildschirm des Notebooks wurde vom Pferdekopf weggedreht. Die Personen im Raum trugen dunkle Bekleidung, um eine Reflektion des Bildschirmlichtes ins Pferdeauge zu vermeiden. Das Verbindungskabel zwischen der Power Box und den 3 Elektrodenkabeln wurde am linken Backenstück des Pferdehalters mit einer Klemme und Klebeband befestigt. Die Elektrodenkabel von Erdungs- und Referenzelektrode wurden ebenfalls mit Klebestreifen am Halfter und am Kopf des Pferdes fixiert. Dadurch sollte bei einer Bewegung der Elektrodenkabel die Elektroden ruhig gehalten und somit Bewegungsartefakte vermieden werden (Abb. 5). Die Erdungs- und Referenzelektroden wurden subkutan am Pferdekopf platziert: Die Erdungselektrode direkt unterhalb des Schopfansatzes in der Medianen, die Referenzelektroden beidseits am höchsten Punkt des knöchernen Orbitabogens. Auf die Erdungselektrode wurde das Elektrodenkabel gesteckt und dieses in die Buchse des Verbindungskabels. Das Referenzelektrodenkabel wurde jeweils vor der Untersuchung auf die Referenzelektrode des zu untersuchenden Auges gesteckt. Die mit Methylcellulose beträufelte Aktivelektrode wurde jeweils nur gerade für die Dauer einer Messung auf die oberflächlich anästhesierte Cornea aufgesetzt. Während der gesamten Messdauer wurden Pferdekopf und Kontaktlinse vom Untersucher ruhig und gerade gehalten (Abb. 6). Damit sollten Bewegungsartefakte und eine Rotation des Bulbus verhindert werden und die Kontaktlinse sollte stets über der Pupille liegen. Das untere sowie das obere Augenlid wurden mit den Fingern leicht nach unten und nach oben gedrückt, um ein Verschieben der Kontaktlinse zu verhindern.

## Untersuchungsablauf

Das Pferd wurde von seiner Boxe in der Pferdeklinik über eine etwa 100 m lange Aussenstrecke direkt in den Vorraum des Ultraschallraums geführt. Während 5 Minuten fand hier bei künstlicher Raumbelichtung (350 Lux) die Präadaptation

statt. Währenddessen wurde eine kurze Allgemeinuntersuchung durchgeführt, das Pferd wurde mit Detomidin (Domosedan®<sup>2</sup> 0.14-0.18 ml/100kg KGW i.v.) sediert und die Pupillen wurden mit Tropicamid-Tropfen (Mydriaticum Dispersa®<sup>3</sup>) beidseits dilatiert. Danach wurde das Pferd in den dunklen Ultraschallraum geführt und im Stand angebinden. Hier erfolgte die Dunkeladaptation während 20 Minuten bei 0.2-0.6 Lux. Einzig die vom Pferdekopf weggedrehte Bildschirmbeleuchtung lieferte ein wenig Streulicht, damit während der Dunkeladaptationszeit die Nadelektroden am Pferd platziert werden konnten: Die Erdungselektrode subkutan in der Medianen direkt unterhalb des Schopfansatzes, die Referenzelektroden beidseits subkutan am höchsten Punkt des knöchernen Orbitabogens. 2 Elektrodenkabel wurden an die Elektroden (Erdungselektrode und Referenzelektrode des rechten Auges)



**Abb 5** Pferd mit platzierten Elektroden: Schwarze Erdungselektrode am Schopfansatz, blaue Referenzelektrode auf dem Orbitabogen des zu messenden Auges und die Aktivelektrode mit LED-Stimulator und Pferdehaftschale direkt auf der Cornea. Im Vordergrund das RETIport® ERG-Gerät (siehe auch Abb. 2).  
*Horse with electrodes in place: Black ground electrode at the base of the mop, blue reference electrode on the bow of the orbita of the eye being examined and the active electrode with LED-Stimulator and contact plate for horses directly on the cornea. In the foreground, the RETIport® ERG-device (see also Fig. 2).*

gesteckt (Abb. 5, Abb. 6). Nach Ablauf der 20 Minuten Dunkeladaptation wurden beide Augen mit Proxymetacain-Tropfen (Alcaïne®<sup>4</sup>) oberflächlich anästhesiert. Auf die Aktivelektrode wurden 2 Tropfen Methylcellulose-Kontaktflüssigkeit (Methocel®<sup>5</sup>) gegeben und die Kontaktlinse wurde aufs Auge aufgesetzt.

Ein Helfer am Rechner führte die Biosignal- und Impedanzmessung durch. Die skotopische Messung rechts wurde gestartet. Nach der Messung wurde das Referenzelektrodenkabel von rechts nach links umgesteckt und die Messung wurde am linken Auge gleichermaßen durchgeführt. Nach Beendigung der skotopischen Messung beidseits wurde die künstliche Raumbelichtung eingeschaltet und bei 170-206 Lux für 10 Minuten eine Helladaptation durchgeführt. Nach 10 Minuten wurden Augen und Elektroden gleich wie vor den skotopischen Messungen vorbereitet und die photopische Messung gestartet. Die photopische Messung wurde ebenfalls zuerst am rechten Auge und direkt danach am linken Auge durchgeführt. Nach Beendigung der Messungen wurden die Augen der Pferde mit Tränenersatzflüssigkeit gespült und ein Fluoreszein-Test wurde durchgeführt, der in jedem Fall negativ ausfiel. Die Aktivelektrode und die Pferdehaftplatte wurden mit einem feuchten Tuch von der Methylcellulose befreit.

Das Gerät zeigte direkt nach jeder Messung das aus 20 Einzelmessungen gemittelte Resultat in Form einer ERG-Kurve an. Der Nullpunkt und die a- und b-Wellenpunkte wurden vom Gerät automatisch gesetzt: Dazu bestimmte das Gerät laut Hersteller das Minimum und das Maximum der Kurve in einem bestimmten Zeitfenster. Der Nullpunkt werde im Mittel der ersten 10 Werte gesetzt. Die Ergebnisse wurden in der Patientendatenbank gespeichert und zu einem späteren Zeitpunkt ausgedruckt und beurteilt. Die Beurteilung der Kurven erfolgte ohne vorheriges Glätten. Oszillatorische Potentiale wurden nicht in die Beurteilung miteinbezogen. Zum Teil mussten die vom Gerät gesetzten Punkte (a-Gipfelpunkt, b-Gipfelpunkt) nachträglich von Hand auf die Gipfelpunkte der Kurven verschoben werden, da sie nicht mit Minimum und Maximum der jeweiligen Kurve übereinstimmten.



