

# Retrospektive Studie zur Klinik und Pathohistologie von Hornhauterkrankungen beim Pferd

Matthias Outschar, Andrea Fuchs-Baumgartinger und Barbara Nell

Department für Kleintier und Pferde (Universitätsklinik) der Veterinärmedizinischen Universität Wien, Fach: Augenheilkunde

## Zusammenfassung

Diese retrospektive Studie beschäftigte sich mit der Korrelation des ophthalmologischen Befundes von entzündlichen und chirurgisch behandelten Hornhauterkrankungen des Pferdes mit dem Befund des dazugehörigen pathohistologischen Keratektomiepräparats. Es wurden 38 Augen von 36 Patienten aus den Jahren 2001 bis 2011 in die Studie aufgenommen. Es musste sowohl ein klinischer, als auch ein pathohistologischer Befund vorliegen. Aus den vorhandenen Paraffinblöcken wurden die Schnitte neu angefertigt, und in Hämatoxylin-Eosin, Brown und Brenn, Acid-fast-trichrome, Grocott und Periodic acid-Schiff gefärbt. Jedes Auge wurde sowohl ophthalmologisch, als auch pathohistologisch nach dem für diese Studie entwickelten Beurteilungsschlüssel befundet. Es wurden folgende Symptome vergleichend beurteilt: Ödem, Entzündung, Kollagenolyse, Defekt, Gefäßneubildung, Pigmenteinlagerung, Kalziumeinlagerung, Vernarbung. Unter Berücksichtigung der Tiefenausdehnung von einigen Läsionen, konnte eine Korrelation des klinischen mit dem pathohistologischen Befund von 71,71 % erzielt werden. Etwas besser, mit 82,89 %, stellte sich das Ergebnis bei vollständigem Verzicht auf die Tiefenausdehnung der Läsionen dar. In dem Patientengut aus 11 Jahren wurden in 6 Fällen Bakterien und in 12 Fällen Pilze nachgewiesen. Mikrosporidien konnten in keiner Probe nachgewiesen werden. Der Grad der Korrelation hängt sehr stark von dem Beurteilungsschema ab. Je weiter die zu beurteilenden Symptome ausdifferenziert werden, umso schlechter ist die Korrelation. Die hier ausgewählten Symptome wurden jedoch sowohl ophthalmologisch, als auch pathohistologisch genau definiert. Wurde von den Klinikern ein Symptom beschrieben, konnte dies in den meisten Fällen auch pathohistologisch bestätigt werden. Diskrepanzen gab es teilweise bei der Beurteilung der Tiefenausdehnung eines Symptoms. Ohne ophthalmologische Befunde fehlen dem Pathologen oft wichtige Informationen, welche bei der Beurteilung einer winzigen Keratektomieprobe unabdingbar sind. Schnittbedingte Unklarheiten bei sehr kleinen Keratektomieproben können pathohistologisch zu Schwierigkeiten in der Beurteilung führen.

**Schlüsselwörter:** Pferd / Cornea / Keratitis / Ophthalmologie / Pathohistologie

## Retrospective study on clinical findings and apthohistology of corneal diseases in horses

The purpose of this retrospective study was to estimate the correlation between the clinical findings of equine inflammatory corneal disorders, which required surgical intervention, and the results of the pathohistologic examination of the obtained samples. Medical records of horses diagnosed with keratitis, at the Department for Small Animals and Horses, between 2001 and 2011, were reviewed. Inclusion criteria for this study were a complete ophthalmologic examination by a staff member of the University Ophthalmology Service, a full pathohistology report of the obtained specimen and the original histologic paraffin block of the respective samples for each horse. Pathohistology was repeated by a pathologist, samples were stained with haematoxylin-eosin, Brown & Brenn, acid-fast-trichrome, Grocott and periodic acid-Schiff. The reports of the ophthalmologic examination and pathohistology were evaluated according to an evaluation key, specifically designed for this study. The following findings were compared: grade of oedema, inflammation, kollagenolysis, ulcer depth, vascularisation, pigmentation, calcification, scarring. The pathologist was unaware of the preliminary ophthalmologic diagnosis at the time of the pathohistological examination. Thirty eight eyes of 36 horses met the inclusion criteria of this study. The correlation between clinical symptoms and the pathohistological diagnosis was 71.7% accurate if the depth of the corneal pathology was considered. Accuracy increased to 82.9% if the parameter of depth was disregarded. In six cases of 38 eyes bacterial infection was detected; fungi were found in 12, microsporidia were not identified in any of the obtained samples. Correlation accuracy between clinical symptoms and pathohistologic diagnosis greatly depends on the specificity of the evaluation criteria. Too much emphasis on quantitative information severely decreases correlation accuracy. Furthermore the quality of the pathohistology report is greatly influenced by the size of the keratectomy sample and additional information provided by the clinician to the pathologist.

**Keywords:** horse / cornea / keratitis / ophthalmology / histopathology

## Einleitung

Hornhautulzerationen bzw. Verletzungen mit Substanzverlust sind beim Pferd häufig. Etwa die Hälfte der Ulzera ist infiziert, wobei bakterielle Infektionen meist rascher unter Kontrolle zu bringen sind als Mykosen. Hornhautläsionen, die in der Regel chirurgisch versorgt werden sind kollagenolytische Ulzera, Descemetocelen und komplette Perforationen mit oder ohne Irisprolaps. Von den nicht ulzerierenden Keratopathien wird in der Regel nur der Stromaabszess chirurgisch versorgt. Relative Indikationen stellen indolente Ulzera dar. Narbenbildungen, Hornhautödeme, zellige und nicht zellige Infiltrate, nicht ulzerierende Keratouveitis und eosinophile Keratitis können meist konservativ behandelt werden (Clode und Matthews 2010).

