



Norges miljø- og biovitenskapelige universitet

NMBU Veterinærhøgskolen
Institutt for sports- og fammedyrmedisin & Institutt for
parakliniske fag
Seksjon for smådyrsykdommer

Fordypningsoppgave 2021

Fordypning Smådyr

Bakterieförekomst och resistensprofil hos norska hundar med smältande corneasår på Dyresykehuset-Smådyr NMBU

Bacterial presence and antimicrobial susceptibility in
dogs with keratomalacia at the Small Animal Hospital at
NMBU

Johansson, Kirkeby
Kull 2015

Tobias Revold, Ernst-Otto Ropstad, Henning Sørum

Innehållsförteckning

Definitioner och förkortningar	4
Inledning.....	11
Ögats anatomi.....	11
Smältande corneasår.....	18
Behandling av corneasår	19
Bakterier och oftalmologi.....	24
Syfte.....	32
Material och metod.....	33
Resultat.....	35
Signalement studiedeltagare.....	35
Bakteriedyrkning	40
Påvisning av resistens.....	42
Behandling mot keratomalacia	47
Tid på året för diagnosen smältande corneasår	50
Sammanfattning av data för de fem vanligaste bakterieisolaten	56
Diskussion	59
Dyrkning.....	59
Bakterieförekomst	62
Antibiotikaresistens	67
Kirurgi och utfall medicinsk behandling.....	72
Smältande corneasår och brakycefala hundar	73
Klimat och årstid	75
Styrkor och begränsningar med studien	76

Framtida rekommendationer	79
Konklusion	80
Tack till.....	80
Summary	81
Referenser.....	82

Sammandrag

Titel: Påvisade bakteriearter och deras antibiotikaresistensprofil hos hundar med smältande corneasår ved Smådyrsykehuset NMBU.

Författare: Maria Johansson, Henriette Kirkeby

Vägledare: Tobias Revold, Institut for sports- og familiedyrmedisin
Ernst-Otto Ropstad, Institut for sports- og familiedyrmedisin
Henning Sørum, Institut for Parakliniske fag, Faggrupp for bakteriologi og mykologi

Syftet med denna retrospektiva studie var att insamla data kring bakterieförekomst och deras resistensprofiler bland hundar med keratomalacia som uppsökt veterinærhøgskolen NMBUs dyresykehus. Totalt inkluderades 93 kasus som sökt vård mellan 2012 och 2020. Dessa uppfyllde inklusionskriterierna med diagnosen smältande corneasår kombinerat med utförd dyrkning och resistensprofil. Från 93 hundar blev det avlagt 95 svaberprov från cornea och av dessa blev det dyrkat 17 olika bakteriegrupper i tillägg till två svaber med oidentifierad bladningsflora. Antalet negativa dyrkningar utgjorde 26 stycken (27,3 %) av alla dyrkningar. Bland de 69 positiva dyrkningarna behövde 36,2 % uppförmering för att växa, 15,9 % växte mycket sparsamt och endast 13 % växte rikligt och 5,8 % mycket rikligt. De mest frekvent förekommande bakterieisolaten var *Staphylococcus pseudintermedius* (21,8 %), *Streptococcus canis* (17,2 %), *Pseudomonas aeruginosa* (10,3 %), *Pasteurella* sp. (8,0 %) och KNS sp. (8,0 %). Av 80 testade isolat visade 52,5 % resistens mot fusidin. Resistens mot

penicillin och polymyxin sågs för 37,5 % av vardera antibiotikum, medan resistens mot tetracyklin sågs i 17,5 %, kloramfenikol 10,0 % och mot gentamicin i 3,8 % av isolaten. Inget isolat visade resistens mot oxacillin.

Av studiematerialets 93 kasus utgjordes 66,7 % av brakycefala hundraser.

Månaden på året med flest antal påvisade bakterieisolat var augusti, med totalt 17 olika isolat.

Definitioner och förkortningar

ACell disc	ACell Vet disc är transplanterat som innehåller extracellulär matrix från urinblåsa på svin. Främjar cellproliferation och regeneration. Degraderas i takt med att lokal vävnad tar över
Aerosoler	Smittostoff som finns i mikroskopiska droppar; aerosoler. Dessa kan sväva över långa avstånd och ge upphov till luftburen smitta
Agar	Gelaktig substans som utvinns ur rödalger
Amnion	Den innersta av fostermembranen
Anaerob bakterie	Bakterier som kan leva utan tillgång på oxygen. Kan därmed finnas i väv med dårlig tillgång på oxygenrikt blod
Baktericid	Substanser som dödar bakterier
Bakteriostatisk	Substanser som hämmar växten och/eller förmeringen av bakterier

Brakyccefal	Kort skalle. Begrepp som används för att beskriva skallform hos bland annat hundar och katter som är trubbnosade
Choroidea	Åderhinnan
CNS	Centrala nervsystemet. Utgörs av hjärna och ryggmärg
Co-factor	Kemisk förening som är nödvändig för att aktivera ett enzym
Cornea	Hornhinnan
<i>Corpus ciliare</i>	Ciliärkroppen = Strålelegemet
Distichiasis	Ögonfransar som växer ut från meibomska körtlar på våtkantens posteriora rand
Dolicocefal	Långskallig. Används om hundraser med lång skallform och nos så som collies och saluki.
Efflux	System som ser till att pumpa ut icke önskade substanser genom effluxpumpar
Endotoxiner	Bakterietoxiner kan delas in i endo- och exotoxiner. Med endotoxiner avses ofta vara lipopolysackariderna (LPS) i ytermembranet hos gram negativa bakterier. Frigörs när bakterien lyserar
Entropion	Inåtvänt ögonlock, kan göra att ögonfransar skaver mot cornea

Exotoxiner	Toxiner som kan produceras av både gram positiva- och gram negativa bakterier. Syntetiseras och utsöndras aktivt
Fakultativt anaerob bakterie	Bakterier som kan leva i både oxygenfattiga och oxygenrika omgivelser
Fibroblaster	Bindvävsceller med aktiv mitose. Syntetiserar intercellulärsubstansen, matrix, i bindväv
Fluorescein negativ	En speciell typ av infärgning som gör det lättare att upptäcka corneadefekter. Negativ infärgning tyder på att cornea är intakt
Glaukom	Samling av ögonlidelser som skadar <i>Nervus opticus</i> . Vanlig orsak är förökad intraockulärt tryck
Gobletceller	Specialiserad typ av epitelceller som producerar mucin
Gram negativ bakterie	Omges ytterst av ett to-laget membran innehållande lipopolysakkaridar (LPS), i det yttre laget. Tappar färgen efter alkoholbehandling vid gramfärgning och ses istället som rosa/röd vid mikroskopering
Gram positiv bakterie	Har en cellvägg med ett tjockt lager peptidoglykaner som vid gramfärgning blir blåviolett

Hemidesmosomer	Proteinkomplex som förankrar celler i basalmembranet
Hyaluronsyra	Ett mukopolysackarid. Viktig del av bindvävets grundsubstans
Intraockulärt tryck	Trycket i ett öga. Hos hund normalt 15-25 mmHg
<i>In vitro</i>	I glas; utanför organismen och typiskt i laboratoriesättningar
<i>In vivo</i>	I det levande; processer som sker i den levande organismen
Iris	Regnbågshinnan
Keratiniserat	Förhornat
Keratit	Hornhinneinflammation. Ofta på grund av infektion
Keratocyter	Specialiserade fibroblaster i hornhinnans stroma som normalt är i vila men som aktiveras vid skada. Producerar kollagen och proteoglykaner
Keratokonjunktivitis sicca	KCS. Torra ögon på grund av att tårkörtlarna inte producerar nog av den vattenhaltiga delen av tårfilmen
Kollagen	En grupp av proteiner som bildar kollagenfibrer
Konjunktiva	Bindhinna

Konjunktivalsäck	Området mellan palpebrala konjunktiva och bulbara konjunktiva som bildar en övre och en nedre fördjupning. Lakrimalvätskan mynnar ut här
Kommensaler	Bakterier som hör till normalfloran
Komplement	Plasmaproteiner som ingår i komplementsystemet. En del av ospecifika immunförsvaret
Lakrimalkörtel	Tårkörtel; <i>glandula lacrimalis</i> . Exokrin körtel placerad dorsolateralt om ögat. Producerar den vattenholdiga delen av tårvätskan
Limbus	Övergångszonen mellan hornhinnan och sclera
Logopthalmos	Oförmåga att stänga ögonlocken fullständigt
Meibomska körtlar	Flera små körtlar som producerar den oljehaltiga delen av tårvätskan. Placerade längs med ögonlockskanterna
Melanocyter	Pigmentceller. Celler som producerar pigmentet melanin
Mesocefal	Skalle med medium proportioner. Hit hör hundraser så som exempelvis golden retriever och beagle

Metalloproteinaser	MMPs. Kallas också matrixiner. Enzym som degraderar matrix och icke-matrix proteiner. Viktiga i vävnadsremodellering
MIC	Minimum inhibitory concentration. Minsta koncentrationen av ett antibiotikum som behövs för att stoppa synlig växt av bakterie
Miosis	Sammandragning av pupillen
Myelin	Fosfolipider och proteiner som bildar ett skyddande hölje kring vissa typer nervfibrer
Myofibroblaster	Specialiserade fibroblaster med kontraktill aktivitet. Deltar i sårhäkning
<i>Nervus opticus</i>	Synnerven
NSAIDs	Non steroid anti-inflammatory drugs. Antiinflammatoriska substanser som inte innehåller steroider. Blockerar prostaglandinsyntesen
Orbita	Ögonhålan
PCR	Polymerase chain reaction. Molekylärbiologisk metod som amplifierar DNA sekvenser. Kan bland annat brukas till att identifiera virus och bakterier
Pleomorf	Mångformad
Proteinase	En grupp enzym som bryter ner proteiner
Proteinase inhibitor	Verkar kontraproduktivt mot proteinaserna genom att sakta ner eller inaktivera dessa

Proteoglykaner	Stora molekyler som består av en eller flera glykosaminoglykaner som är fästade till ett protein. Har stor förmåga att binda vatten. En av beståndsdelarna i intercellulärsubstansen till bindväv
Retina	Näthinnan
Sclera	Ögonvitan
SIG	<i>Staphylococcus intermedius</i> gruppen. En grupp med bakterier som består av <i>S. intermedius</i> , <i>S. pseudintermedius</i> och <i>S. delphini</i>
Superficiell keratektomi	Ingrepp där corneas epithelium och varierande grad av stroma debrideras. Avlägsnar sjuka och döda celler för att påskynda läkning
Synechier	Sammanväxningar av väv, kan ske mellan iris och lins
Ubikvitär	Som finns överallt
Ulcerativ keratit	Grupp av inflammatoriska lidelser som ger upphov till en förtunning, sår, i cornea
Uvea	Utgörs av iris, ciliärkroppen och choroidea
Uveit	Inflammation i uvea

Inledning

Ögats anatomi

Ögat kan refereras till som ögongloben; det innefattar hela det sfäriskt formade organet som ligger placerad i skallbenets orbita. Ögongloben omges av tre olika lager; med en fibrös hinna ytterst som skyddar inre strukturer och ger fäste för de extraokulära musklerna. Den fibrösa hinnan delas vidare in i cornea och sclera. Sclera är ögats vita senhinna som ser till att ögat håller sin konstanta form, medan cornea är den genomsiktliga hornhinnan som tillåter ljus att äntra ögat. Sclera som ligger posteriort förenas med den anterior belägna cornea i området som kallas limbus (Mescher, 2013).