**Abb 6** Fixation von Kontaktlinse und Pferdekopf während der Messung. Mit Daumen und Zeigefinger wird das untere sowie das obere Augenlid leicht nach unten und nach oben gedrückt.  
*Fixation of contact lens and head of the horse during measurement. With thumb and forefinger, the lower and upper eyelids are pushed gently down- and upward.*

### Ergebnisse

An allen 6 Pferden konnte mit dem oben abgebildeten Untersuchungsprotokoll eine auswertbare elektroretinographische Untersuchung in Sedation durchgeführt werden. Auch die 2 Wiederholungsuntersuchungen an verschiedenen Tagen wurden gleichermaßen gut toleriert. Die elektroretinographische Untersuchung ist also am stehend sedierten Pferd durchführbar. Durch die handliche Größe der Geräteeinheit und durch die Einfachheit des Aufbaus ist es möglich, die Geräte vor der Untersuchung jedes einzelnen Patienten innerhalb von 10 Minuten neu aufzubauen und nach Beendigung der Untersuchung sicher wieder zu verstauen. Die Software des RETI-port®-Systems ist benutzerfreundlich gestaltet, einfach zu verstehen und bietet viele Möglichkeiten für unterschiedliche Untersuchungseinstellungen. Der Abstand des Gerätes vom Pferdekopf wird durch die Länge des Verbindungskabels zwischen Power Box und Elektrodenkabel limitiert. Dies führte bei

unserer Versuchsanordnung auf der linken Seite des Pferdes zu eingeschränkten Platzverhältnissen für den Untersucher, welcher Pferdekopf und Aktivelektrode stabilisierte. Die Nadelelektroden können, selbst am unsedierten Pferd, ohne Probleme subkutan platziert werden. Die Platzierung der Aktivelektrode auf das oberflächlich anästhesierte Auge ist am unsedierten Pferd nicht möglich, es kommt zu Abwehrreaktionen, die eine Messung verunmöglichen. Das sedierte und am Auge oberflächlich anästhesierte Pferd bleibt beim Aufsetzen der Aktivelektrode und während den Messungen ruhig und zeigt keine Abwehrbewegungen. Die Einheit von LED-Stimulator und Kontaktlinse erlaubt eine leichte Handhabung während der Messungen und am sedierten Pferd ist lediglich eine zusätzliche Hilfsperson notwendig, um Pferdekopf und Aktivelektrode zu stabilisieren. Eine elektroretinographische Untersuchung ist zwar mit der Kontaktlinse, welche auch für Ableitungen beim Kleintier verwendet wird und dementsprechend einen kleinen Durchmesser aufweist, möglich, doch bei Voruntersuchungen zeigte sich, dass bei einigen Pferden unter Verwendung der Kleintier-Aktiv-Elektrode gehäuft Artefaktaufzeichnungen zu beobachten waren: Bei Bulbusbewegungen verrutschte die Aktivelektrode weg von der Pupille. Durch die Spezialhaftpflaste für Pferde, die auf die Aktivelektrode aufgesetzt wurde, konnten kleine Bewegungen der Kontaktlinse auf dem Pferdeauge weiter minimiert werden und die Haftung wurde durch die vergrößerte Fläche verbessert. In der Folge traten Artefakte nur noch in geringerer Zahl auf.

### Skotopische Messung

Mit der gewählten Einstellung konnten nach 20 Minuten dauernder Dunkeladaptation auswertbare Elektroretinogramme aufgezeichnet werden. Bei jedem der 6 Pferde kam es in allen 3 Untersuchungen zur Aufzeichnung einer negativen a- und positiven b-Welle. Weitere aufgetretene Phänomene wurden nicht beurteilt. Die Zahl der Artefakte lag bei der skotopischen Messung zwischen 0 und 15. Zum Teil musste die skotopische Messung wegen vieler Artefaktaufzeichnungen gleich zu Beginn abgebrochen und wiederholt werden. Dies war insgesamt bei 5 von 6 Pferden in 11 Messversuchen von insgesamt 36 skotopischen Messungen (3 skotopische Wiederholungsmessungen an 2 Augen bei allen 6 Pferden) der Fall. Beinahe 1/3 der skotopischen Messungen mussten also beim ersten Versuch abgebrochen und neu begonnen werden (Tabelle 1).

### Photopische Messung

Mit der gewählten Einstellung konnten nach 20 Minuten dauernder Dunkeladaptation auswertbare Elektroretinogramme aufgezeichnet werden. Bei jedem der 6 Pferde kam es in allen 3 Untersuchungen zur Aufzeichnung einer negativen a- und positiven b-Welle. Weitere aufgetretene Phänomene wurden nicht beurteilt. Die Zahl der Artefakte lag bei der photopischen Messung zwischen 0 und 2. Ein einziger photopischer Messversuch von insgesamt 36 photopischen Messungen (3 photopische Wiederholungsmessungen an 2 Augen bei allen 6 Pferden) musste abgebrochen und neu begonnen werden. Dies entspricht 1/36 der Fälle. Das betroffene Pferd (Pferd Nr. 5) hatte bei der skotopischen Messung als einziges keine abgebrochenen Versuche zu vermelden (Tabelle 2).