Des Weiteren soll mit dieser Studie geklärt werden, ob der pathohistologische Befund überhaupt, und wenn ja, in welchen Punkten, eine genauere Diagnose zulässt. Außerdem sollen Vorteile und Grenzen der beiden Untersuchungsmethoden herausgearbeitet werden. Abhängig von der Art der Hornhauterkrankung könnte die pathohistologische Untersuchung zwingend notwendig, oder verzichtbar sein. Beurteilt werden auch der Wert der Anamnese und des ophthalmologischen Befunds für den Pathologen.

Aufgrund der Symptomatik wird in den meisten Fällen klinisch eine morphologische Verdachtsdiagnose gestellt. Unklar bleibt letztendlich, wie oft diese Verdachtsdiagnose durch den pathohistologischen Befund erhärtet werden kann, d.h. wie

gut korrelieren ophthalmologische Diagnose und pathohistologische Diagnose.

Sheldon et al. (2012) haben bereits in der humanen Ophthalmologie eine Korrelation zwischen der klinischen Befunderhebung und der pathohistologischen Verifikation herausgearbeitet. Es wurden aber ausschließlich penetrierende Hornhauttransplantationen untersucht.

## Material

Zur Untersuchung wurden 36 Pferdepatienten der Augenstation des Departments für Kleintiere und Pferde aus den Jahren 2001 bis einschließlich 2011 gesichtet und mit folgenden Kriterien für die Auswertung in die vorliegende Studie aufgenommen: Vorliegen einer entzündlichen Erkrankung der Hornhaut, Dokumentation des klinisch-ophthalmologischen Befundes, Dokumentation des pathohistologischen Befundes sowie Konservierung und Archivierung der jeweiligen Korneaprobe

## Methode

Die ophthalmologische Untersuchung der Kornea war in allen Fällen mit der Spaltlampe erfolgt. Von den in den Patientenakten dokumentierten Befunden wurden folgende Angaben für die vorliegende Auswertung herangezogen:

- Ödem: Tiefenangabe
- Infiltration mit Entzündungszellen: Tiefenangabe
- Gefäßeinsprossung: Ja / Nein
- Pigmenteinlagerung: Ja / Nein
- Kalziumeinlagerung: Ja / Nein
- Kollagenolyse: Tiefenangabe
- Defekt: Tiefenangabe
- Vernarbung: Ja / Nein

Zur Angabe über die Tiefenausdehnung von Ödem, entzündlicher Infiltration bzw. Keratolyse in der Hornhaut wurde die korneale Schichtdicke in Drittel unterteilt und entsprechend drei Grade definiert:

- Oberflächlich: bis zu einem Drittel der Hornhautdicke betroffen
- Tief: bis zu zwei Drittel der Hornhautdicke betroffen
- Perforierend: die Hornhaut ist in ihrer gesamten Dicke (drei Drittel) betroffen

Die Therapie der entzündlichen Hornhauterkrankung war in der Mehrzahl der Fälle (31 von 38 Fällen) chirurgisch als Keratektomie erfolgt, so dass zeitnah zur klinischen Befunderhebung auch eine pathohistologische Beurteilung der Korneaprobe dokumentiert werden konnte. In Einzelfällen (7 Fälle) lag das Auge in toto vor. Wenn beides gemacht wurde, Erfolgte nach der Keratektomie auch noch eine Bulbusextirpation, wurde derjenige ophthalmologische Befund zur Beurteilung herangezogen, der möglichst zeitnah zur pathohistologischen Beurteilung erhoben wurde.

Für die pathohistologische Beurteilung wurde jedes Präparat gesichtet und nach dem Beurteilungsschema ausgewertet.

Neben den klinischen erhobenen Befunden wurden insgesamt folgende Befunde herangezogen:

- Ödem: Tiefenangabe
- Infiltration mit Entzündungszellen: Tiefenangabe
- Gefäßeinsprossung: Ja / Nein
- Pigmentierung: Ja / Nein
- Kalziumeinlagerung: Ja / Nein
- Kollagenolyse: Tiefenangabe
- Defekt: Tiefenangabe
- Vernarbung: Ja / Nein
- Epithelhyperplasie: Ja / Nein
- Bakterien: Tiefenangabe
- Pilze: Tiefenangabe
- Mikrosporidien: Tiefenangabe

Die pathohistologische Tiefeneinteilung wurde wie folgt definiert: Oberflächlich (=1), wenn 1/3 der Hornhautdicke betroffen ist. Die Veränderung befindet sich im Hornhautepithel oder knapp darunter. Tief (=2), wenn 2/3 der Hornhautdicke betroffen sind. Die Veränderung reicht bei einer Keratektomieprobe bis an den Rand des Präparats. Gesamte Dicke (=3). Die Beurteilung war nur möglich wenn der gesamte Bulbus, oder eine Probe welche über die gesamte Dicke der HH reicht, vorliegt.

Folgende drei Beurteilungskriterien wurden noch eingeführt:

- TNB= Tiefe nicht beurteilbar: Schnittbedingt ist es nicht möglich, eine sichere Aussage über die Tiefe der Veränderung zu treffen, da z.B. ein Tangentialschnitt vorliegt.
- NB= nicht beurteilbar (bei Punkt 7/Defekt): es ist keine Aussage möglich, da kein Epithel am Schnittbild vorhanden ist.
- VD= Verdacht auf Defekt: Es ist nicht sicher beurteilbar ob es sich um einen Defekt oder um eine artifizielle Veränderung (Ablösung) des Epithels handelt.