I mitten av de tre omgivande lagrena finns uvea; som i sin tur består av iris, choroidea och ciliärkroppen. Dessa är rikt vaskulariserade och pigmenterade strukturer (Samuelson, 2013). Iris ligger längst anteriort av uveas delar och täcker delar av linsen så att en pupillöppning bildas. Anteriora iris byggs upp av fibroblaster och melanocyter, djupare finns bindväv med melanocyter medan det i den posteriora ytan finns epitelceller rikligt fyllda med melanin. Melaninet hindrar ljus, bortsett det som går genom pupillen, att ledas genom ögat. Iris kan kontraheras såväl som dilateras med hjälp av *musculus sphincter pupillae* respektive *musculus dilatator pupillae*. Den del av uvea som omringar iris är ciliärkroppen. Större delen av ciliärkroppens stroma är fylld av glatta muskelceller som kan ändra formen på ögats lins vid ackommodation. Från ciliärkroppen utspringer radiärt arrangerade ciliärprocesser. Epitelceller som täcker ciliärprocesserna är viktiga för ögats produktion av kammarvätska. Sista och mest posteriora uveadelen är choroidea eller åderhinnan. Åderhinnan är, som namnet anger, en rikligt vaskulariserad bindväv med ett stort antal melanocyter. Melanocyterna skapar ett svart

lager i åderhinnan som skyddar mot ljusinsläpp på andra platser än genom pupillen (Mescher, 2013).

Tredje och innersta laget i ögongloben utgörs av retina, näthinnan, som sänder information med synsinyer till storhjärnan via *nervus opticus*; synsnerven (Samuelson, 2013).

Histologiskt kan totalt 10 lager med olika celltyper och uppbyggnad urskiljas; 9 stycken neurala och ett pigmenterat lager. Neurala retina fungerar som en förlängning av CNS och här finns speciella fotoreceptorer, tappar och stavar, som är med och genererar elektriska nervimpulser vid ljusexponering (Mescher, 2013).

Innan ljus når retina måste det först passera ögats lins. Linsen är placerad precis bakom iris och dess transparenta och bikonvexa utformning möjliggör för inkommande ljus att fokuseras mot retina. En linskapsel gjord av typ IV kollagen och proteoglycaner omger linsen. Anteriort på linsen, under kapseln finns ett enkelt lager med linsepitel. Dessa epitelceller prolifererar vid linsens ekvator och ger upphov till långsträckta linsfibrer. Linsfibrerna tappar efter hand sina kärnor, packas tätt samman och ger linsen dess karakteristiska genomsiktliga karaktär. Linsen hålls på plats tack vare små ligament som går mellan ciliärkroppen och linskapseln; de så kallade *zonula ciliaris*. När ögat ska fokusera ändras linsens kurvatur, ackommodation, tack vare samarbete mellan *zonula ciliaris* och ciliärmuskeln (Mescher, 2013).

Större delen av ögats volym, upp till 2/3 av globen, utgörs av glaskroppen (*corpus vitreum*). Glaskroppen är en transparent, geléaktig vätska som fyller den posteriora delen av ögat och som till 99 % består av vatten. Resterande materia är collagen och hyaluronsyra. Den gelatinösa vätskan hjälper ögat att upprätthålla sin form och ger stötte åt retina och lins, samtidigt som den tillåter passage av ljus (Samuelson, 2013).

Konjunktiva

Insida av ögonlocken och delar av sclera täcks av en slemhinna; konjunktiva. Detta är en av de mest utsatta slemhinnorna på kroppen och dess primära uppgift är att hindra uttorkning av cornea, möjliggöra ökad mobilitet av ögonlock och ögonglob, samt att verka som en barriär mot mikroorganismer och fremmedlegemer. Posterioert är ögonlocken täckta av den palpebrala delen av konjunktivan som är tunn och rikt vaskulariserad. Palpebrala konjunktiva går i en vinkel, fornix, över till den delen som omnämns bulbara konjunktiva. Bulbara konjunktiva ligger löst förankrad över den anteriora delen av sclera och blir kontinuerlig med limbala och corneala eptihelet. Alla delar av konjunktiva är sammanhängande även om de anatomiskt benämns med separata termer (Samuelson, 2013)

Cornea

Främre delen av ögongloben utgörs av den transparenta hornhinnan; cornea. Cornea är hos hund en närmast cirkulär bindvävshinna som består av fyra lager; epithelium, stroma, Descemet's membran och endothelium (Samuelson, 2013). Corneas centrala tjocklek mättes i en studie med blandad population av friska hundar till 0,613 mm (+/- 9,4 µm). Tjockleken varierar med ras och ålder; där större raser och äldre hundar har något tjockare hornhinnor (Hoehn et al., 2018; Samuelson, 2013). Den convexa hornhinnan skyddar ögats inre strukturer och står för 2/3 av ögats brytningsförmåga (Sridhar, 2018). Hornhinnan saknar blodkar och pigmentering, det yttersta epitelet är inte keratiniserat och kollagenfibrillerna i stroma är precis organiserade; detta möjliggör dess transparens. Dessutom är hornhinna dehydrerad jämfört med många andra vävnader, något som bidrar till att den är klar och kan släppa igenom ljus (Samuelson, 2013).

Tårfilm

Cornea täcks av en tårfilm som har flertalet funktioner så som dess antimikrobiella effekt och bortfraktning av debris. Tårfilmen främjar hornhinnans optiska egenskaper genom att släta ut mikroskopiska ojämnheter och ser till att celler i cornea får tillgång på ernäring (Glenwood & Edward, 2013). Produktionen av tårar är dynamisk och anpassas efter miljöfaktorer.

Tårfilmen kan delas in i tre lager; ett yttre lipidlager, ett vattenhaltigt mellanlager och djupast ett mucin-lager (Dartt & Willcox, 2013). Det yttre lipidlagret innehåller flera olika lipider så som ickepolär kolesterol samt polära fettsyror och fosfolipider som interagerar med det vattenhaltiga lagret. Majoriteten av lipiderna, med några undantag, sekreteras från meibomska körtlar i våtkanten. Lipidlagret motverkar fördunstning av tårfilmen från ögonytan. Vatten - tillsammans med mucinlagret utgör merparten av tårfilmen. Det mesta av vätskan i den vattenholdiga delen sekreteras av tårkörtlarna. Desamma körtlarna utsöndrar även särskilda proteiner och elektrolyter som finns i tårfilmen. Elektrolyter och vatten fås i tillägg från epitelceller i ögats konjunktiva. Den vattenholdiga delen försörjer cornea med oxygen och näring samtidigt som den ser till att frakta bort fremmedlegeme, epiteldebris och toxiner. I konjunktivala epitelcellerna finns specialiserade gobletceller som producerar en god del av mucinerna i det djupaste tårfilmslaget. Några av mucinerna kommer även från corneas epitelceller (Dartt & Willcox, 2013). Mucinlaget hjälper till att stabilisera tårfilmen, lubrikera corneas yta och sänker ytspänningen så att filmen kan spridas över hela hornhinnan när hunden blinkar (Glenwood & Edward, 2013).

I tårfilmen finns både specifika och icke specifika antimikrobiella substanser. Lysozym, alfa-lysine, lactoferrin och komplement hör till de ickespecifika substanserna i tårfilmen. Till de specifika antimikrobiella substanserna hör sekreterade immunoglobuliner A, G och M. Tårfilm hos hundar innehåller i genomsnitt 0,35g/dL proteiner med 93% globulin, 4 % albumin och 3 % lysozym. Lysozym är ett antimikrobiellt enzym som hydrolyserar bakterieväggar och som blir producerat av gobletceller i konjunktiva. Immunoglobulin A

finns i högre koncentration än IgG och IgM i tårfilmen. När IgA omger bakterier och virus leder det till agglutinerings, neutralisering och lysis av mikroorganismerna (Glenwood & Edward, 2013).

Epithelium

Längst anteriort i cornea finns epithelium; ett ukeratiniserat flerlagigt plateepitel som vilar på ett tunt basalmembran. På basalmembranet förankras ett enkelt lager av basalceller med hjälp av hemidesmosomer. Ovan de cylinderformade basacellerna finns to till tre lager av så kallade wing celler och ovan dessa to till tre lager med ukeratiniserat plateepitel. Epitelcellerna är arrangerade så att snabbt cellutbyte är möjligt och de har god förmåga till regeneration. Basacellerna har en turnover tid på cirka 7 dagar men om även basalmembranet skadats kan det ta veckor till månader att läka. Corneas epitel är tjockare perifert än vad det är mer centralt. Där cornea perifert övergår till konjunktiva; i en margin som omnämns som limbus, tunnare det av markant. I limbus-området finns även pigmenterade celler i den annars opigmenterade hornhinnan. Den främsta delen av cornea är rikligt innerverad. Nerverna som intrar epitelet mister sin myelinskida och ligger som nakna nervändar bland wingcellerna. De mer superficiella lagren är primärt innerverade av smärtreceptorer medan de djupare lagren, som stroma, innehåller tryckreceptorer. Därmed är en ytlig corneaskada i regel mer smärtefull än en djupare skada (Samuelson, 2013).