**Tab 1** Anzahl abgebrochene und wiederholte skotopische Messungen (Gesamtzahl skotopische Messungen  $n = 36$ )  
*Number of broke off and repeated scotopic measures (Total of scotopic measures  $n = 36$ )*

	rechtes Auge	linkes Auge	Gesamt
Pferd Nr. 1	2	2	4
Pferd Nr. 2	2	0	2
Pferd Nr. 3	1	1	2
Pferd Nr. 4	1	1	2
Pferd Nr. 5	0	0	0
Pferd Nr. 6	0	1	1
<b>Gesamt</b>	<b>6</b>	<b>5</b>	<b>11</b>

**Tab 2** Anzahl abgebrochene und wiederholte photopische Messungen (Gesamtzahl photopische Messungen  $n = 36$ )  
*Number of broke off and repeated photopic measures (Total of photopic measures  $n = 36$ )*

	rechtes Auge	linkes Auge	Gesamt
Pferd Nr. 1	0	0	0
Pferd Nr. 2	0	0	0
Pferd Nr. 3	0	0	0
Pferd Nr. 4	0	0	0
Pferd Nr. 5	0	1	1
Pferd Nr. 6	0	0	0
<b>Gesamt</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Wiederholte Messungen der Lichtverhältnisse mit Hilfe des Luxmeters zeigten, dass in den gewählten Räumlichkeiten in engen Grenzen reproduzierbare Verhältnisse herrschten. Die Untersuchungsanordnung konnte bei allen 6 Pferden und in allen Untersuchungen eingehalten werden. Der Ablauf der Untersuchung konnte bei allen 6 Pferden und in allen 3 Wiederholungsuntersuchungen eingehalten werden. Während der 5 Minuten Präadaptation im Vorraum des Ultraschallraumes war es gut möglich, das Pferd einer kurzen Allgemeinuntersuchung zu unterziehen und gleich anschließend die Sedation vorzunehmen sowie das Mydriatikum zu applizieren. Während der folgenden 20 Minuten dauernden Dunkeladaptation waren die Lichtverhältnisse ausreichend, um das Verbindungskabel, die Elektrodenkabel, sowie die Nadelelektroden am Pferd zu platzieren und zu befestigen.

**Tab 3** Zusammenfassung der skotopischen Normwerte. / *Summary of the scotopic normal values.*

	a-Latenz [ms]	b-Latenz [ms]	a-Amplitude [ $\mu$ V]	b-Amplitude [ $\mu$ V]
Minimum	15	34	26.4	68.1
Maximum	16	42	105	272
<b>Mittelwert</b>	<b>15.4</b>	<b>37.9</b>	<b>56.8</b>	<b>142.7</b>
Standardabweichung	0.5	1.8	17.4	48.6

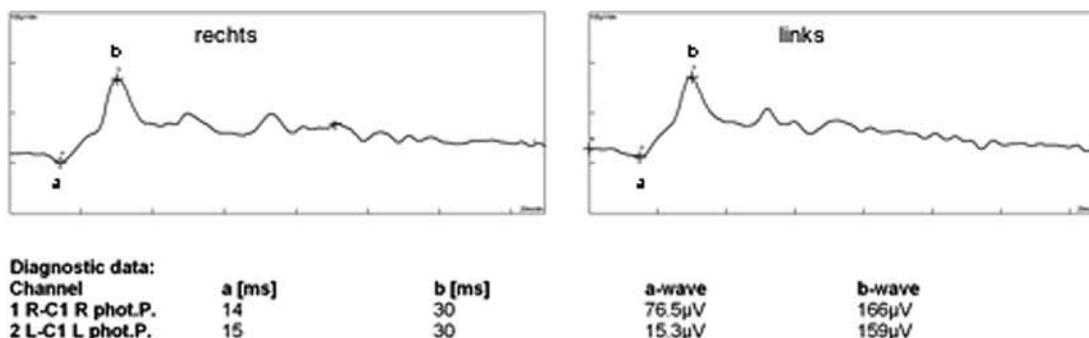
**Tab 4** Zusammenfassung der photopischen Normwerte. / *Summary of the photopic normal values.*

	a-Latenz [ms]	b-Latenz [ms]	a-Amplitude [ $\mu$ V]	b-Amplitude [ $\mu$ V]
Minimum	8	28	3.32	64.4
Maximum	16	31	31.7	180
<b>Mittelwert</b>	<b>13.6</b>	<b>29.5</b>	<b>13.8</b>	<b>116.9</b>
Standardabweichung	1.8	0.9	7.0	30.1

Durch den Untersuchungsstand war das Pferd in seiner Bewegung eingeschränkt, was eine Voraussetzung für die gefahrlose Verkabelung mit der RETIport®-Geräteeinheit ist. Die Messung der Pupillenweite (vertikale Pupillenöffnung) stellte sich als nicht unproblematisch heraus und musste mit Hilfe eines kleinen Augenuntersuchungslämpchens vorgenommen werden. Die Pupillenweiten (vertikale Pupillenöffnung) betragen bei allen 6 Pferden nach 20 Minuten 18-20 mm. Die oberflächliche Anästhesie der Cornea mit Proxymetacain-Tropfen war praktikabel und wirksam. Durch die Methylcellulose-Flüssigkeit wurde eine sehr gute Haftung der Kontaktlinse auf dem Pferdeauge erreicht. Die Flüssigkeit ist hochviskös und somit gut zu dosieren. Durch die gute Haftung der Kontaktlinse auf dem Pferdeauge, musste diese nach Beendigung der Messung zum Entfernen abgekippt werden. Ein kleiner Nachteil waren klebrige Rückstände auf der Kontaktlinse und auf den Wimpern des Pferdes. Die Biosignal- und Impedanzmessungen konnten bei der Verwendung von Methylcellulose-Kontaktflüssigkeit jedes Mal ohne Probleme durchgeführt und akzeptiert werden. Für die Durchführung der Messung stellten sich 2 Personen als ausreichend heraus: Dabei stabilisierte eine Person Pferdekopf und Aktivelektrode, während die andere den Computer bediente. Bei der skotopischen Messung kam es wiederholt zu ungewöhnlich hohen Artefaktaufzeichnungen, so dass die betreffende Messung abgebrochen und wiederholt werden musste. Dies veränderte die Ergebnisse jedoch nicht. Der nach der Beendigung der Untersuchung durchgeführte Fluoreszeintest war bei allen 6 Pferden nach allen 3 Untersuchungen negativ. Unmittelbar nach den Untersuchungen konnte bei den meisten Pferden eine vermehrte Tränenproduktion festgestellt werden. Dieser Zustand hatte sich aber jeweils am Tag darauf wieder normalisiert.