Die histologischen Präparate wurden in einer Dicke von 3–4  $\mu\text{m}$  angefertigt und mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt. Zum Nachweis von Bakterien diente die Färbung nach Brown und Brenn. Der Pilznachweis erfolgte mit der Grocottfärbung und der Periodic acid-Schiff Reaktion. Für den Nachweis von Mikrosporidien wurden sowohl die Färbung nach Brown und Brenn, als auch die Acid fast trichrome Färbung durchgeführt.

## Ergebnisse

Von den 36 in die Studie aufgenommenen Pferden (7 Hengste, 9 Stuten und 20 Wallache), wurden 38 Augen untersucht; es handelt sich um 18 rechte und 20 linke Augen. Bei 9 Tieren war anamnestisch eine Vorerkrankung in Form einer Keratitis nachweisbar. 13 Augen wurden ausschließlich mit Antibiotika vorbehandelt, 17 Fälle sowohl antibiotisch, als auch mit Kortison. Eine reine Kortisonvorbehandlung fand lediglich in einem Fall statt. 4 Augen wurden nicht vorbehandelt, über die restlichen 3 Fälle lag keine Information bezüglich Vorbehandlung vor (Tab 1).

Abbildung 1 und 2 zeigen beispielhaft die Auswertung der Beurteilungskriterien. Tabelle 1 zeigt das bei der Studie verwendete Auswertungsschema. Die erhobenen klinisch- ophthalmologischen Befunde sowie die pathohistologischen Kontrollen finden sich in Tabelle 2–5. Tabelle 2 zeigt, wie oft ein

**Tab. 1** Beurteilungsbogen / Evaluation form

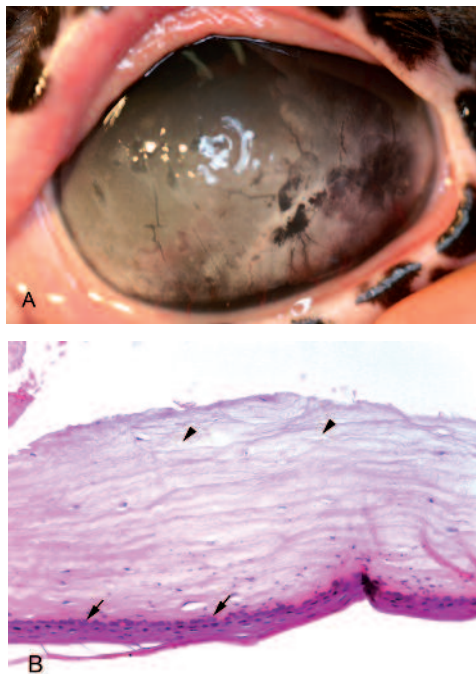
Patienten ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36				
Grund der Aufnahme	OS	OS	OD	OS	OS	OD	OS	OD	OS	OD	OS	OS	OS	OD	OD	OD	OS	OS	OD	OD	OD	OS	OS	OS	OS	OD	OS	OD	OS	OD	OD	OD	OS	OS	OS	OS				
Geschlecht	H	W	H	S	W	H	S	W	S	W	S	S	S	W	W	W	W	W	S	W	S	W	S	W	W	W	H	S	W	H	S	W	H	S	W	S	H	W		
Alter (Monate)	88	120	1	182	127	113	41	148	396	250	175	120	161	146	82	162	138	138	121	232	255	234	277	142	90	199	174	121	179	193	124	164	154	113	1	162	113			
Rasse	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	P	P	W	W	W	W	P	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	W	P	W	W	W		
Dauer (Wochen)	4	2	2	1	2	1	9	2	3	2	0	1	3	4	2	2	3	3	16	3	3	3	1	3	2	4	12	3	2	1	1	8	3	2	0	2	4	4		
Vorerkrankung	N	N	N	N	J	N	N	N	J	J	N	N	N	N	N	N	J	N	N	J	J	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
VB Kortison	J	J	N	N	N	N	J	J	J	J	J	N	J	N	N	J	J	J	J	N	J	N	J	J	N	J	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
VB Antibiotikum	J	J	J	N	N	J	J	J	J	J	J	N	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	N	J	N	J	N	J	J	J	J	J	J	J	J	N	J	
Ödem	2	3	1	1	2	3	2	0	2	1	1	1	1	1	1	2	1	1	0	1	2	3	1	2	1	3	1	2	3	0	1	3	3	3	1	2	3			
Entzündung	2	3	1	1	2	2	3	2	0	1	2	1	2	3	2	2	0	0	0	0	3	2	2	1	1	0	1	2	3	0	3	2	0	2	1	2	3			
Gefäßspr.	N	J	J	N	N	J	N	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	
Pigmenteinkl.	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Ca Einlagerung	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Kollagenolyse	2	3	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	
Defekt	2	2	1	0	1	2	2	3	1	3	3	1	2	0	1	0	2	0	1	0	0	0	2	3	0	1	0	0	0	1	2	1	0	2	1	0	2	1	2	
Vernarbung	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Ödem	2	3	1	1	TNB	2	2	2	3	TNB	2	1	1	TNB	2	TNB	TNB	TNB	2	1	2	2	2	2	TNB	2	1	2	3	1	3	2	3	2	2	2	2	2		
Entzündung	2	3	2	TNB	TNB	2	2	2	3	TNB	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2	TNB	2	1	2	3	1	3	2	1	2	2	2	2	2	2	
Gefäßspr.	N	J	J	N	N	N	J	J	J	J	J	J	J	J	N	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	
Pigmenteinkl.	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Ca Einlagerung	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	J	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Kollagenolyse	N	3	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	
Defekt	NB	VD	1	0	NB	2	1	NB	1	3	NB	0	VD	1	0	NB	0	0	0	0	0	VD	NB	1	VD	1	0	0	1	0	0	1	0	NB	1	1	NB	VD	1	VD
Vernarbung	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	
Epithelhyp.	N	N	N	N	J	N	0	VD	J	N	J	0	J	N	NB	N	N	N	N	J	N	N	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J	N	J	N	N	N	N	N	
Bakterien	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Pilze	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	3	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Mikrosporidien	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Legende: OS= linkes Auge; OD= rechtes Auge; Geschlecht: H= Hengst; W= Wallach; S= Stute; Rasse: W= Warmblut; K= Kaltblut; P= Pony; J= Ja; N= Nein; 1 = oberflächlich; 2 = tief; 3 = penetrierend; TNB = Tiefe nicht beurteilbar; NB = nicht beurteilbar; VD = Verdacht