Stroma

Stroma utgör den största delen av cornea; 90 % av dess tjocklek. Stromat är uppbyggt av tätt packade kollagenfibriller i parallella buntar; lameller. Lamellerna är transparent och sträcker sig över hela corneas diameter. Den precisa organiseringen av kollagenfibrillerna tros vara orsaken till att nästan allt ljus, 99 %, kan transporteras genom cornea utan att brytas. Stromas kollagen består av flera olika typer där typ I kollagen är den vanligaste. Mellan lamellerna,

som dannas av kollagenfibriller, ligger specialiserade fibroblaster som kallas för keratocyter (Samuelson, 2013). Keratocyterna producerar komponenter till det extracellulära matrixet som omger lamellerna. Matrixet består av proteoglycaner och glycoproteiner (Funderburgh et al., 2001). Vid skada på stroma kan keratocyterna differentiera till fibroblaster och myofibroblaster som ger upphov till nytt stroma (Funderburgh et al., 2003). När keratocyterna differentieras till fibroblaster behålls vävets transparens men om det istället bildas myofibroblaster ger dem upphov till ett extracellulärt matrix som är lite organiserat och därmed leder till opacitet (Hassell & Birk, 2010).

Som nämnts tidigare är cornea relativt sett dehydrerad med en beståndsdel av vatten på 75–85 %. Detta är möjligt tack vare speciella pumpar i endotelet och epitelet som aktivt transporterar vätska ut från stroma. Ett exempel på sådana pumpar är de ATP-beroende Na^+/K^+ pumparna som fraktar natriumjoner ut till kammarvätskan (aqueos humor). Vid skada på barriären som endotelet utgör och /eller skadade pumpar, uppstår en rask vätskeinströmning till stroma. Sådana förändringar kan leda till omorganisering av kollagenet och kan makroskopiskt ses som en opak hornhinna (Samuelson, 2013).

Descemet's membran

Under stroma ligger Descemet's membran; ett homogent och acellulärt membran som fungerar som basalmembran åt corneas innersta lag, endotelet. Membranet produceras av det innersta endotelet och blir med åldern tjockare (Samuelson, 2013). Som många andra membran fungerar Descemet's membran som en barriär tillsammans med endotelet. Det är med och reglerar transporten av näringsämnen, cytokiner, växtfaktorer och andra molekyler från stroma ut till kammarvätskan, såväl som från kammarvätskan och in till cornea (de Oliveira & Wilson, 2020). Descemet's membran är ett starkt, elastiskt membran som är det enda lager av cornea som kvarstår vid ett så kallat descemetocele. Descemetocele är en djup cornealesion med förstört epitel och stroma och därmed steget innan total perforation av ögat

föreligger (Ledbetter & Gilger, 2013). Regenerationsförmågan på ett skadat Descmet´s membran är dårlig (de Oliveira & Wilson, 2020).

Endotel

Längst posterioriort täcks hundens cornea av ett enkelt lager av avflatade celler. Ju äldre djuret blir desto tunnare blir dessa celler och efter hand blir dem även mer pleomorfa. Äldre hundar har lägre endoteldensitet (celler per mm²) än vad yngre hundar har (Gwin et al., 1982). Kvarvarande endotelceller hos de äldre individerna försöker sprida ut sig och bilda fler pumpar för att kompensera för ett ökat läckage. Minskar celldensiteten ner mot 800-500 celler/mm² klarar inte längre endotelet kompensera och en förtjockning av cornea med opacitet uppstår (Samuelson, 2013).

Huruvida endotelet kan proliferera är omdiskuterat och verkar variera mellan arter och ålder på individerna. Hos kanin har man sett en god förmåga hos endotelcellerna till proliferation medan det hos hund verkar röra sig om att redan befintliga endotelceller förstoras och migrerar för att upprätthålla ett enkelt cellager. Det forskningen är enig om är att endotellagret har sämre regenerationsförmåga vid skada än vad epitellagret har. (Gwin et al., 1983; Joyce et al., 1996; Valdez-Garcia et al., 2015)

Kammarvätskan

Ciliärkroppen producerar och sekreterar en transparent vätska som fyller ögats främre kammare, pupill och bakre kammare. Denna vätska kallas kammarvätskan och har en densitet som är något högre än vatten (Glenwood & Edward, 2013). Huvuduppgifterna för denna vätska är att förse ögats inre strukturer med näring, frakta metaboliter och upprätthålla ett konstant intraockulärt tryck (Pizzirani & Gong, 2015). Ett konstant flöde av kammarvätska säkrar att lins och hornhinna får ernäring och kan göra sig av med restprodukter, trots

avsaknaden av blodkärl i dessa strukturer. Kammarvätskan är som ett filtrat av plasma, men innehåller en betydligt lägre koncentration av proteiner, immunoglobuliner, enzymer och lipider. Vätskan innehåller även karbohydrater, urea och aminosyror. Kammarvätskan bildas genom en kombination av diffusion, filtration och aktiv sekretion från epitelcellerna på ciliärkroppen. Nybildningen må samsvara med utflödet för att det intraockulära trycket ska hållas stabilt (Glenwood & Edward, 2013).

Smältande corneasår

Hos hundar såväl som katter är corneasår bland den vanligaste ögonlidelsen (Ion et al., 2015). Vanliga orsaker till corneasår är trauma mot ögat och infektioner (Bhardwaj Dutt, 2016). Det förekommer också corneasår till följd av exempelvis abnormal tårfilm, entropion, distichiasis eller fremmedlegeme (Ionascu et al., 2020). När patienten har ett corneasår är delar av corneas epitel skadat och underliggande stroma blir därmed exponerat. Beroende på hur långt ner i cornea skadan sträcker sig kan skadan klassificeras som överfladisk eller dyp; ett överfladiskt corneasår afficerar epitellagret medan ett dypt sår också ödelägger stroma. Ett dypt corneasår kan bli så omfattande att det tillslut omfattar hela corneas tjocklek och ger upphov till perforation (Ledbetter & Gilger, 2013).

Normal läkning av ett corneasår innefattar processer med proteinaser och proteinase inhibitorer. De proteolytiska enzymen hjälper till att bryta ner och rensa upp bland skadade celler i cornea och produceras av neutrofiler, corneas epitelceller samt av exogena mikroorganismer så som bakterier. En komplikation till corneasår är att det kan bli övervikt av de nedbrytande proteinaserna jämfört med proteinase inhibitorerna som finns i cornea, något som resulterar i att stroma börjar att "smälta". Denna gelatinisering och henflytning av corneas stroma är typisk för det som diagnosticeras som ett smältande corneasår (Ion et al., 2015). Resultatet blir ett sår som går djupare och som snabbt kan hota ögats synfunktion. En

av de proteinaser som är inblandade i den överdrivna nedbrytningen av cornea är gruppen av metalloproteinaser; MMPs. MMPs har visat sig ha betydande roll i både infektiösa och noninfektiösa tillfällen av smältande corneasår (Guyonnet et al., 2020;Hossain, 2012). MMP-2 och MMP-9 är två av dem som anses extra viktiga; där MMP-2, men inte MMP-9, återfinns i den friska hornhinnan. I en patologisk cornea ses en uppregulering av MMP-2 samt en produktion av MMP-9 (Belknap, 2015;Chow et al., 2015).

MMPs finns i inaktiv form i den normala hornhinnan. De kan aktiveras av bland annat metalljoner och oxidanter under normala fysiologiska förhållanden men också när patologi föreligger. I en frisk cornea har MMPs till uppgift att kontinuerligt degradera samt remodellera stroma och kontrollera nybildningen av epitelcellernas basalmembran. Reparering av cornea omfattar många komplexa och koordinerade steg som i tillägg till MMPs involverar cytokiner och växtfaktorer. Denna degradering balanseras i normala tillfällen av inhibitorer som ser till att nedbrytningen inte går till överdrift och överstiger kapaciteten till nybildning. När denna balans sätts ur spel blir resultatet keratomalacia; ett annat ord för smältande corneasår (Chow et al., 2015).

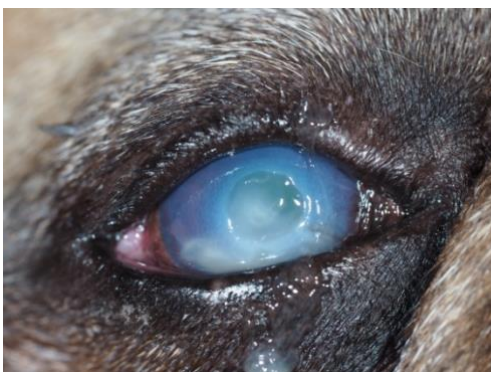


Bild 1. Smältande corneasår karakteriseras av sitt gråaktiga och gelatinösa utseende till följd av ödem, cellulär infiltration och corneadegradering. Avrundade sårkanter och en cornea som "smälter" kan ses.

Foto ©: Tobias Revold, PhD, Aut ögonlysare, Dipl ECVO.

Behandling av corneasår

Medicinsk

Generell behandling vid ett corneasår går ut på att om möjligt avlägsna eller lindra den bakomliggande orsaken, främja smärtlindring samt motverka bakteriell infektion som riskerar att förvärra situationen ytterligare. Ett ytligt corneasår, utan persisterande underliggande orsaker, klarar att läka i loppet av 2-6 dagar (Belknap, 2015).

På ytliga corneasår med inflammation i hornhinnan är terapianbefallningen lokalbehandling med fusidinsyra två gånger om dagen tills såret är läkt och därmed fluorescein negativt. I tillägg administreras behandling mot uveit.

Är såret djupare rekommenderas kloramfenikol lokalt med applicering sex gånger dagligen (Statens legemiddelverk, 2014). Kloramfenikol verkar bakteriostatiskt, anses ha god corneapenetration och är effektiv mot både gram negativa och gram positiva bakterier (Aukunuru et al., 2008).

När ögonskadan istället är allvarligare och hunden lider av smältande corneasår bör kloramfenikol kombineras med antibiotikum som täcker fler bakteriespecies. Därför är förstahandsvalet gentamicin ögondroppar och tobramycin ögondroppar som andrahandsval, fram tills dess att resistenssvar föreligger. Detta valet av antibiotikum begrundas av att olika varianter av *Pseudomonas* spp. kan vara inblandad i keratomalacia och att dessa som regel är resistenta mot kloramfenikol. Gentamicin appliceras i ögat sex gånger per dag medan tobramycin initieellt ges fyra gånger första behandlingsdagen och därefter två gånger varje dag (Statens legemiddelverk, 2014). Gentamicin är ett bredspektra antibiotikum med baktericid effekt. Preparatet har begränsad transcorneal penetrationsförmåga men denna kan öka något vid närvaro av inflammation (Clode, 2013).