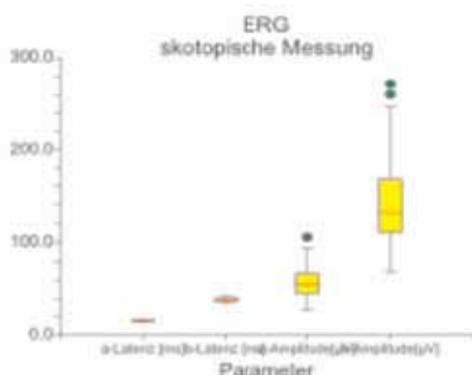
Die Aufzeichnung und Beurteilung der Untersuchungsergebnisse

Die skotopischen Normwerte sind in Tabelle 3, die photopischen Normwerte in Tabelle 4 dargestellt. Insgesamt bewegen sich die Werte der a- und b-Latenzen innerhalb enger Grenzen. Die Amplitudenwerte sind variabler. In allen 4 Parametern bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Pferden. Die Wiederholbarkeit ist sowohl bei den Latenzen wie auch bei den Amplituden hoch. (Abb. 7, Abb. 8, Abb. 9)



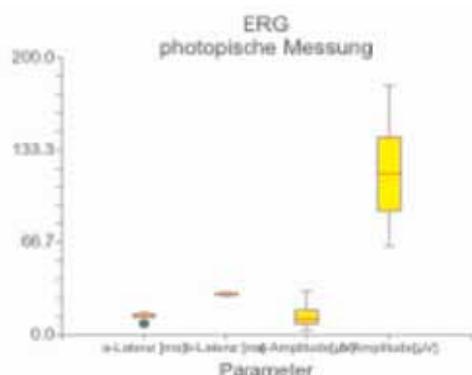
**Abb 7** Beispiel eines photopischen Untersuchungsergebnisses: Nach der photopischen Messung wird sowohl das gemittelte Ergebnis des rechten Auges, wie auch das Ergebnis des linken Auges mit einem Elektroretinogramm dargestellt. Darunter erscheinen die Absolutwerte der 4 untersuchten Parameter.

Example of the result of a photopic examination: the values of the photopic measure, the average value of the right eye, as well as the value of the left eye, are shown in an electro-retinogram. Below, the absolute values of the 4 parameters investigated.



**Abb 8** Boxplot-Darstellung der gesamten skotopischen Resultate: Die Latenzen liegen innerhalb enger Grenzen, während sich die Amplituden variabler verhalten.

Boxplot graph of the complete set of scotopic results: The latencies are within narrow bounds, while the amplitudes are more variable.



**Abb 9** Boxplot-Darstellung der gesamten photopischen Resultate: Die Latenzen liegen innerhalb enger Grenzen, während sich die Amplituden variabler verhalten.

Boxplot graph of the whole set of photopic results: The latencies are within narrow bounds, while the amplitudes are more variable.

## Diskussion

Mit der Entwicklung eines standardisierten Untersuchungsganges sollte die Basis für eine Integration der elektroretinographischen Untersuchung in eine spezialisierte ophthalmologische Untersuchung gelegt werden. Obwohl sich zwei Publikationen aus München (Reitenauer 1994, Rottensteiner 2000) bereits mit der Elektroretinographie beim Pferd beschäftigt haben, existieren keine allgemein gültigen Referenzwerte fürs Pferd. Denn es ist äußerst schwierig, Referenz-

werte verschiedener Kliniken miteinander zu vergleichen: Die Resultate der elektroretinographischen Ableitungen hängen von unzähligen Faktoren ab, die schon innerhalb einer Klinik nur mit grossem Aufwand konstant gehalten werden können. Deshalb muss jede Klinik unter den jeweiligen Bedingungen eigene Referenzwerte bestimmen (Spiess 1994). Es sollte getestet werden, ob die Einbindung der elektroretinographischen Untersuchung in eine ambulante ophthalmologische Untersuchung mit dem RETI®port-System möglich ist. Die geringe Streuung der Ergebnisse bei sehr guter Wiederholbarkeit und die relativ einfache Durchführung der Messungen zeigen die Möglichkeit, diese Methode in praxisrelevante Untersuchungsgänge zu integrieren.

Basierend auf der Aussage von Reitenauer (1994), dass es bei Pferden unterschiedlichen Alters oder Geschlechts unter den gleichen Versuchsbedingungen keine signifikanten Unterschiede in den Normwerten des Elektroretinogramms gibt, wurde die Zahl der Versuchspferde auf sechs beschränkt. Spiess (2000) führte seine elektroretinographischen Messungen an insgesamt 15 Hunden zweier verschiedener Rassen und an 3 Katzen durch. Beim Hund wurden aber verschiedene Normwerte bei verschiedenen Hunderassen erhoben (Spiess 2000). Da die Zahl der Versuchspferde eher gering war, wurde der Prüfung der Reproduzierbarkeit eine grosse Bedeutung beigemessen: Alle sechs Pferde wurden insgesamt 3 Mal elektroretinographisch untersucht und die 3 Messungen des gleichen Pferdes wurden miteinander verglichen. Um einen Einfluss der vorhergehenden Untersuchung auf die nächste Untersuchung möglichst zu vermeiden, fanden die 3 Untersuchungen an 3 unterschiedlichen Tagen statt. Die geringe Zahl an Versuchspferden war sowohl logistisch wie auch bewilligungstechnisch günstig, da – abgesehen von einer Ausnahme – ausschließlich klinikeigene Pferde zum Einsatz kamen. Wir gehen davon aus, dass die 6 Pferde zur Evaluation von Normwerten geeignet sind, da sie allgemein ophthalmologisch und ophthalmoskopisch ohne abnorme Befunde sind. Die Tatsache, dass zwischen den 6 Pferden keine signifikanten Unterschiede in allen 4 Parametern bestehen, deutet ebenfalls darauf hin, dass die Pferde eine geeignete Gruppe zur Evaluation von Normwerten abgeben.