Beurteilungskriterium klinisch oder pathohistologisch gefunden wurde. Hier sei jedoch darauf hingewiesen, dass bei dieser Form der Auflistung keine Aussage über die Korrelation getroffen werden kann. In Tabelle 3 und 4 werden die absoluten Häufigkeiten, sowie die Korrelation der erhobenen Befunde dargestellt. Tabelle 3 gibt unter anderem die folgenden Ergebnisse wieder:

Pathohistologisch wurden sowohl Ödeme als auch Entzündungen bei allen untersuchten Proben festgestellt. Klinisch wurde nur bei drei Augen kein Ödem und bei 8 keine Entzündung festgestellt. Die Pathologie findet dagegen Ödeme und Entzündungen häufiger in der Tiefe. Kollagenolyse konnte klinisch in acht, pathohistologisch in sieben Fällen nachgewiesen werden, jedoch korrelieren nur sechs Fälle.

Klinisch können Defekte aufgrund des eindeutigen Ergebnisses des Fluoreszeintests gut erkannt werden. Man kann also in diesem Punkt davon ausgehen, dass der klinische Befund bezüglich des Vorhandenseins eines Defekts als richtig anzusehen ist. In einigen Fällen sind hier keine klaren pathohistologischen Ergebnisse, sondern eher Unklarheiten vorhanden. So wird beispielsweise in 7 Fällen histologisch ein Verdacht auf einen Defekt ausgesprochen, klinisch kann dieser jedoch lediglich in zwei Fällen bestätigt werden. Auch beim Vergleich der Tiefenausdehnung des Defekts kommt es zu deutlichen Abweichungen zwischen Ophthalmologie und Pathohistologie.

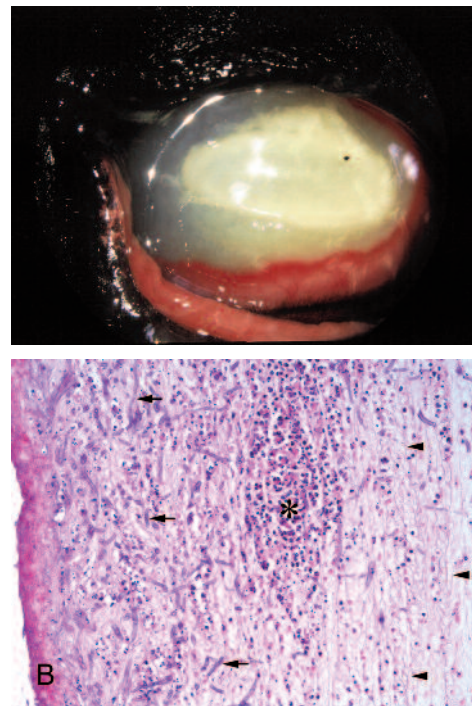


**Abb. 1** Patient ID 18: Ophthalmologisches (A) und pathohistologisches (B) Bild des linken Auges eines 10 Jahre alten Wallachs. Ophthalmologisch (A) zeigt sich eine Gefäßeinsprossung, Pigmenteinlagerung, Kalziumeinlagerung und Vernarbung der Hornhaut. Das pathohistologische Bild (B) ist HE gefärbt und 20 fach vergrößert. Es zeigt sich ein tiefes Ödem (Pfeilköpfe) und eine Kalziumeinlagerung (Pfeile).

*Ophthalmologic (A) and pathohistologic (B) image of the left eye of a 10-year-old gelding. Ophthalmology (A) shows vascularisation, pigment deposition, calcium deposition and scarring of the cornea. The pathohistologic image (B) is HE stained and magnification is 20 times. It shows a deep edema (arrowheads) and calcium deposition (arrows).*

Um die Handhabung der Tabellen zu erleichtern, sei anhand der Tabelle 3 die Interpretation beispielhaft erklärt: Klinisch-ophthalmologische Befunde stehen links und sind nur nach Symptomen gegliedert, die sich auch pathohistologisch kontrollieren lassen. In der vorletzten Spalte steht die Gesamtzahl der in die jeweilige Kategorie eingeordneten ophthalmologischen Befunde. Die Zwischenspalten erklären wie oft ein klinischer Befund histologisch verifizierbar war. Der Begriff „fehlender Befund“ ist ein Sammelbegriff und fasst die von dem allgemeinen Beurteilungsschema abweichenden Befunde zusammen (z.B.: Tiefe nicht beurteilbar und nicht beurteilbar). Zum Beispiel geht aus Spalte 4 und Spalte 10 hervor, dass an 15 Augen der klinische Befund eines oberflächlichen Hornhautödems erhoben wurde. Die Histologie hat diesen Befund jedoch in lediglich 6 Fällen bestätigt. In 4 Fällen handelt es sich um ein tiefes, in einem Fall um ein penetrierendes Ödem. In 4 Fällen „fehlt“ der histologische Befund (s.o.).