När superficiella receptorer i cornea stimuleras vid en skada aktiveras en neurogen reflex som ger upphov till obehag, miosis och reflektorisk uveit. Därför appliceras också mydriatiska medel, så som atropin, regelbundet med avsikt att lindra spasm i ciliärmuskeln, minska risken

för att det bildas bakre synechier och för att stabilisera blod-kammarvätska barriären i tillfällen där sekundär uveit föreligger. Frigörelse av inflammatoriska mediatorer leder till en samtidig inflammation i cornea. För att undvika synechier och glaukom är det viktigt att begränsa inflammationen genom att till exempel ge patienten NSAIDs. NSAIDs kan också minimera bildningen av vaskularisering, fibros och pigmentering i cornea. Administrering av anti-inflammatoriska preparat kan ske topiskt eller systemiskt, med förbehåll om att det har beskrivits fall av smältande cornea efter topiskt bruk på humansidan. Topiska cortikosteroider är kontraindicerade vid ulcerativ keratit då dem hindrar corneas egna försvarsmekanismer och läkning (Belknap, 2015). Det har också rapporterats om fall där corticosteroider sett ut att kunna orsakat smältning vid corneasår (Fung et al., 2020).

Ett öga som drabbats av keratomalacia kräver intensiv och snabbt insättande behandling. Den medicinska behandlingen syftar till att eliminera infektion och minska den proteolytiska aktiviteten mot cornea (Ledbetter & Gilger, 2013). MMPs som blivit aktiverade är beroende av zink som co-factor och calciumjoner för att behålla sin struktur (Chow et al., 2015). Detta är något som utnyttjas vid val av topikal behandling. EDTA (ethylendiamintetraacetat) begränsar tillgången på metaller som MMPs behöver för att vara aktiva, därmed verkar det som en effektiv proteinase inhibitor (Couture et al., 2006). Det är vanligt att serum eller EDTA-plasma används i behandlingen mot proteolytiska enzym. Dessa har utöver sina proteinase inhibitoriska effekter också antibakteriella egenskaper. EDTA-plasma och serumet kan tas från patienten själv eller från en donor och kan sedan förvaras i fryset i månader. Serumet eller EDTA-plasman droppas i afficerat öga fyra till tolv gånger dagligen. Eftersom en hund med smältande corneasår får mer än en typ av topikal behandling är det viktigt att applicering av varje preparat sker med cirka fem minuters mellanrum för bästa effekt (Statens legemiddelverk, 2014).

Kirurgisk

När den medicinska behandlingen inte klarar stoppa den nedbrytande processen av cornea kan det bli aktuellt att ty till kirurgiska procedurer i hopp om att förhindra en perforation av hornhinnan. Det är beskrivet flertalet olika kirurgiska metoder för att rädda ögat (Ion et al., 2015).

Conjunktival graft: En av de vanligaste kirurgiska metoderna vid allvarligare former av corneasår är conjunktival flap/graft. Vid conjunktival flap läggs en tunn del av patientens egna konjunktiva över lesionen på cornea. Vanligen tas vävet från närliggande bulbar konjunktiva. Det förekommer olika typer av denna metod där det varierar hur stor del av cornea som täcks av conjunktivalväv; från den typen som benämns 360 graders conjunktival flap där hela cornea tilltäcks av konjunktiva till pedicle conjunctival graft där en remsa med konjunktiva sutureras fast över lesionen. Tanken bakom conjunktival graft är att ge stötte åt den skadade cornea och förse skadan med värdefull blodförsyning. Genom att applicera fibrovaskulärt väv på lesionen förses området bland annat med blodassocierade immunkomponenter och antiproteinaser som främjar helningen. Vanligaste komplikationer som kan uppstå vid denna typ av ingrepp är att graften lossnar. Detta kan ske till följd av för stor tension eller att lesionen fortsätter att förvärras och skadar cornea även där suturerna fäster (Ledbetter & Gilger, 2013).

Corneconjunctival transposition: En annan metod går ut på att täcka defekten med en strimla av cornea där sclera eller konjunktiva blir med som förlängning. Denna transposition kan va ett alternativ vid defekter som är centralt placerade på cornea men där perifera delarna av hornhinnan fortsatt är intakt. En nackdel med denna varianten är att friska delar av cornea skadas och kan leda till större ärrbildning (Ledbetter & Gilger, 2013). I en retrospektiv studie med 100 hundar som genomgick corneokonjunktival transposition konkluderades det med att denna metod är en effektiv kirurgisk behandling vid djupa stromala corneadefekter. Det är

önskligt att graften utvecklas till att bli så transparent som möjligt och att hunden på så vis får behålla mesta möjliga synförmåga (Gogova et al., 2020).

Amnion graft: I litteraturen finns beskrivet metoder där amnionmembran har använts som behandling vid ytliga men även allvarliga skador på cornea. Amnionmembran tas då från individ av samma art och prepareras med speciella metoder innan det sutureras fast på patienten (Barros et al., 2005; Ledbetter & Gilger, 2013). Det har också gjorts försök på att bruka amnionmembran mellan olika arter; där amnion från häst har använts på skadad cornea hos hund (Kim et al., 2013). Amnionmembran har fördelaktiga egenskaper som främjar läkning vid corneaskada; så som dess antinflammatoriska och proteinase hämmande effekter. Det fungerar också som ett substrat för epiteliseringen under corneas läkningsprocess (Barros et al., 2005).

Corneal collagen cross-linking (CXL): CXL är en metod som är indikerad vid vissa typer av humana ögonlidelser, däribland icke infektiös och infektiös smältande corneasår. Under behandlingen appliceras riboflavin (vitamin B2) på det skadade ögat som senare blir bestrålat med ultraviolett ljus. Behandlingen leder till ökad biomekanisk stabilitet genom påverkan inom och mellan kollagenfibrerna i cornea. Samtidigt skadas mikroorganismer i området (Pot et al., 2014). Inom veterinärmedicin är denna metod främst aktuell vid just smältande corneasår (Blacklock, 2018). På Sveriges lantbruksuniversitet, SLU, har två studier om CXL på häst med ögonlidelser så som ulcerativ keratit blivit genomförda med lovande resultat (Hellander-Edman et al., 2013; Hellander Edman et al., 2019)

Enukleation: Det mest radikala ingreppet när medicinsk behandling inte har avhjälpt ögonsjukdomen är att kirurgiskt avlägsna ögongloben; enukleation. Enukleation kan vara indikerat vid smärtsamma ögonlidelser där synen inte längre går att bärga. Olika tekniker finns beskrivna där subkonjunktival approach är vanligast. Målet är att avlägsna globen, konjunktivalsäcken, blinkhinnan och våtkanten. Samtidigt bör mest möjligt av mjukdelarna

bli kvar för att slippa en uttalad grop i huden över orbita. Vanligaste eventuella komplikationen efter enukleation är postoperativ blödning få timmar efter ingreppet. Postoperativ infektion i området är ovanligt (Ledbetter & Gilger, 2013).

Bakterier och oftalmologi

Den normala ögonfloran

Det friska ögat innehåller en rik variation av kommensala bakterier och sopp. Dessa kan variera inte bara mellan arter men också mellan ålder, geografisk placering, klimat och säsong på året. Kommensalerna tros spela en viktig roll för att förhindra invasion av patogener.

I konjunktivalsäcken har bakterier dyrkats från 39–87 % av normala hundar. Över 75 % av dessa positiva dyrkningar var från grampositiva bakterier. Några av de vanliga gram-positiva isolaten som setts är *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp. och *Bacillus* spp. Hos de gram-negativa isolaten är vanligt förekommande bakterier *Acinetobacter* spp., *Neisseria* spp., *Moraxella* spp., *Pseudomonas* spp., och *Escherichia coli* (Gould & Papasouliotis, 2013). I en lokal studie som blev utförd i Oslo-området bland 100 stycken friska hundar var 52 % av dyrkningarna från konjunktiva positiva. De vanligaste bakterierna som dyrkades fram från de friska ögonen var *Staphylococcus epidermis* och *Staphylococcus pseudintermedius* (Sandanger et al., 2016).

Ibland kan speciella mikroorganismer som hör till normalfloran bli patogena om rätt förhållande bjuds; opportunisterna. På ögat är några av dessa opportunistiska bakterier *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* spp. och *Enterobacter* spp. (Gould & Papasouliotis, 2013).

Bakterier vid smältande corneasår

En intakt och frisk cornea är generellt motståndskraftig mot bakteriella infektioner. Men om dess fysiska barriär skadas till följd av trauma eller om de fysiologiska försvarsmekanismer alterneras kan bakterier få fäste (Ledbetter & Gilger, 2013). Patofysiologin bakom en bakteriell keratit inleds med att bakterier adhererar till skadad cornea. Därefter invaderar patogenerna corneaepitelet och underliggande stroma samtidigt som dem förökar sig. Bakterierna kan så utsöndra exotoxiner eller orsaka skada genom endotoxiner. Leukocyter och inflammatoriska mediatorer strömmar till området och progression kan orsakas av bakteriella toxiner och proteaser samt ett överdrivet immunförsvar. Såren kan som en konsekvens av detta bli djupare och stroma kan gå tapt, i allvarligare fall utvecklas ett smältande corneasår (Ledbetter & Gilger, 2013).

Bakteriell keratit är den vanligaste formen av corneainfektion hos hund. De agens som ses mest frekvent hos hundar med bakteriell ulcerativ keratit är *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. och *Pseudomonas aeruginosa*. Flertalet andra gram positiva och gram negativa bakterier isoleras från tid till annan vid corneasår. Några av dessa tillhör exempelvis bakteriesläktena *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Corynebacterium*, *Proteus* och *Pasteurella* (Ledbetter & Gilger, 2013). Inte alla ulcer är inficerade men med en skadad barriär finns ökad risk för att kommensaler ska få en oönskad tillväxt eller att andra mikroorganismer lättare ska invadera cornea (Halse, 2019).

För att diagnosticera en bakteriell infektion vid corneasår tas en svaber från cornea till mikrobiologisk kultur för vidare analys på laboratorium. Svaberprovtagningen bör genomföras innan eventuella topikala lösningar påföres ögat för att minska risken för kontaminering (Ledbetter & Gilger, 2013). Användningen av topikal anestesi innan uttag av svaberprov har varit omdiskuterat eftersom det har misstänkts verka inhiberande mot bakterietillväxt och därmed kunnat påverka dyrkningssvaret (Pelosini et al., 2009). En nyare

artikel som omhandlade topiskt bruk av proparacaine och dess inverkan på dyrkningsresultat konkluderade med att det inte fanns någon signifikant skillnad mellan individerna som fick proparacaine och kontrollgruppen (Edwards et al., 2019).