Das verwendete RETI®port-System stellt im Gegensatz zu in früheren Studien (Reitenauer 1994, Rottensteiner 2000) verwendeten Geräten eine aufeinander abgestimmte Einheit von Software und gesamter Hardware dar. Dies hat den Vorteil, dass die gesamte Anwendung einfach zu handhaben und benutzerfreundlich ist. Die subkutan zu steckenden

Nadelelektroden erwiesen sich als unproblematisch. Keines der Pferde zeigte eine abwehrende Reaktion beim Anbringen dieser Elektroden. Die Nadelelektroden könnten sogar am unsedierten Pferd gesteckt werden. *Reitenauer* (1994), *Rottensteiner* (2000) und *Komaromy et al.* (2003) verwendeten als Aktiv- und Referenzelektrode ebenfalls subkutan zu stekende Nadeln. Die Besonderheit des gewählten Verfahrens liegt in der Einheit aus Aktivelektrode und Blitzlicht: Durch den direkt auf der Kooijman-Elektrode aufgesetzten LED-Stimulator werden Bewegungsartefakte tief gehalten. Ausserdem wird dadurch ein konstant kleiner Abstand des Lichtstimulators vom Pferdeauge garantiert. Da dieser Abstand sehr klein ist, treffen die Lichtblitze mit grosser Wahrscheinlichkeit in der optischen Achse aufs Auge. *Rottensteiner* (2000) beschreibt eine relativ aufwändige Einrichtung, um bei der von ihr verwendeten Lampe einen konstanten Abstand von 25 cm vom Auge zu erhalten. *Komaromy et al.* (2003) verwendeten in ihrer Studie ebenfalls eine separate Lichtquelle. Um eine Ganzfeldstimulation zu erreichen, bauten sie zusätzlich einen kegelförmigen Lampenschirm zwischen Lichtquelle und Pferdeauge. *Spiess* (2000) beschreibt, dass er bei der Untersuchung an 7 Hunden keinen signifikanten Unterschied zwischen den ERG-Antworten bei Verwendung einer ungeschliffenen Kontaktlinse und den Antworten bei Verwendung einer Kontaktlinse mit +100 dpt gefunden hat. Er kommt zum Schluss, dass bei dilatierter Pupille auch bei Verwendung einer ungeschliffenen Linse (beim Hund) sämtliche Netzhautareale beleuchtet werden. Die eigens für Pferde entwickelte Haftplatte, die auf die Aktivelektrode aufgesteckt wurde, bewirkte eine gute Positionierung und Haftung auf dem Pferdeauge. Das Risiko für eine von der Pupille wegrutschende Kontaktlinse und damit für Artefakte wurde viel kleiner.

Die getrennte Untersuchung des Stäbchen- und des Zapfensystems verlangt nach einer getrennten Stimulation (*Spiess* 2000). Die funktionelle Dualität der Pferderetina wurde von *Wouters et al.* (1979) nachgewiesen. Bei der Ableitung eines Elektroretinogramms wird das skotopische vom photopischen ERG unterschieden (*Grussendorf* 2006). Deshalb haben wir uns für 2 Einstellungen entschieden, mit Hilfe derer wir die Referenzwerte ermittelten. Neben der Einstellung am Gerät ist die Umgebungsbeleuchtung und der Adaptationsgrad entscheidend: Das photopische ERG wird bei hellem Umgebungslicht abgeleitet, während das skotopische ERG nach einer Dunkeladaptation angefertigt wird (*Grussendorf* 2006).

#### Skotopische Messung

Zur Messung der stäbchendominierten Antwort (nach Dunkeladaptation) wurden einzelne Weisslichtblitze mit einer Intensität von 0dB Standard Flash ( $3\text{cd}\cdot\text{s}/\text{m}^2$ ) und einer Frequenz von 0.3 Hz gewählt.

#### Photopische Messung

Zur Messung der zapfendominierten Antwort (nach Helladaptation) wurden einzelne Weißlichtblitze mit einer Intensität von 0dB Standard Flash und einem Hintergrundlicht ( $25\text{cd}/\text{m}^2$ ) bei einer Frequenz von 1.299 Hz gewählt.

Von *Reitenauer* (1994) und *Spiess* (2000) ist beschrieben, wie die Art der Blitze die Antwort des Elektroretinogramms beeinflusst:

#### Blitzintensität

Weisslichtblitze mittlerer Intensität rufen eine kombinierte Stäbchen-Zapfen-Antwort hervor. Mit Weisslichtblitzen hoher Intensität können reine Zapfenantworten, mit Weisslichtblitzen niedriger Intensität reine Stäbchenantworten provoziert werden.

#### Blitzfarbe

Da Stäbchen ihr Absorptionsmaximum im Blaulichtbereich haben und die Zapfen im Orange-Rot-Bereich, kann durch die Verwendung von roten und blauen Farbfiltern die Stäbchen- und Zapfenantwort noch weiter voneinander abgegrenzt werden.

#### Blitzfrequenz

Die Flimmerlichtmethode führt zu einer isolierten Zapfenantwort. Niederfrequente Blitze führen zu einer kombinierten Stäbchen-Zapfen-Antwort, während bei einer hohen Reizfrequenz nur noch die Zapfen reagieren.

Obwohl das RETI®port-Gerät eine Funktion für Rotlichtblitze hat, wurde sowohl das skotopische wie auch das photopische ERG mit Weißlichtblitzen abgeleitet. Wir wollten bei unserer Studie die Standardeinstellungen beibehalten und keine manuellen Änderungen im Programm vornehmen. Für die Zukunft wäre der Einfluss des Rotlichtes noch genauer zu prüfen.

Man muss also davon ausgehen, dass mit unseren Einstellungen keine reine Stäbchen- und Zapfenantwort erreicht wird, sondern vielmehr eine stäbchendominierte oder zapfendominierte Reaktion vorliegt. Dies scheint uns aber für erste Referenzwerte für die klinische Diagnostik zu genügen.

Der ideale Raum für die Durchführung der elektroretinographischen Untersuchung sollte vollständig abgedunkelt werden können, ohne Tageslichteinfluss sein und über frei regelbares Licht mit einer Beleuchtungsstärke bis zu 700 Lux verfügen (*Reitenauer* 1994). Eine reine Zapfenantwort beim Pferd bedingt eine Beleuchtungsstärke von 700 Lux (*François et al* 1980). Dunkeladaptation und Helladaptation müssen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden können (*Spiess* 2000).

Für die elektroretinographische Untersuchung der Pferde am Tierspital in Bern wurde der Großtier-Ultraschallraum ausgebaut. In diesem Raum besteht die Möglichkeit, die Lichtverhältnisse in einem engen Rahmen konstant zu gestalten. Ausserdem ist mit dem Vorräum des Ultraschallraumes ein geeigneter Raum für die Präadaptation vorhanden. Der im Raum installierte Untersuchungsstand erlaubt eine sichere Fixierung der sedierten Pferde und eine gefahrenfreie Untersuchung. Obwohl die Lichtverhältnisse im Raum, bedingt

durch die kleinen Spalten in den Lamellenstoren, leicht variieren konnten, zeigen unsere Ergebnisse Referenzwerte in engen Grenzen auf.