Die Interpretation von Tab. 4 ist prinzipiell ähnlich, jedoch handelt es sich hier um jene Beurteilungskriterien, welche nach dem Ausschlussverfahren (Ja/Nein) befundet wurden. Der Punkt Pigmenteinlagerung zeigt eine relativ gute Korrelation von Ophthalmologie und Pathohistologie. Bei dem Nachweis



**Abb. 2** Patient ID 21: Ophthalmologisches (A) und pathohistologisches (B) Bild des rechten Auges eines 20 Jahre alten Wallachs. Ophthalmologisch (A) zeigen sich ein Ödem über die gesamte Dicke der Hornhaut, eine Einlagerung von Entzündungszellen im Stroma, sowie eine Kollagenolyse. Des Weiteren zeigen sich eine Gefäßeinsprossung und eine Kalziumeinlagerung. Das pathohistologische Bild (B) ist HE gefärbt und 10 fach vergrößert. Man sieht ein stromales Ödem (Pfeilköpfe), eine Einlagerung von Entzündungszellen in der Tiefe (Stern), sowie Pilzhypfen (Pfeile) in der Tiefe.

*Ophthalmologic (A) and pathohistologic (B) image of the right eye of a 20-year-old gelding. Ophthalmology (A) shows edema over the entire thickness of the cornea, a deposition of inflammatory cells in the stroma, and collagenolysis. Further it shows a vascularisation and calcium deposition. The pathohistologic image (B) is HE stained and magnification is 10 times. It shows a stromal edema (arrowheads), deep infiltration of inflammatory cells (Star) and fungal hyphae (arrows).*

einer Kalziumeinlagerung wurden die in der Hämatoxylin-Eosin Färbung verdächtigen Präparate zusätzlich spezialgefärbt, um ein eindeutiges Ergebnis zu bekommen. Es konnten jedoch nur zwei von fünf klinisch diagnostizierten Kalziumeinlagerungen bestätigt werden. Zwei weitere Male wurde eine Kalziumeinlagerung histologisch gefunden, nicht jedoch klinisch.

Bei Punkt Gefäßeinsprossung diagnostizierte die Klinik 28 Mal ein positives Ergebnis, auf dem histologischen Präparat wurde jedoch lediglich 24 Mal eine Gefäßeinsprossung gefunden. Tabelle 5 zeigt die Korrelation der Beurteilungskriterien aus Tabelle 3 ohne jedoch auf die Tiefenausdehnung Rücksicht zu nehmen. Durch Summierung der jeweiligen Einzelkorrelationen, ergibt sich eine Korrelation aus Tabelle 3 von 54,61% und aus Tabelle 4 von 88,82%. Diese Ergebnisse zusammengefasst, zeigen eine Gesamtkorrelation aller Beurteilungskriterien von 71,71%.

Aus Tabelle 5 (gleiche Beurteilungskriterien wie Tab. 3 jedoch ohne Tiefenberücksichtigung) ergibt sich eine Korrelation von 76,97%. Zieht man nun die Korrelationen von Tabelle 4 und Tabelle 5 (keine Tiefenangabe bei den Beurteilungskriterien) heran, ergibt sich eine Gesamtkorrelation 82,89%.

Interessant ist die Gegenüberstellung des Auftretens von Bakterien mit dem Vorhandensein eines Defekts. Insgesamt wurde 14 Mal klinisch ein Defekt erkannt, jedoch fanden sich nur

in drei Fällen oberflächliche Bakterien und in einem Fall tiefe Bakterien im Präparat. Die restlichen zwei Bakterienfälle korrelieren nicht mit einem Defekt.

Ein deutlich anderes Bild erhält man diesbezüglich auch beim Vergleich vorhandene Bakterien versus pathohistologisch diagnostizierte Defekte. Hier werden nur ein Mal, bei einem penetrierenden Defekt, Bakterien gefunden. In drei Fällen findet man Bakterien ohne dass ein Defekt vorliegt, zwei Mal werden in tiefen Schichten Bakterien gefunden und es besteht der Verdacht auf einen Defekt. Eine Kollagenolyse konnte im Zusammenhang mit Bakterien lediglich in einem Fall sowohl klinisch, als auch pathohistologisch gefunden werden.

Bei der Gegenüberstellung Defekt mit Pilzen, wurden in vier Fällen Pilze ohne das Vorhandensein eines Defekts gefunden, pathohistologisch liegt in drei Fällen ein oberflächlicher Defekt vor, in neun Fällen wird jedoch lediglich ein Verdacht auf einen Defekt ausgesprochen, oder die Intaktheit des Epithels konnte nicht beurteilt werden. Klinisch finden sich in sechs von zwölf Fällen eine Kollagenolyse bei gleichzeitigem Vorhandensein von Pilzen. Pathohistologisch zeigt sich ein ähnliches Bild. Insgesamt wurden bei zwölf Augen Pilze gefunden, sieben davon wurden mit einem Kortisonpräparat vorbehandelt, zwei wurden nicht vorbehandelt und bei den restlichen drei Pilzfällen lag keine Information über mögliche Vorbehandlungen vor.

**Tab. 2** Absolute Häufigkeiten der jeweiligen Beurteilungskriterien / *Absolute frequencies of the relevant assessment criteria*

		Ophthalmologie	Pathohistologie	
Beurteilungskriterien	Ödem	Ja	35	38
		Nein	3	0
		Gesamt positiv(%)	92%	100%
	Entzündung	Ja	30	38
		Nein	8	0
		Gesamt positiv(%)	79%	100%
	Kollagenolyse	Ja	8	7
		Nein	30	31
		Gesamt positiv(%)	21%	18%
	Defekt*	Ja	14	12
		Nein	24	9
		Gesamt positiv(%)	37%	57%*
	Gefäße	Ja	28	24
		Nein	10	14
Gesamt positiv(%)		74%	63%	
Pigment	Ja	3	3	
	Nein	35	35	
	Gesamt positiv(%)	8%	8%	
Calcium	Ja	5	4	
	Nein	33	34	
	Gesamt positiv(%)	13%	11%	
Vernarbung	Ja	2	0	
	Nein	36	38	
	Gesamt positiv(%)	5%	0%	

\* Da pathohistologisch das Präparat in 17 Fällen nicht auf einen Defekt beurteilt werden konnte, oder nur ein Verdacht ausgesprochen wurde, beziehen sich in dieser Zeile die 100% nicht auf 38, sondern auf 21 Präparate.