I en studie utförd i Texas, USA, där 8 hundar med smältande corneasår ingick, hade 3 av dessa 8 positiva dyrkningstest. Från samtliga 3 isolerades bakterien *P. aeruginosa* (Famose, 2014). En annan studie som utfördes i Frankrike hade tagit svaberprov från 33 smältande corneasår på hundar och av dessa kom 17 tillbaka som positiva. I dessa identifierades totalt 27 olika bakterieisolat, där 8 stycken var av blandningsflora. De vanligaste isolaten var β -hemolytisk *Streptococcus* spp. och *Staphylococcus* spp. med förekomst i 11 respektive 10 av de 27 isolaten. I tillägg var det en positiv växt för var och en av bakterierna *Actinobacter baumannii*, *Corynebacterium* sp., *Enterococcus* sp., *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* samt *P. aeruginosa* (Guyonnet et al., 2020).

Identifiering av bakterieisolat

Efter att svaberprov uppförmerats på kultur/medium har det historiskt sett varit vanligt att identifiera bakterier utifrån deras morfologiska och fenotypiska särdrag som de olika genus- och species kolonierna uppvisar. Vidare kan paneler av biokemiska test användas för att upptäcka exempelvis försurning och pH-ändringar, enzymer involverade i aminosyrametabolism eller hydrolase enzymer (Váradi et al., 2017).

Idag finns också mer högteknologiska analysmetoder tillgängliga. PCR-baserade metoder används för att amplificera kända, specifika, sekvenser av genmaterialet för vidare identifiering. Vanligaste del av DNA som blir brukt till detta är 16S rRNA-genen eftersom det är en kritisk komponent i cellfunktion och en mutation i denna genen tolereras dåligt. Därmed är detta en gen som konserveras gott och i tillägg innehåller 16S rRNA gensekvensen

hypervariabla regioner som ger artspecifika signum och är på så vis användbara i artbestämningen av bakterier (Clarridge, 2004).

MALDI-TOF MS (matrix assisted desorption/ionization- time of flight mass spectrometry) är numera förstahandvalet bland metoder för identifiering av patogena bakterier. Provmaterialet behandlas då med laser så att det dunstar och joniseras. Jonerna separeras utifrån tiden de tar på sig att nå en detektor och ger på så vis bakterien sitt säregna "fingeravtryck". Denna infon, PMF- peptide mass fingerprint, kan så jämföras med information från en databas och ger bakterien dess genera och species. Nackdelen är att det är en kostbar metod sammanliknat med de förstnämnda metoderna (Váradi et al., 2017).

Vilka bakteriestammar som återfinns i det friska hundögat kan variera mellan olika studier, bland annat beroende på vilka analysmetoder som använts. PCR visar en mycket bredare mikrobiom än vad som fås fram vid kulturbaserade metoder eftersom inte alla bakterier låter sig dyrkas (Rogers et al., 2020).

Staphylococcus pseudintermedius

Stafylokokker är grampositiva, fakultativt anaeroba kocker som finns naturligt på hud och slemhinnor hos däggdjur och fåglar. Alla stafylokokker isolerade från hud kan potentiellt bli patogena. Invasion av värdceller ses främst om cellerna skadats eller påverkats av trauma eller annan lidelse som försvagar immunförsvarets naturliga motståndskraft (Gould & Papsouliotis, 2013). *S. pseudintermedius* är en del av det som kallas *Staphylococcus intermedius*-gruppen; SIG. SIG utgörs förutom *S. pseudointermedius* av *S. intermedius* samt *S. delphini*. Även om dessa kan vara del av normalfloran är dem frekvent associerade med otitis externa och pyodermier hos hund (Kang et al., 2014).

I dagsläget finns lite information om *S. pseudointermedius* förekomst i hundögats mikroflora men SIG är känd att orsaka bland annat keratit (Kang et al., 2014).

Streptococcus canis

Streptokocker är gram positiva, aeroba eller fakultativt anaeroba bakterier. Kockerna existerar som kommensaler i hud och på slemhinnor. Streptokocker kan delas in i olika grupper, bland annat efter deras reaktion på röda blodceller i medium. De som orsakar fullständig hemolys av erythrocyterna kallas för β -hemolytiska streptokocker. Generellt anses de β -hemolytiska som de mest patogena stammarna. Näst efter stafylokocker är streptokocker, och då dominerat av de β -hemolytiska stammarna, de vanligaste isolerade patogenerna vid extraokulära lidelser hos djur (Gould & Papasouliotis, 2013). En bakterieart som hör till de β -hemolytiska streptokockerna är *Streptococcus canis*. *S. canis* har isolerats från flera olika arter; däribland hund, katt och människor. Hos hundar och katter är *S. canis* en viktig opportunistisk patogen som kan inficera många olika väv; CNS, respirationstraktus, genitaltraktus, hud och ben för att nämna några (Richards et al., 2012). Hos hundar och katter är *S. canis* den streptokock-art som isoleras mest frekvent (Sykes, 2017).

S. canis har flertalet virulensfaktorer som gör den i stånd till att invadera, kolonisera och undkomma försvarsmekanismer (Richards et al., 2012).

Pasteurella spp.

Bakterier i *Pasteurella*-släktet är fakultativt anaeroba, gram negativa. De är stavar eller coccobaciller. Majoriteten av *Pasteurella*-arterna är kommensaler på djurs övre respirations slemhinnor. Infektioner med *Pasteurella* spp. kan vara endogena genom att värdjuret blivit immunosupprimerat och att bakterierna då kan invadera väv som opportunist. Exogen infektion är också möjligt genom direktkontakt och aerosoler. Vid klinisk sjukdom hos tamdjur ses framför allt arterna *P. multocida*, *P. trehalosi* och *Mannheimia hemolytica* (Quinn et al., 2002).

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa är en ubikvitär, gramnegativ stavbakterie som finns i jord, vatten och vegetabiliska nedbrytningsprocesser. De kan också återfinnas på hud, slemhinnor och i tarm hos friska djur (Gould & Papasouliotis, 2013). Bakterien fungerar som en opportunist och innehar virulensmekanismer som gör den extra god på att invadera väv och orsaka vävdestruktion samtidigt som den kan undkomma immunsystemet. Vissa stammar av bakterien som isolerats hos hundar med ulcerativ keratit har haft förmågan att invadera, etablera och föröka sig inne i corneas epitelceller. Andra stammar av *P. aeruginosa* kan döda corneas epitelceller genom toxinmedierade reaktioner (Gould & Papasouliotis, 2013; Ledbetter & Gilger, 2013). Bakterien har associerats med allvarliga och progressiva keratiter men kan även ge andra okulära och periokulära lidelser. I studier har två fenotyper av *P. aeruginosa* identifierats där en kännetecknas av att vara invasiv och den andra karakteriseras av att vara cytotoxisk. Några av dess virulensmekanismer utgörs av fimbrier och exozyme S som gör bakterien i stånd till att fästa till corneaepitelet. Bakterien producerar så bland annat kollagenaser, proteaser, hemolysin, fosfolipase C och en rad toxiner för att främja sin kolonisering och spridning. En av toxinerna, exotoxin A, är en cytotoxin som inducerar vävsnekros och gör det möjligt för *P. aeruginosa* att persistera och ta sig djupare in i de inficerade vävet (Gould & Papasouliotis, 2013).

Antibiotikaresistens

Antimikrobiella substanser

Antibiotika är kemiska substanser som naturligt produceras av mikroorganismer. Dessa substanser kan hindra växt av andra mikroorganismer alternativt döda dem (Munita & Arias, 2016). Syntetiskt framställda substanser med motsvarande effekt anges som kemoterapeutika

men blir i litteraturen ofta omnämnt synonymt med antibiotika eller antimikrobiella medel. Terapeutisk antibiotika är selektivt toxiskt och är därmed skadligt för den invaderande mikroorganismen men inte för däggdjurets celler (Lowbury et al., 1998). Det finns smalspektra såväl som breda spektra varianter. Smalspektra antibiotika är verksamma mot ett få antal typer av bakterier; så som endast gram positiva. De breda spektra varianterna har effekt mot flera typer och kan därmed potentiellt bekämpa både de gram negativa och gram positiva bakterierna (Singh et al., 2017). Antimikrobiella preparat kan klassificeras efter de mekanismer som ligger till grund för deras antimikrobiella effekt. Huvudgrupperna är inhibering av cellväggsyntes, depolarisering av cellmembran, inhibering av proteinsyntes, inhibering av nukleinsyrasyntesen samt inhibering av metaboliska steg i bakterien (Reygaert, 2018).

Det rekommenderas dyrkning med artbestämning av bakterie och resistenstest vid ögoninfektioner för att få bäst möjlig riktad antibiotikabehandling mot infektionen. Detta är inte bara viktigt för en effektiv behandling men också ett led i arbetet mot antibiotikaresistensen som är ett växande problem även inom oftalmologin (Clode, 2013; Gould & Papasouliotis, 2013).

Vad är antibiotikaresistens?

Antibiotikaresistenta bakterier har alltid existerat; bakterier är adaptiva och kan ändras för att undkomma sådant som dödar eller försvagar ursprungspopulationen. Kliniskt innebär detta att den antimikrobiella behandling som tidigare fungerat inte längre får önskad effekt (Munita & Arias, 2016). Ett överdrivet förbruk av antimikrobiella medel humant såväl som bland djur har bidragit till att resistensproblematiken ökat globalt. Rutinmässig ordination av breda spektra antibiotika hör också till en av de bidragande faktorerna i resistensutvecklingen (Reygaert, 2018).

Antibiotikaresistens definieras som bakteriers genetiska förmåga att koda för resistensgener som gör att dem kan undkomma de antimikrobiella substansernas inhiberande effekter (Blair et al., 2015). Resistens mot antibiotika kan existera naturligt, som en del av en bakteriens egenart och benämns då som *intrinsic*. Resistens kan också ervervas; vid ervervad resistens sker en naturlig rekombination och integrering i bakteriens genom; det kan gälla en enkel punktmutation eller en större ändring i genmaterialet. Detta kan ske genom horisontella genmutationer som kallas transformation, transduktion och konjugation. Bakterien kan på så vis få ett främmande DNA som kodar för resistensmekanismer (Martínez, 2008; Munita & Arias, 2016). Antimikrobiell resistens kan vidare delas in i fyra kategorier utefter deras olika mekanismer: minimera upptag av substansen, modifiera substansens målsäte, aktivera efflux av substansen samt inaktivera substansen. Vid *intrinsic* resistens kan det ses minskat upptag, inaktivering samt utpumpning av substansen. Har den antimikrobiella resistensen istället ervervats kan följden bli att antibiotikan inaktiveras, att målet för preparatet ändras eller att det sker en uppregulering av effluxen. Gram negativa och gram positiva bakterier kan använda dessa mekanismer i olik grad. De gram negativa bakterierna kan ta nytta av samtliga ovan nämnda metoder för resistensutveckling medan de gram positiva inte har samma kapacitet till efflux av substanser. Eftersom gram positiva bakterier saknar det yttersta LPS-innehållande membranet är det också svårare för dessa att minimera upptaget av antibiotika. (Reygaert, 2018).