#### Voradaptation

Unsere Voradaptation fand im Vorraum des Ultraschallraumes während 5 Minuten bei 350 Lux statt. *Reitenauer* (1994) führte vor ihrer Dunkeladaptation eine zweifache Voradaptation durch: Zuerst 5 Minuten bei 25 Lux, anschließend 5 Minuten bei 320 Lux. *Rottensteiner* (2000) führte vor der Dunkeladaptation eine 10 Minuten dauernde Präadaptation bei 40 Lux durch. Die Beleuchtungsstärke der Voradaptation ist insofern wichtig, als dass sie die Zeitdauer bis zur vollständigen Dunkeladaptation beeinflusst: Je heller das Licht während der Präadaptation ist, desto länger dauert es, bis die Stäbchen in der Dunkeladaptation ihre maximale Sensitivität erreicht haben (*Wouters et al.* 1980, *Spieß* 2000).

#### Dunkeladaptation

Die Dunkeladaptation führten wir bei 0.2-0.6 Lux durch. Sie dauerte 20 Minuten. Da unsere Präadaptation bei einer relativ hohen Beleuchtungsstärke (350 Lux) stattfand, und wir die Dunkeladaptationszeit auf 20 Minuten beschränkten, müssen wir davon ausgehen, dass die Stäbchen ihre maximale Empfindlichkeit bei Start der skotopischen Messung noch nicht ganz erreicht hatten. *Reitenauer* (1994) führte ihre Dunkeladaptation während 20 Minuten bei 25 Lux durch, *Rottensteiner* unterzog die Pferde einer 30 Minuten dauernden Dunkeladaptation bei 0.6 Lux. Das Stäbchensystem adaptiert sich viel langsamer als das Zapfensystem, deshalb dauert die Dunkeladaptation viel länger als die Helladaptation (*Reitenauer* 1994, *Spieß* 2000, *Komaromy* 2003). Nach *Rottensteiner* (2000) ist die maximale Empfindlichkeit des Stäbchensystems erst nach einer Stunde erreicht. Nach 20-30 Minuten sei aber die Empfindlichkeitszunahme kaum mehr nachvollziehbar. *Wouters et al.* (1980) beschreiben, dass nach 30 Minuten Dunkeladaptation die Zunahme der b-Wellenamplitude ein Plateau erreicht. *Komaromy et al.* (2003) beschreiben eine Verdoppelung der b-Wellenamplitude um mindestens das Doppelte nach 20 Minuten. In dieser Studie waren die Werte der b-Wellenamplituden nach 30 Minuten fast gleich hoch. Die Stäbchen erreichen also nach 20 bis 30 Minuten nahezu ihre maximale Empfindlichkeit, obwohl die effektive Dunkeladaptation noch weiter anhält. Weil unsere Studie das Ziel hat, einen ambulanten Untersuchungsangang für die klinische Diagnostik zu entwickeln, beschränkten wir die Dunkeladaptationszeit von vornherein auf 20 Minuten. Zur Durchführung der skotopischen Messung bei maximal empfindlichem Stäbchensystem müsste man die Dunkeladaptation aber mit einzelnen Lichtblitzen verfolgen und das Ansteigen der Amplituden beurteilen.

#### Helladaptation

Die Helladaptation folgte unwillkürlich nach der skotopischen Messung: Das Licht wurde eingeschaltet und das Pferd wurde während 10 Minuten bei 170-206 Lux helladaptiert. Dabei waren die Lichtverhältnisse links und rechts vom Pferdekopf nicht identisch. Rechts vom Pferdekopf betrug die Beleuchtungsstärke 170-171 Lux, links vom Pferdekopf 204-206 Lux.

Unsere Ergebnisse und die Vergleiche zwischen rechtem und linkem Auge zeigen, dass dieser Unterschied vernachlässigt werden kann. *Reitenauer* (1994) führte ihre Helladaptation am liegenden Pferd in Allgemeinanästhesie durch, sie macht keine Angaben zur Zeitdauer. *Rottensteiner* (2000) führte ihre Helladaptation auch unmittelbar nach der skotopischen Messung durch, ebenfalls am stehenden und sedierten Pferd. Ihre Helladaptation dauerte 10 Minuten bei einer Beleuchtungsstärke von 580 Lux. *Komaromy et al.* (2003) führten ihre Helladaptation während 5 Minuten zu Beginn der Untersuchung, d.h. vor der Dunkeladaptation durch.

Der Ultraschallraum ermöglichte eine stets konstante Untersuchungsanordnung. Durch den Untersuchungsstand in der Mitte des Raumes wurde gewährleistet, dass alle Pferde in derselben Art und Weise zum Licht positioniert wurden. Ausserdem konnte das Pferd so sicher fixiert und die ERG-Geräteeinheit sicher, aber doch nah am Pferd positioniert werden. Das war insofern nötig, als dass das Verbindungskabel zwischen den einzelnen Elektrodenkabeln und der Power Box doch eher kurz ist.

Da das ERG durch verschiedene Substanzen beeinflusst werden kann (*Granit* 1933), sollte unsere Sedation so einfach wie möglich sein. Auf einen auriculopalpebralen Block wurde aus praktischen Gründen verzichtet: Unsere elektroretinographische Untersuchung soll ja in eine spezialisierte ambulante ophthalmologische Untersuchung einfach integriert werden können. Die Pferde wurden mit Detomidin sediert. Dabei erwies sich je nach Pferd eine Dosis von 0.14-0.18 ml/100 kg KGW Domosedan® als ideal. *Komaromy et al.* (2003) verwendeten ebenfalls Detomidin und kamen zum Schluss, dass damit eine genügende Immobilisation der Pferde bewirkt wird. Eine ausreichend tiefe Sedation ist Voraussetzung für eine störungsfreie ERG-Ableitung. Bei ersten Versuchen mit oberflächlich sedierten Pferden kam es zu zahlreichen Artefakten, die wir im Zusammenhang mit übermäßigen Bulbusbewegungen sahen: Bei einer Vertiefung der Sedation verringerten sich die Bewegungen des Bulbus und die Artefakte verschwanden zum Teil vollständig. *Spieß* (2000) beschreibt, dass eine tiefe Narkose (bei Hunden) wichtig sei, damit unter anderem die Aufzeichnung von Elektromyogrammen vermieden werden kann. Dies bestätigt unsere Beobachtung bezüglich der Artefaktaufzeichnungen im Zusammenhang mit den Bulbusbewegungen.