Weniger deutlich spiegelt sich das Vorhandensein von Bakterien bei gleichzeitiger Antibiotika-Vorbehandlung wieder. Hier wurden in drei der fünf Fälle Bakterien bei Antibiotikavorbehandlung gefunden. Zwei Mal fanden sich Bakterien bei nicht vorbehandelten Patienten. Die Untersuchung auf Mikrosporidien fiel bei allen 38 Augen negativ aus.

## Diskussion

Die Studie von *Sheldon et al. (2012)*, beschäftigte sich, als derzeit einzige thematisch ähnliche Studie, mit dem direkten Vergleich der klinischen Diagnose mit dem pathohistologischen Befund. Untersucht wurden 4000 humanmedizinische Patien-

**Tab. 3** Korrelation von ophthalmologischen und pathohistologischen Ergebnissen unter Berücksichtigung der Tiefenausdehnung / *Correlation of ophthalmologic and pathohistologic results considering the depth of the lesion*

		Pathohistologie						Gesamt	Korrelation
		oberflächlich	tief	penetrierend	nicht vorhanden	Verdacht	fehl. Befund		
Ödem	Oberflächlich	6	4	1	0	0	4	15	42,11%
	Tief	0	7	0	0	0	3	10	
	Penetrierend	0	7	3	0	0	0	10	
	nicht vorhanden	1	1	1	0	0	0	3	
	Gesamt	7	19	5	0	0	7	38	
Entzündung	Oberflächlich	1	4	0	0	0	3	8	47,37%
	Tief	0	14	0	0	0	1	15	
	Penetrierend	0	4	3	0	0	0	7	
	nicht vorhanden	3	3	1	0	0	1	8	
	Gesamt	4	25	4	0	0	5	38	
Kollagenol.	Oberflächlich	0	0	0	0	0	0	0	92,11%
	Tief	1	5	0	1	0	0	7	
	Penetrierend	0	0	1	0	0	0	1	
	nicht vorhanden	0	0	0	30	0	0	30	
	Gesamt	1	5	1	31	0	0	38	
Defekt	Oberflächlich	5	0	0	2	1	2	10	34,21%
	Tief	2	1	0	1	1	5	10	
	Penetrierend	1	0	1	0	0	2	4	
	nicht vorhanden	2	0	0	6	5	1	14	
	Gesamt	10	1	1	9	7	10	38	

**Tab. 4** Korrelation von ophthalmologischen und pathohistologischen Ergebnissen ohne Berücksichtigung der Tiefenausdehnung / *Correlation of ophthalmologic and pathohistologic results without considering the depth of the lesion.*

		Pathohistologie			Gesamt	Korrelation
		Ja	Nein			
Gefäßeinsprossung	Ja	22	6	28	78,95%	
	Nein	2	8	10		
	Gesamt	24	14	38		
Pigment	Ja	2	1	3	94,74%	
	Nein	1	34	35		
	Gesamt	3	35	38		
Ca-Einlagerung	Ja	2	3	5	86,84%	
	Nein	2	31	33		
	Gesamt	4	34	38		
Vernarbung	Ja	0	2	2	94,74%	
	Nein	0	36	36		
	Gesamt	0	38	38		

ten, die sich aufgrund unterschiedlicher Hornhauterkrankungen einer penetrierenden Keratoplastik unterzogen hatten. Es war bei eingeschränktem Diagnosespektrum eine positive Korrelation von Klinik und Pathohistologie in einer Höhe von 94% der Proben gefunden worden. Bei den nicht korrelierenden 6% der Proben war zum größten Teil die Unmöglichkeit der klinischen Differenzierung die Ursache gewesen. Zusätzlich weisen die kanadischen Autoren auf das Problem hin, dass der Histopathologe aufgrund der klinischen Vorberichte zum Teil voreingenommen war und die histopathologischen Ergebnisse tendenziell dazu neigten, den klinischen Befund zu bestätigen. Wenn beispielsweise klinisch ein Infektionsverdacht geäußert worden war, konnte in 21% dieser Fälle der Pathohistologe die definitive Erregerdiagnose stellen.

Dieses Problem konnte in dieser Studie vermieden werden, weil sowohl die Klinik, als auch die Pathohistologie völlig getrennt befundet wurden, und jede histologische Probe auf die oben in Rede stehenden Infektionserregergruppen untersucht wurde. Somit konnte ein absolut unbeeinflusstes Ergebnis erzielt werden. Im Unterschied zur hier vorliegenden Studie waren bei der kanadischen Studie zwar verschiedene Kliniker, jedoch nur ein einziger Histopathologe an der Befundung beteiligt. Da darüber hinaus nur penetrierende Keratoplastiken in jene Studie aufgenommen worden waren, unterscheidet sich die kanadische Studie auch im Umfang der möglichen Diagnosen, sowohl klinisch als auch, von der vorliegenden Untersuchung.