Test av resistensprofil

Resistens och sensitivitet hos bakterier kan mätas med hjälp av olika metoder. En av dessa bygger på diffusion och är en vanligt tillämpad metod inom resistenstestning. Isolerad bakteriekoloni slammas upp i växtmedium och den standardiserade lösningen sås ut på ett medium med agaroverflate. På denna skål placeras så tabletter med olika antibiotikatyper av

en bestämd koncentration. Antibiotikan kan då diffundera ut i agaren i en rund zon som omger tablettens. Hur tät bakterieväxten kommer tablettens beror på hur resistent den bakterien är mot det aktuella antibiotikumet. Efter att skålen inkuberats i 35 grader kan diametern på denna inhiberande zon mätas. Tre förutbestämda diameterintervall gör att bakterien kan klassificeras som resistent, intermediär resistent eller sensitiv. Att bestämma resistensen hos en bakterie tar generellt 16-24 timmar (Khan et al., 2019).

Ett annat standardiserat resistenstest utnyttjar förtunning för att finna fram lägsta koncentration av antibiotikumet som hämmar bakterieväxt (minimum inhibitory concentration; MIC). Antibiotikan förtunnas i flytande buljong till olika koncentrationer och överförs till mikrotiterplater. Typiskt är det 96 brunnar där varje brunn rymmer 0,1 ml med förtunning. Efter inkubering över natten analyseras växt och MIC med hjälp av speciella optiska instrument (Khan et al., 2019).

Syfte

Det överordnade målet med denna studien var att inhämta information och kunskap om diagnosen smältande corneasår hos hund och vilka bakterier som kunde vara inblandade i denna diagnosen. Vid studiens start fanns, enligt författarnas vetskap, ingen liknande studie utförd bland norska hundar. Det var därmed av intresse att kartlägga den lokala sammansättningen av bakterier och dess utbredning av resistens hos hundar som drabbats av den allvarliga ögonlidelsen. Problemställningar som sattes upp var följande:

*Vilka bakterier förekommer hos hundar med diagnosen smältande corneasår, diagnosticerade på Veterinärhögskolan NMBUs smådyrsklinikk?

*Hur vanligt är resistens bland bakterierna påvisade i samband med diagnosen smältande corneasår hos hund?

*Är brakycefala hundraser extra utsatta för att drabbas av smältande corneasår?

*Spelar årstid in på bakterieförekomsten?

Material och metod

Urval av studiepopulation

Studien blev utförd som en retrospektiv, deskriptiv, studie med analyser baserade på data hämtat från Veterinärhögskolan NMBUs smådyrsklinikk tidigare journalsystem: ProfVet Clinic. Urvalet för denna studien var löst definierat i dokumentbeskrivelsen som hundar med smältande corneasår. Studiematerialet blev så snävat in till att innefatta hundar med smältande corneasår som har besökt Veterinärhögskolan NMBUs smådyrsklinikk under åren 2012 till slutet av 2020 och som i tillägg har fått ett svar från bakteriologiska avdelningen inkluderat i sin journal. Detta var ett minimum för att kunna undersöka bakteriologiska svar och resistensmönster i samband med diagnosen och för att kunna kartlägga eventuella associationer mellan variabler i datamaterialet. Inklusionskriterierna som fastsattes var därmed att hundarna skulle vara registrerade med diagnosen smältande corneasår och dyrkningssvar från svaberprov skulle finnas registrerat i journalsystemet.

Exklusionskriterierna blev följaktligen hundar med smältande corneasår som saknade bakteriologiskt dyrkningssvar. Någon av hundarna hade fått diagnosen smältande corneasår på smådjurskliniken mer än en gång. Så länge ögat hade blivit friskförklarad mellan episoderna fick samma individ ingå mer än en gång och blev då klassad som ett nytt kasus.

Insamling av data

Datamaterialet för studiens analyser blev insamlade från journalsystemet ProfVet Clinic. Journalsystemet hade en sökfunktion där det gick att söka fram journaler med hjälp av journalnummer, användare, kunden eller djurets namn, anamnes, diagnos, behandling, medicin, recept, datum för registrering eller upprättning av journal, djurets status, journalstatus samt djurart och ras. Alla dessa fält och kategorier kunde användas för att filtrera fram önskad information. Bortsett från kategorierna anamnes, namn och journalnummer hade resterande fält rullgardinsmenyer som det var möjligt att selektera från. Det var även möjligt att söka med fritext i samtliga kategorier.

För att isolera den önskade populationen valdes sökorden "hund" i fältet för art och "kornealsår, smeltende" i diagnosfältet. Denna sökning gav 218 journaler. Det var vidare nödvändigt att fortlöpande gå in i varje enskild journal för att bekräfta att PDF-fil med svar från bakteriologisk dyrkning fanns bifogad. När detta var avklarat kunde kasusen ingå som studiematerial.

Från journalerna som uppfyllde inklusionskriterierna blev det registrerat datum för besök, hundens ras, ålder, diagnoskoder (inkluderat andra tilläggsdiagnoser förbundet med ögonen), val av behandling, vilka bakterier som hade påvisats eller om svaberprov var negativt samt eventuell resistensprofil till den eller de påvisade bakterierna. Varje kasus fick ett nummer; 1-93, i den ordningen de blev införda i excel-arket. Detta blev utfört för att anonymisera samtliga kasus.

För några av studiens analyser var det av intresse att registrera tidpunkten för slutet av sjukdomsförloppet. Enda sättet att finna ut denna information var genom att klicka in på hundens sjukdomshistoria och läsa fram till sista veterinärbesök förbundet med det smältande corneasåret.

Hantering av data och statistiska analyser

Relevant data från journalsystemet lades in i ett ark i Excel. För vidare behandling av den insamlade datan sorterades de in utefter ras, kön, ålder och påvisade bakterier. Från dessa data kunde så diagram och tabeller arbetas fram. Varje bakterieisolat fick ett eget ark där kasus med desamma isolaten kunde samlas. På så vis kunde antal dagar från första besök till avslutad behandling sammanställas. Vidare blev separata ark upprättade för resistensprofil, renkultur eller blandningskultur, grad av växt hos bakterierna samt vilka kalendermånader bakterierna påvisades.

Samtliga bearbetningar av materialet genomfördes i programvaran Microsoft Excel. För analyser som rörde standardavvik användes funktionen STDAV.P från formelverktygen.

Resultat

I studien ingick totalt 93 stycken kasus som diagnosticerats med smältande cornealsår på Smådyrsykehuset NMBU. En av deltagarna avlivades vid första besöket på grund av komplext hälsotillstånd. Det blev tagit svaberprov med efterföljande bakteriologi av denna och därmed kunde den delta i studieunderlaget till en del av analyserna. I tillägg blev en hund avlivad 20 dagar ut i behandlingsförloppet. Av de 93 kasusen härrörde sex kasus från tre hundar som vardera hade två skiljda episoder med smältande cornealsår.

Signalement studiedeltagare

Rasfördelning bland de hundar som ingick i studien

Totalt förekom 33 olika raser, samt en grupp med blandningsraser, enligt diagram 1. I studiematerialet var den vanligaste rasen mops med 14 stycken individer (15,1 %). Näst vanligast var hundar av rasen chihuahua, som det fanns elva stycken av (11,8 %). Tredje vanligaste rasen i materialet var rasen fransk bulldog med nio individer (9,7 %). Av raserna

cavalier king charles spaniel samt shih tzu ingick åtta (8,6 %) stycken hundar av vardera ras. Fem individer (5,2 %) var registrerade som blandningsras. Vilka raser som ingick i dessa blandningar framgick inte av journalerna. Staffordshire bullterrier, japanese chin samt boston terrier representerades av vardera tre individer (3,3 %). För raserna bullmastiff, jack russel terrier, pomeranian, west highland white terrier och yorkshire terrier fanns två individer (2,2 %) av respektive ras. Resterande raser utgjordes av en enkelt individ som ses i nedanstående diagram.