Obwohl Detomidin durch eine zentrale Hemmung von parasympathischen Fasern der Iris eine dosisabhängige Mydriase induziert (*Virtanen* 1985, 1988), die auch von uns beobachtet wurde, verwendeten wir Tropicamid-Tropfen als Mydriatikum. Zweck der medikamentellen Mydriase ist nach *Rubin* (1967) die Konstanthaltung des Pupillendurchmessers während des Adaptationswechsels und die Vermeidung von Artefakten, die durch Pupillenbewegungen hervorgerufen werden. Nach der Sedation wurden in beide Augen Tropicamid-Tropfen appliziert. Während der 20 Minuten Dunkeladaptation blieb somit genug Zeit für den Wirkungseintritt. *Reitenauer* (1994), *Rottensteiner* (2000) und *Komaromy* (2003) verwendeten ebenfalls Tropicamid-Tropfen zur Weitstellung der Pupillen.

Zu Beginn der Ausarbeitung des Untersuchungsprotokolls wurden die Elektrodenkabel nur mit einer einzelnen Klemme am Halfter des Pferdes befestigt. Dabei kam es durch die

Bewegung der Elektrodenkabel zu einer Bewegung der Elektroden und somit zu zahlreichen Artefaktaufzeichnungen. Die zusätzliche Befestigung der Elektrodenkabel mit Klebeband am Halfter des Pferdes erwies sich als geeignet, die Zahl der Artefakte sank deutlich. Im Handbuch zum Gerät ist dieses Phänomen beschrieben: „Zur Vermeidung von Störungen sollten während der Untersuchung die Elektroden nicht bewegt werden.“ Die subkutan zu steckenden Nadelektroden wurden in ähnlicher Weise wie bei *Reitenauer* (1994) platziert: Die Erdungselektrode direkt unterhalb des Schopfansatzes in der Medianen (bei *Reitenauer* etwas weiter unten, auf Höhe der Orbitabögen), die Referenzelektroden beidseits am höchsten Punkt des knöchernen Orbitabogens (genau gleich wie bei *Reitenauer*). Diese Stellen wurden gewählt, weil dort nur wenig Muskulatur verläuft, sie kaum bewegt werden und somit von Muskelströmen (EMG) ausgehende Störungen gering gehalten werden können. *Spiess* (2000) beschreibt, dass die Lage der Referenzelektrode nicht zu weit occipital gewählt werden sollte, weil sonst Elektroenzephalogramme (EEG) aufgezeichnet würden. Je näher die Referenzelektrode beim Auge liegt, desto kleiner werden die EEGs oder verschwinden sogar ganz. Ein weiterer, die Elektroden betreffender Störfaktor sind Muskelpotentiale (EMG), meist aus den extraokulären Muskeln des Auges. Zur Verhinderung dieser Störung empfiehlt *Spiess* eine genügend tiefe Narkose und „die Wahl einer Referenzelektrodenlage fern der Augenmuskeln“. Die von *Rottensteiner* (2000) gewählte Platzierung der Referenzelektroden am unteren Lidrand erwies sich bei unseren Versuchen als nicht günstig, da es beim Stecken der Elektroden zu Abwehrbewegungen des Pferdes kam. Die im Gerätehandbuch empfohlene und auch von *Spiess* (2000) beschriebene Platzierung der Erdungselektrode im Nacken, wurde von unseren Projektpferden weit weniger gut toleriert als die Platzierung am Schopfansatz.

Vor dem Aufsetzen der Aktivelektrode auf das oberflächenanästhesierte Auge wird diese mit Methylcellulose-Kontaktflüssigkeit beträufelt. Bei der Ausarbeitung des Untersuchungsprotokolles wurden unterschiedliche Kontaktflüssigkeiten getestet. Eine geeignete Kontaktflüssigkeit muss elektrisch leitfähig sein und eine bessere Haftung der Kontaktlinse auf der Cornea bewirken (*Reitenauer* 1994). Es stellte sich heraus, dass die Verwendung einer Kontaktflüssigkeit essentiell ist, da die Impedanz ohne Kontaktflüssigkeit nicht unter 10 kW sinkt. Na-Hyaluronat-Lösung erwies sich als relativ teuer. Da die Lösung sehr flüssig ist, ging schon vor und beim Einsetzen der Aktivelektrode ein großer Teil verloren. Trotz der Na-DiHyaluronat-Lösung rutschte die Linse leicht auf dem Pferdeauge und es kam bei kleinsten Bulbus- oder Lidbewegungen des Pferdes zum Verlust des Kontaktes. Die Verwendung der Methylcellulose-Kontaktflüssigkeit erwies sich insgesamt als praktisch. Die hochvisköse Konsistenz erlaubt eine genaue Dosierung und bewirkt eine gute Haftung auf dem Pferdeauge. Allerdings muss die Kontaktlinse nach der Messung sehr vorsichtig und unter leichtem Abkippen entfernt werden, da die Haftung auf der Cornea sehr stark ist. Nach der Untersuchung muss das Auge mit physiologischer Kochsalzlösung gespült werden, da die Methylcellulose eintrocknet und die Wimpern stark verklebt. Auch die Aktivelektrode wird klebrig und muss direkt nach der Untersuchung gereinigt werden. Als Nachteil erwies sich die Bildung und der Einschluss von Luftblasen in der Methylcellulose-Kontaktflüssigkeit. Die Luftblasen führen zu Artefakten, dies wurde ebenfalls von *Rubin*

(1967) und *Spiess* (1994) beschrieben. Die Bildung und der Einschluss von Luftblasen unter der Kontaktlinse kann aber vermieden werden, wenn das Methylcellulose-Fläschchen auf den Deckel gestellt wird und die Flüssigkeit beim Auftragen auf die Aktivelektrode langsam herauslaufen kann und nicht mit Druck herausgedrückt wird.