Ein definitives Anforderungsformular für pathohistologische Untersuchungen, das für jeden Patienten auszufüllen gewesen wäre, und somit die Nomenklatur und Untersuchungskriterien vereinheitlicht hätte, existierte für die Pferdepatienten ursprünglich nicht. Es war daher unumgänglich, einen möglichst einfachen Beurteilungsschlüssel sowohl für Klinik als auch für Pathohistologie zu entwickeln. Es wurde versucht, sämtliche entzündliche Hornhauterkrankungen nach ihren sowohl in der Klinik, als auch in der Pathohistologie zu findenden Symptomen aufzuschlüsseln. Darüber hinaus waren alle klinischen Fälle einer entzündlichen Hornhauterkrankung, denen eine pathohistologische Untersuchung gefolgt war, in die Studie aufgenommen worden.

Dies zusammengenommen führte dazu, dass eine Korrelation zwischen ophthalmologischer und pathohistologischer Befundung nicht in dem Ausmaß, wie in der kanadischen Studie angegeben, festgestellt werden konnte. Somit lag die Korrelation (unter Berücksichtigung der Tiefenausdehnung) mit 71,71% wesentlich unter den 94% der Studie von Sheldon et al. (2012). Verzichtet man jedoch auf die Tiefenausdehnung bei allen Veränderungen, und reduziert die Ergebnisse rein auf eine Ja/Nein-Befundung, so erhält man eine Korrelation von 82,89%. Die Studie von Sheldon et al. (2012) stellt definitive klinische Enddiagnosen dem pathohistologischen Endbefund gegenüber. Beispielsweise waren 20,4% aller zur penetrierenden Keratoplastik führenden Hornhauterkrankungen klinisch als bullöse Keratopathie diagnostiziert worden. Der Pathohistologe fand in 21% aller Fälle eine bullöse Keratopathie.

Nach dem Beurteilungsschlüssel dieser Studie wurden keine Enddiagnosen oder Verdachtsdiagnosen herangezogen, sondern das Krankheitsbild nach den von uns entwickelten und genormten Beurteilungskriterien, d. h. bloßen klinischen Symptomen, beschrieben. Zur Beurteilung wurde in keinem Fall die jeweils andere Disziplin zum Vergleich herangezogen. Es wurden sowohl lamelläre als auch penetrierende Kreatektomieproben von unterschiedlicher Größe beurteilt. Desweiteren wurden auch Augen in toto zur pathohistologischen Untersuchung gebracht.

Die kanadische Studie untersucht hingegen rein penetrierende, in der Größe genormte Hornhautausstanzen. Diese histologischen Präparate sind immer in voller Hornhautdicke vorhanden und daher die Bearbeitung, Anfertigung und die Beurteilung des histologischen Präparates einfacher.

Aufgrund der hohen Anteile lamellärer Kreatektomieproben der behandelten Pferdeaugen stellte sich die pathohistologische Untersuchung oft schwierig dar, da die Tendenz zur Verdrehung und Faltung der Proben durch die Formalinfixierung ziemlich groß war und somit manchmal kein repräsentatives histologisches Präparat zu erhalten war. Dies erklärt, dass zwar ein Beurteilungskriterium klinisch einwandfrei verifiziert werden konnte, pathohistologisch jedoch nicht zu bestätigen, oder die Tiefenausdehnung nicht zu beurteilen war. Das zeigt

**Tab. 5** Korrelation von ophthalmologischen und pathohistologischen Ergebnissen ohne Berücksichtigung der Tiefenausdehnung / *Correlation of ophthalmologic and pathohistologic results without considering the depth of the lesion.*

		Pathohistologie			Korrelation
		Ja	Nein	Gesamt	
Ophthalmologie	Ödem	Ja	35	0	35
		Nein	3	0	3
		Gesamt	38	0	38
	Entzündung	Ja	30	0	30
		Nein	8	0	8
		Gesamt	38	0	38
	Kollagenol.	Ja	7	1	8
		Nein	0	30	30
		Gesamt	7	31	38
	Defekt	Ja	9	3	12
		Nein	3	6	9
		Gesamt	12	9	21

sich am Beispiel der Gefäß einsprossung in die Hornhaut (Tab. 3). Es ließ sich eine schlechte Korrelation feststellen. Trotz der Tatsache, dass Gefäße in der Keratektomieprobe vorhanden gewesen sein mussten, da eindeutig klinisch festgestellt, konnte der Pathologe möglicherweise aufgrund der geringen Größe des Präparats in 6 Fällen keine Gefäße verifizieren. Der Kliniker hat den Vorteil immer die gesamte Hornhaut zur Beurteilung heranziehen zu können, der Pathologe hat jedoch nur das vorhandene Hornhautfragment. Die Histologie bestätigt die ophthalmologischen Befunde mit wenigen Ausnahmen. Das heißt, bezüglich der Kriterien Ödem, Entzündung, Kollagenolyse, Pigmentierung, Defekt ist die Klinik im positiven Sinne verlässlich. Ebenso wird die Kollagenolyse richtig erkannt, nur findet der Histologe einige mehr, bzw. in einer anderen Schicht der Hornhaut.

Die Prognose fällt also nach der Histologie in den Fällen Ödem, Entzündung und Kollagenolyse ungünstiger aus, als man nach ophthalmologischer Bewertung angenommen hätte. Die ebenfalls geringe Korrelation im Falle des Symptomes Vernarbung führt der Histologie zufolge zu einer positiveren Einschätzung der Aussichten, da die klinisch als inaktiv gesehene Narbe sich histologisch noch als ausreifendes Granulationsgewebe zeigt und somit zumindest theoretisch noch die teilweise Transparenz der Kornea wiederhergestellt werden könnte. Ob dies in der Praxis für den Tierbesitzer von Belang ist, muss jedoch wegen der sehr langen Regenerationszeit dahingestellt bleiben.