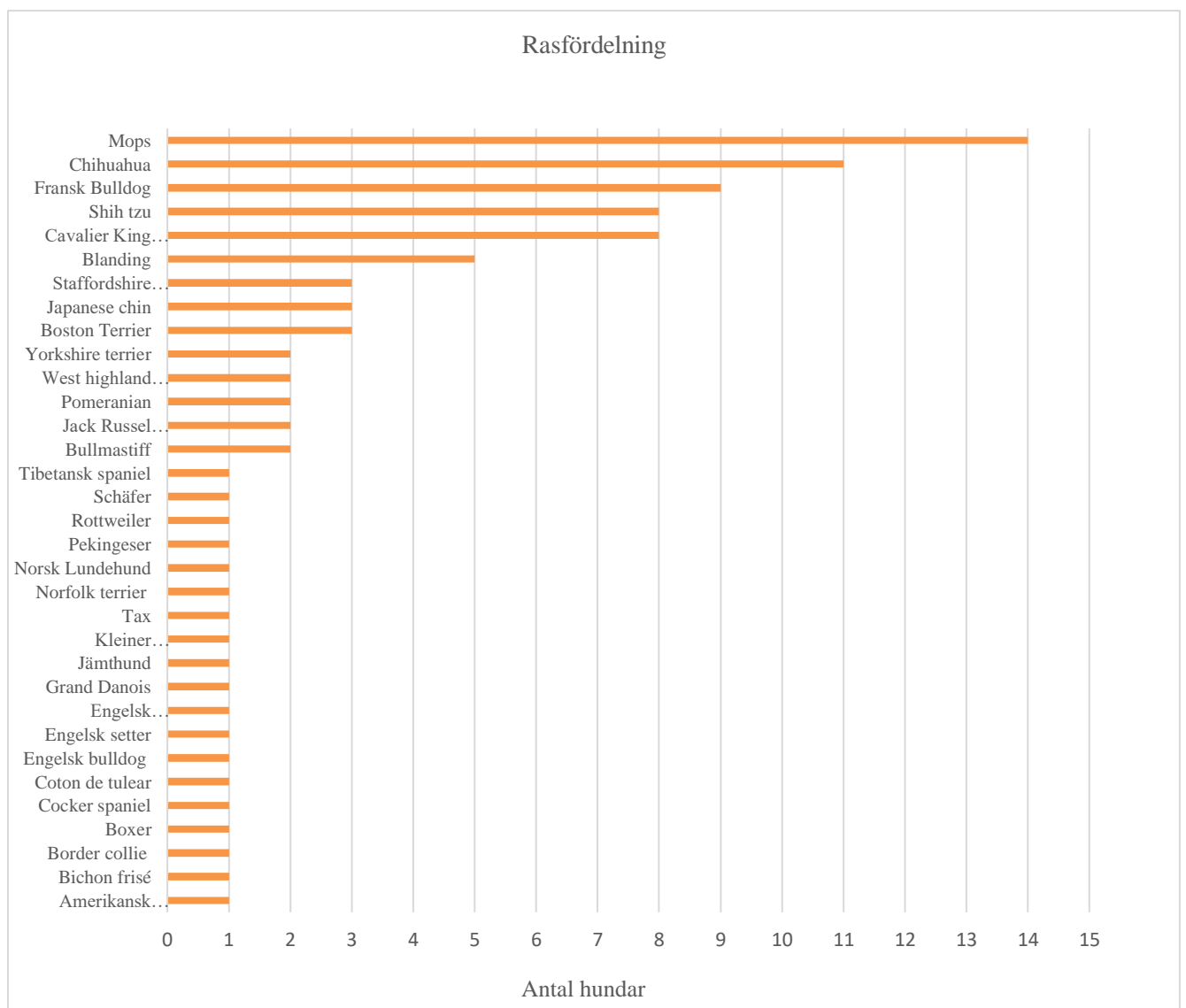


Diagram 1. Diagram över rasfördelningen bland hundarna i studien, med de fyra vanligaste förekommande raserna mops (n=14), chihuahua (n=11), fransk bulldog (n=9) och shih tzu (n=8). Totalt representerades individer från 33 olika raser, och en grupp med blandningsras.

Könsfördelning

I studiematerialet var 54 individer hanhundar medan 41 stycken var tikar. För en av hundarna, en amerikansk toy foxterrier, saknades information i journalsystemet om kön. Denna benämndes därmed med okänt kön. Fyra tikar och en hanhund var angivna som kastrerade i journalerna.

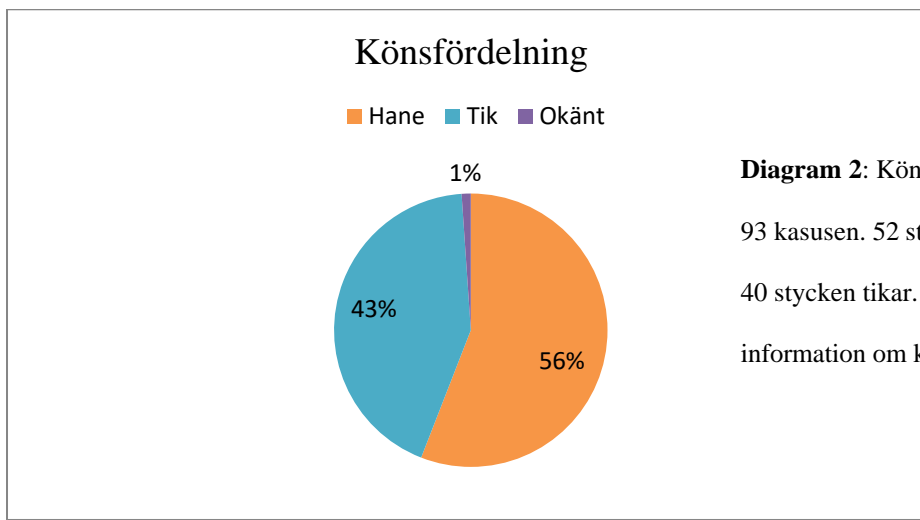


Diagram 2: Könsfördelningen bland de 93 kasusen. 52 stycken hanhundar samt 40 stycken tikar. För en hund saknades information om kön.

Åldersfördelning

I ProfVet uppgavs åldern på patienterna i hela årtal. Tre av studiedeltagarna var under ett år när de sökte veterinär på NMBU för ögonproblematik. På en individ saknades uppgifter om ålder. Medianåldern för resterande 92 hundar var 8 år på den tidpunkten de fick diagnosen smältande corneasår, och fördelningen visas i diagram 3. Åldersgruppen med flest kasus var gruppen på 10 år. Yngsta valpen var 3 veckor gammal, enligt information som framkom i anamnesen. Den äldsta hunden i studien var 15 år gammal.

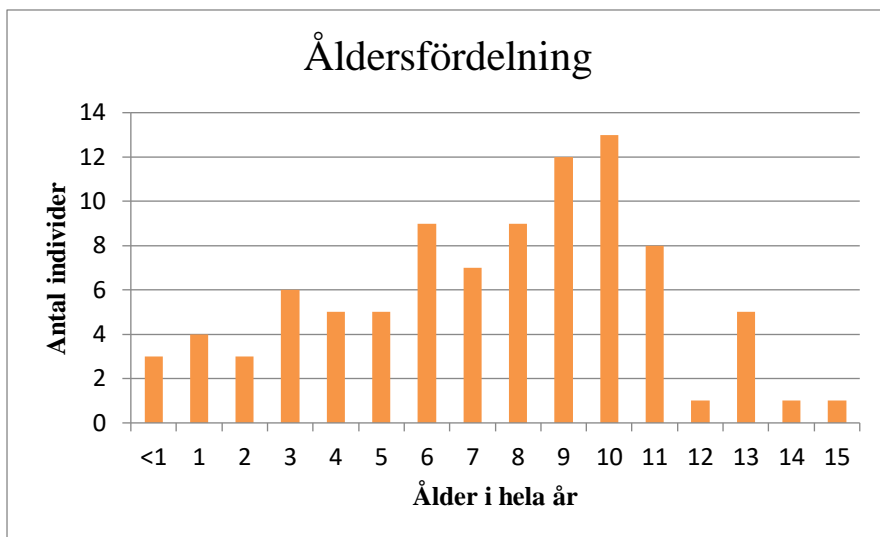


Diagram 3. Åldersfördelningen bland de 92 studiedeltagarna där åldern fanns uppfört i journalsystemet.

Öga afficerat av smältande corneasår

Bland de 93 kasus i studien var det 51 som fick diagnosen smältande corneasår på sitt vänstra öga, detta visualiserats i diagram 4. För 40 hundar sattes densamma diagnosen istället på det högra ögat. Två av hundarna hade smältande corneasår bilateralt.

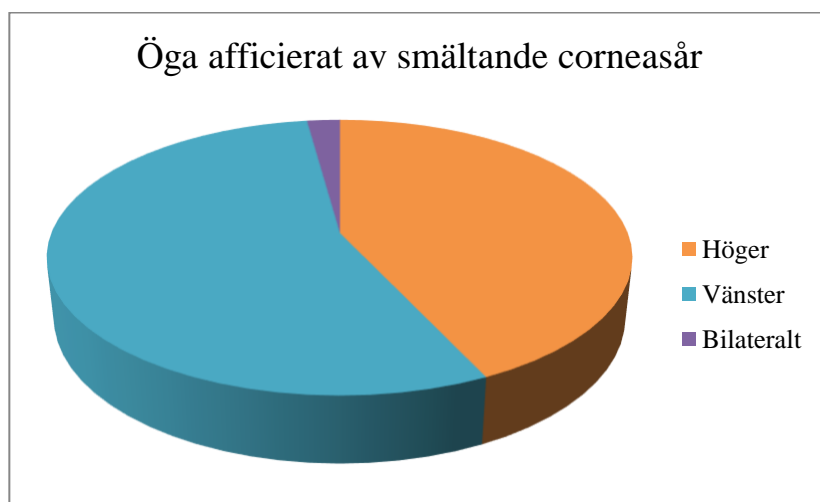


Diagram 4. Av de 93 kasusen hade 51 stycken smältande corneasår på sitt vänstra öga, medan 40 hundar hade samma diagnos på höger öga. 2 individer hade smältande corneasår bilateralt.

Tilläggsdiagnoser registrerade i journal

I studiematerialet hade 63 ögon i tillägg annan ögonrelaterad diagnos registrerad på detsamma

ögat afficerat av keratomalacia. Av dessa 63 var vanligt förekommande tilläggsdiagnoser akut främre purulent eller non purulent uveit (31 fall). Kronisk keratokonjunktivitis sicca, KCS, sågs i tre av fallen. I 15 av kasusen med smältande corneasår hade hundarna även andra diagnoser på det motsatta ögat. Här var vanligaste diagnoserna katarakt (4 hundar), smält corneasår (2 hundar) samt distichiasis (2 hundar). För en del av hundarna, 21 kasus, ackompanjerades diagnosen smältande corneasår av tilläggsdiagnoser på båda ögonen. Bilateralt förekom entropion hos 4 fall, distichiasis hos 4 styck, katarakt hos 4 och även pigmentös keratit kunde ses bilateralt i 4 tillfällen. Kronisk KCS är ett annat exempel på en av de andra bilateralt förekommande diagnoserna och sågs hos 3 hundar.

Brakycéfala hundar

En överrepresentation av de brakycéfala hundraserna kunde ses när raserna i studiepopulationen delades in i brakycéfala, respektive mesocefala eller dolikocefala ras (se tabell 1). Smältande corneasår sågs hos 62 (66,7 %) hundar av brakycéfala raser medan 26 (28,0 %) hundar med densamma diagnosen var av antingen mesocefala eller dolikocefala ras. För de fem hundarna av okänd blandningsras saknades uppgifter som kunde klassas dem till någon av ovan nämnda grupper. Till gruppen med de brakycéfala raserna hör enkeltraser som utgörs av flest individer; mops, chihuahua, fransk bulldog och shih tzu.