Nach jeder Messung zeigte das Gerät direkt das gemittelte Resultat aus 20 Einzelmessungen an. Durch die Mittelwertbildung aus mehreren Einzelmessungen wird das Signal-Rausch-Verhältnis verbessert. Durch die Speicherfunktion des Gerätes können die Untersuchungen in der Patientendatenbank gespeichert werden, was eine Archivierung und spätere Bearbeitung erlaubt.

## Schlussbetrachtung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die 6 Pferde zur Evaluation von Normwerten geeignet sind, da sie allgemein ophthalmologisch und ophthalmoskopisch ohne abnormen Befunde sind. Die Tatsache, dass zwischen den 6 Pferden keine signifikanten Unterschiede in allen 4 Parametern bestehen, deutet ebenfalls darauf hin, dass die Pferde eine geeignete Gruppe zur Evaluation von Normwerten abgeben. Die Besonderheit des gewählten Verfahrens liegt in der Einheit aus Aktivelektrode und Blitzlicht: Durch den direkt auf der Koojiman-Elektrode aufgesetzten LED-Stimulator werden Bewegungsartefakte tief gehalten. Diese Methode hat den Vorteil, dass die Durchführung der elektroretinographischen Untersuchung am stehend sedierten Pferd gut möglich ist. Dadurch kann auf eine Allgemeinanästhesie und die damit verbundenen Risiken verzichtet werden. Die Werte sind wiederholbar und zeigen wenig Streuung. Außerdem liegen sie in Bereichen, die auch mit anderen Methoden ermittelt wurden. Voraussetzung für vergleichbare Resultate sind ein standardisiertes Untersuchungsprotokoll, stets dieselben Raum- und Umgebungslichtbedingungen und eine ausreichende Sedation des Pferdes, um Bewegungsartefakte und andere Störsignale so tief wie möglich zu halten. Die Methode ist relativ leicht anwendbar, sicher und zuverlässig. Die Elektroretinographie mit dem RETIport®-System kann sehr gut in den ophthalmologischen Untersuchungsgang beim Pferd integriert werden.

## Danksagung

Die Autoren danken Dr. med. vet. Steven Kellner für die Überprüfung der ophthalmologischen Untersuchung.

## Herstelleradressen

- <sup>1</sup> Acri.Tec AG, D-16761 Hennigsdorf, [www.acritec.de](http://www.acritec.de)
- <sup>2</sup> Pfizer AG, CH 8052 Zürich
- <sup>3,5</sup> OmniVision AG, CH-8212 Neuhausen
- <sup>4</sup> Alcon Pharmaceuticals Ltd., CH-6331 Hünenberg

## Literatur

*de Rouck A. F.* (1991) History of the electroretinogram. In: *Heckenlivivley J. R. und Arden G. B., Principles and Practice of clinical Electrophysiology of Vision, Mosby-Year-Book, Inc. 5-13*

- Francois J., Wouters V., Victoria-Troncoso V., de Rouck A. und van Gerven A.* (1980) Morphometric and electrophysiologic study of the photoreceptors in the horse. *Ophthalmologica* 181, 340-349
- Granit R.* (1933) The components of the retinal action potentials in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve. *J. Physiol.* 77, 207-240
- Grussendorf H.* (2006) Die Augenuntersuchung: Welche Erkenntnisse gewinne ich mit Spezialgeräten? *Vet-MedReport SonderausgabeV8*: 61
- Komaromy A. M., Andrew S. E., Sapp jr. H. L., Brooks D. E. und Dawson W. W.* (2003) Flash electroretinography ins standing horses using the DTLTM microfiber electrode. *Vet. Ophthalmol.* 6,27-33
- Niemeyer G.* (1979) Informationen von der Netzhaut durch Elektroretinografie. *Albrecht v. Graefes Archiv* 211, 129-137
- Perlman J.* Webvision: The Electroretinogram: ERG. <http://webvision.med.utah.edu/ERG.html>
- Reitenauer S.* (1994) Zur Elektroretinographie beim Pferd. *Vet. Med. Diss. München*
- Riggs L. A.* (1941) Continuous and reproducible records of the electrical activity of the human retina. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 48/49, 204-207
- Rottensteiner A. E.* (2000) Elektroretinographie bei der Diagnostik von Visusstörungen bei Pferden. *Vet. Med. Diss. München*
- Rubin L. F.* (1967) Clinical electroretinography in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 151, 1456-1469
- Spiess B. M.* (1994) Elektrophysiologische Untersuchungen am Auge von Hund und Katze. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- Spiess B. M.* (2000) ERG bei Hund und Katze. *Vet. Med. Habil. Zürich*
- Virtanen R. und McDonald E.* (1985) Comparison of the effects of detomidine and xylazine on some  $\alpha_2$ -adrenoceptor-mediated responses in the central and peripheral nervous systems. *Eur. J. Pharmacol.* 115, 277-284
- Virtanen R., Savola J. M., Saano V. und Nyman L.* (1988) Characterization of the selectivity, specificity and potency of medetomidine as an  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonist. *Eur. J. Pharmacol.* 150, 9-14
- Witzel D. A., Joyce J. R. und Smith E. L.* (1977) Electroretinography of congenital nightblindness in an Appaloosa filly. *Equine Med. Surg.* 1, 226-229
- Witzel D. A., Riis R., Rebhun W. C. und Hillman R. B.* (1977) Night blindness in the Appaloosa sibling occurrence. *Equine Med. Surg.* 1, 383-386
- Witzel D. A., Smith E. L., Wilson R. D. und Aguirre A. D.* (1978) Congenital stationary blindness: an animal model. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 17, 788-795
- Wouters L. und de Moor A.* (1979) Ultrastructure of the pigment epithelium and the photoreceptors in the retina of the horse. *Am. J. Vet. Res.* 40, 1066-1071
- Wouters L., de Moor A. und Moens F.* (1980) Rod and cone components in the electroretinogram of the horse. *Zbl. Vetmed. A* 27, 330-338
- Prof. Dr. med. vet. Walter Brehm*  
*Chirurgische Tierklinik*  
*An den Tierkliniken 21*  
*04103 Leipzig*  
*brehm@vetmed.uni-leipzig.de*