Bakterielle und mykotische Infektionen waren im Rahmen dieser Untersuchung (Pilze 12/38 (31,6%); Bakterien 6/38 (15,8%)) wesentlich seltener am Keratitisgeschehen beteiligt, als zunächst angenommen. In lediglich 4 der insgesamt 14 Defekte wurden Bakterien gefunden. Laut *Dubielzig et al.* (2010) finden sich Bakterien in den histologischen Präparaten nur in den sehr frühen Stadien der Erkrankung. In diesem Fall können sie jedoch zahlreich sein. In einer Studie von *Thangadurai et al.* (2010) wurden 500 Pferde der indischen Armee untersucht. 100 Pferde hatten eine Augenerkrankung, von diesen hatten 8% ein Hornhautulkus, welches hauptsächlich von Pseudomonaden infiziert war. Die Autoren weisen in ihrer Untersuchung jedoch kein klinisches Stadium der Ulkuserkrankung aus oder auf deren Schwere hin. Die Keratomalazie wird von *Dubielzig et al.* (2010) als eine sehr häufige Folge einer mikrobiellen Keratitis beschrieben. Diese Studie fand lediglich in einem der sieben Kollagenolysefälle Bakterien im histologischen Präparat während Pilze in sechs von sieben Fällen mit Kollagenolyse gefunden wurden. In der Studie von *Reed et al.* (2012) wurde eine vergleichbare Häufigkeit von Keratomykosen beim Pferd wurde gefunden. Es wurden in der Zeit von 1987 bis 2010 47 Pferde mit Keratomykose diagnostiziert, was 2% aller Pferdaugenpatienten entspricht.

Hornhautulzera werden zunächst konservativ behandelt, deshalb liegen nur wenige histologische Proben des frühen Erkrankungsstadiums vor. Da es im Patientengut der Veterinärmedizinischen Universität Wien keine unbehandelten Fälle, die einer sofortigen Keratektomie bedurft hätten gab, wurde dieser Umstand in der Auswertung nicht gesondert berücksichtigt.

In der Studie von *Andrew et al.* (1998) wurden in einem Zeitraum von 1987 bis 1996 39 Pferde mit ulzerativer Keratomykose untersucht. Die Studie von *Utter et al.* (2009) be-

schreibt 41 Pferde mit ulzerativer Keratitis. 21 dieser Patienten wurden chirurgisch behandelt, 20 Patienten konservativ, da der chirurgische Eingriff von den Besitzern abgelehnt worden war. Bei der Zytologie wurden in der konservativ behandelten Gruppe in 56% (10/18) der Fälle Mikroorganismen nachgewiesen, in der chirurgisch behandelten Gruppe in 72% (13/18) der Zytologiefälle. Der Unterschied war statistisch nicht signifikant.

Die konservativ behandelten ulzerativen Keratitiden kommen in der Betrachtung der vorliegenden Studie gar nicht vor, da es entsprechend keine histologischen Präparate gibt. Diese Fälle machen jedoch im normalen Patientengut mindestens die Hälfte der therapierten Ulzerationen aus. Mikrosporidien konnten nicht nachgewiesen werden und sind bis jetzt auch nicht in der Hornhaut des Pferdes beschrieben.

Aus dem bisher gesagten lässt sich zusammenfassen, dass die Histologie retrospektiven Wert hat, da sie dem Kliniker Auskunft über die Präzision seiner diagnostischen Arbeit geben kann. Die in dieser Untersuchung gefundenen korrelierenden Symptome reichen in der Regel zur Erstellung einer Verdachtsdiagnose im Akutfall vollständig aus. Die Histologie ist mit Einschränkung ebenso im Qualitätsmanagement der Arbeit des Kliniklers vorstellbar. Dazu sind allerdings genormte Krankenberichte, etwa in Form von Strichlisten, und eine fächerübergreifende, genormte Nomenklatur unabdingbare Voraussetzung. Auf vollständiges Ausfüllen seitens der Zuweisenden wäre strikt zu achten. Außerdem sollte auf subjektive und schwer abschätzbare Symptombeschreibungen wie etwa Tiefenangaben von Seiten der Klinik verzichtet werden, da solche, wie bei uns nachgewiesen, histologisch in vielen Fällen nicht verifizierbar gewesen sind.

## Literatur

- Andrew S., Brooks D. und Smith P.* (1998) Equine ulcerative keratomycosis: visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987-1996). *Equine Vet J* 30, 109-116
- Clode A. und Matthews A.* (2010) Diseases and Surgery of the Cornea. In: *Gilger B.*: Equine Ophthalmology, St Louis, Missouri, Elsevier Saunders, S. 181-259
- Dubielzig R., Ketring K., Mc Lellan G. und Albert D.* (2010) Diseases of the cornea and sclera. In *Dubielzig R.*: Veterinary ocular pathology, Edinburgh, Saunders Elsevier, S. 222-225
- Reed Z., Thomasy S., Good K., Maggs D., Magdesian K., Pusterla N. und Hollingsworth S.* (2012) Equine keratomycoses in California from 1987 to 2010 (47 cases). *Equine Vet. J.* ISSN 0425-1644
- Sheldon C., McCarthy M. und White V.* (2012) Correlation of clinical and pathologic diagnoses of corneal disease in penetrating keratoplasties in Vancouver: A 10-year review. *Can. J. Ophthalmol.* 47, 5-10
- Thangadurai R., Sharma S., Bali D., Rana B., Mahajan V., Samanta I. und Hazra S.* (2010) Prevalence of ocular disorders in an Indian population of horses. *Equine Vet. Sci.* 30, 326-329
- Utter M., Davidson E. und Wotman K.* (2009) Clinical features and outcomes of severe ulcerative keratitis with medical and surgical management in 41 horses (2000-2006). *Equine Vet. Educ.* 21, 321-327

*Otschar Matthias*  
Hauptstraße 99  
2531 Gaaden  
matthias.otschar@gmx.at