Mesocefala och dolikocefala ras	Antal (%)	Brakycéfala ras	Antal (%)	Blandning	Antal (%)
Amerikansk toy foxterrier	1 (1,1)	Boston Terrier	3 (3,2)	Okänd blandningsras	5 (5,4)
Bichon frisé	1 (1,1)	Boxer	1 (1,1)		
Border collie	1 (1,1)	Bullmastiff	2 (2,2)		
Cocker spaniel	1 (1,1)	Cavalier king charles spaniel	8 (8,6)		
Coton de tulear	1 (1,1)	Chihuahua	11 (11,8)		
Engelsk setter	1 (1,1)	Engelsk bulldog	1 (1,1)		
Engelsk springer spaniel	1 (1,1)	Fransk bulldog	9 (9,7)		
Grand danois	1 (1,1)	Japanese chin	3 (3,2)		
Jack russel terrier	2 (2,2)	Mops	14 (15,1)		
Jämthund	1 (1,1)	Pekingeser	1 (1,1)		

Kleiner münsterlander	1 (1,1)	Shih tzu	8 (8,6)		
Tax	1 (1,1)	Tibetansk spaniel	1 (1,1)		
Norfolk terrier	1 (1,1)				
Norsk lundehund	1 (1,1)				
Pomeranian	2 (2,2)				
Rottweiler	1 (1,1)				
Schäfer	1 (1,1)				
Staffordshire bullterrier	3 (3,2)				
West highland white terrier	2 (2,2)				
Yorkshire terrier	2 (2,2)				
Summa	26 (28,0)		62 (66,7)		5 (5,4)

Tabell 1. Rasfördelning bland hundarna i studien och indelning efter brakycefal eller icke brakycefal skullformation. Vanligast var de brakycefala raserna (n=62) medan de meso- och dolikocefala var nummerärt färre (n=26). Minst förekommande var hundar av blandras (n=5).

Bakteriedyrkning

Dyrkningssvar

Av de totalt 95 stycken svaberproverna som skickades till bakteriologen för dyrkning kom 69 tillbaka som positiva medan 26 var negativa, som framkommer i diagram 5.

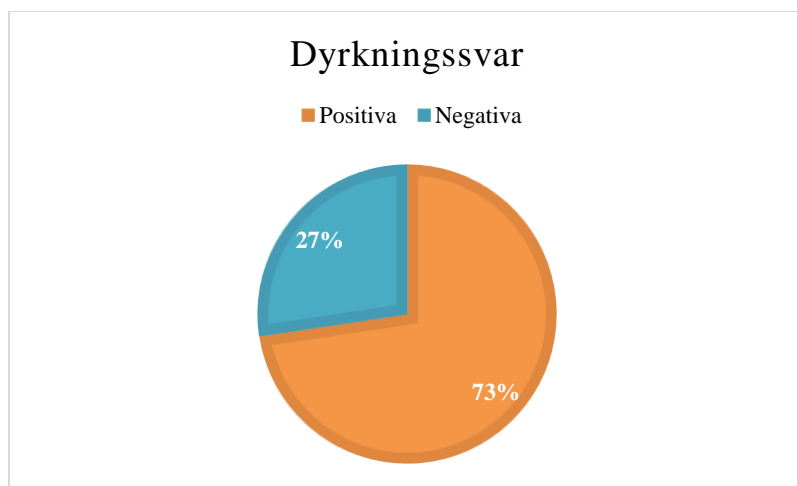


Diagram 5. Fördelningen över positiva och negativa dyrkningsprov från 95 ögon med smältande corneasår.

Av de 69 positiva svaberna blev 50 dyrkade som renkultur (72,5 %) och 19 stycken (27,5 %) hade dyrkningssvar bestående av mer än ett bakterieisolat. I tio av dyrkningarna förekom växt av två olika bakteriegenus. Från två av svaberproverna kunde tre olika bakteriegenus

identifieras från vardera prov. För tre av dyrkningssvaren framkom att det fanns växt av blandningsflora i kombination med genusidentifierad bakterie. Ytterligare en dyrkning visade växt av blandningsflora och då tillsammans med två bakterier som kunde genusklassas. Från dyrkning efter svaberprov från två ögon sågs endast växt av ospecifik blandningsflora.

I dyrkningssvar från bakteriologen blev det i vissa fall även upplyst information om att det var behov för uppförmering eller att det förekom mycket sparsam, sparsam, riklig till mycket riklig växt. Fördelningen bland de 69 svaberproverna kan ses i tabell 2 nedan. För 25 av isolaten var det behov av uppförmering och elva kulturer visade mycket sparsam växt. Sex kulturer hade sparsam växt, 14 moderat förekomst, nio riklig förekomst och fyra av de 69 kulturerna hade mycket riklig förekomst.

Kommentar till växt	Mycket riklig	Riklig	Moderat	Sparsam	Mycket sparsam	Efter uppförm.
Antal isolat	4	9	14	6	11	25
Procent	5,8 %	13,0 %	20,2 %	8,7 %	15,9 %	36,2 %

Tabell 2. Antal isolat som hade mycket riklig växt till mycket sparsam växt eller krävde uppförmering.

Påvisade bakterieisolat

Det blev vid dyrkning isolerat totalt 87 stycken bakterieisolat (se tabell 3). Dessa utgjordes av 19 olika bakterier och grupper författarna delade in efter, hvor en grupp var blandningsflora och en grupp med ospecifik blandningsflora. Den bakterie som påvisades i flest fall var *Staphylococcus pseudintermedius* som fanns i 19 av isolaten (21,8 %). Tätt följt i frekvens av bakterien *Streptococcus canis* som identifierats i 15 isolat (17,2 %). Bakterien av arten *Pseudomonas aeruginosa* fanns i nio av isolaten (10,3 %). *Pasteurella* spp. växte fram i sju av dyrkningarna (8,0 %) och lika många av isolaten utgjordes av KNS.

De fem ovan nämnda bakterierna utgjorde tillsammans 65,5 % av samtliga isolat. De resterande isolaten stod därmed för mindre än 35 procent av alla påvisade isolat.

Bakterie	Påvisades i antal dyrkningar
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	19
<i>Streptococcus canis</i>	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9
<i>Pasteurella</i> sp	7
KNS sp.	7
Blandningsflora	4
<i>Moraxella</i> sp	4
Alfahemolytiska streptococcer	3
<i>E. coli</i>	3
<i>Pasteurella multocida</i>	3
<i>Enterococcus faecalis</i>	2
<i>Enterococcus faecium</i>	2
Ospecifik blandningsflora	2
<i>Proteus</i> sp	2
<i>Corynebacterium</i> sp	1
<i>Micrococcus</i> sp	1
<i>Pasteurella trehalosi</i>	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	1

Tabell 3. Samtliga 87 bakterieisolat från de positiva dyrkningsproven.

Påvisning av resistens

Bakterieisolaten i studien blev rutinmässigt testade för resistens mot penicillin, tetracyklin, fusidin, gentamicin, polymyxin, kloramfenikol och tobramycin, med några undantag.

Undantagen var några få isolat som enbart blev testade för penicillinresistens. Dessa visade sig vara sensitiva och därmed blev ingen vidare resistens undersökt. Utifrån vilka stammar som dyrkades fram var det inte heller nödvändigt att i alla isolat testa resistensprofil för sådant man av erfarenhet vet inte används i behandling mot den specifika bakterien. Så som till exempel de gram negativa bakteriernas resistens mot penicilliner.

Isolaten *Staphylococcus pseudintermedius* och KNS spp. blev i tillägg testade för resistens mot oxacillin och isolaten med *Pseudomonas aeruginosa* undersöktes för resistens mot erytromycin och spiramycin utöver de ovan nämnda.

Resultaten från bakteriologiska avdelningen var angett som sensitiv, intermediär eller resistent för var enkelt antibiotikum som blivit testat.

Se tabell 4 för resistensförekomst hos de respektive bakterierna, uppförda med antal isolat resistent mot det enskilda antibiotikumet och antal intermediära utfall i parentes bakom resistensfrekvens.

Resistens bland de vanligaste förekommande bakterierna

Staphylococcus pseudintermedius-isolaten visade resistens mot penicillin (12/19), tetracyklin (4/19), fusidin (4/19), polymyxin (4/19). Desamma isolaten var sensitiva mot kloramfenikol, gentamicin och oxacillin (19/19). Utöver detta testades tre av *S. pseudintermedius*-isolaten mot resistens gentemot cefoxitin, där samtliga kom ut som sensitiva.

Bland *Streptococcus canis*-isolaten fanns två styck som endast var testade för penicillin och inga andra typer av antibiotikum. Därmed var det 13 stycken isolat som blev testade för hela panelen. *Str. canis*-isolaten visade resistens mot polymyxin (13/13), fusidin (7/13), tobramycin (7/13), gentamicin (2/13), tetracyklin (2/13) och kloramfenikol (1/13). Samtliga isolat var sensitiva för penicillin.

Vad gäller *Pasteurella* sp., *P. multocida* och *P. trehalosi* var alla elva sensitiva mot kloramfenikol, penicillin, tetracyklin och polymyxin. Somliga var däremot resistent mot fusidin (8/11) och gentamycin (1/11).

Pseudomonas aeruginosa med sina nio isolat var resistent mot fusidin (9/9), penicillin (9/9), kloramfenikol (7/9), tetracyklin (7/9) och polymyxin (1/9). Spiramycin och erytromycin testades tre av isolaten för och samtliga var resistent mot dessa. Isolaten var sensitiva mot tobramycin (9/9) och gentamicin (8/9).

Bland de sju KNS sp.-isolaten blev två, av okänd anledning, inte undersökta för resistens. Två andra isolat testades enbart för penicillin och kom ut som sensitiva. För de tre isolaten som resistensundersöktes för hela panelet var 2/3 resistent mot penicillin, 2/3 resistent mot polymyxin och 1/3 resistent mot tetracyklin samt fusidin.

Enterokockerna (*faecium* och *faecalis*) påvisades från fyra svaber tagna från tre patienter. Varav en hade dessa bakterier bilateralt och den andra patienten blev ett kirurgiskasus. Samtliga var resistent mot fusidin och polymyxin.

Micrococcus sp. (1) visade ingen resistens men var sensitiv för penicillin, tetracyklin, fusidin, polymyxin, kloramfenikol och tobramycin.

Resistens mot tre eller fler antibiotikum

För de fem mest vanligt förekommande isolaten i studien, var 32,7 % av dem resistent mot tre eller flera typer antibiotikum.

Två av *Staphylococcus pseudintermedius*-isolaten uttryckte resistens mot tre typer antibiotikum. Ett av dessa isolat var resistent mot penicillin, fusidin och kloramfenikol medan det andra isolatet hade resistens mot penicillin, fusidin och polymyxin.

Bland de 15 *Streptococcus canis*-isolaten var det sju isolat som var resistenta mot tre eller fler antibiotikum. Två av dem var resistent mot fyra antibiotikatyper. Alla var resistenta mot polymyxin (7/7), mot fusidin och tobramycin var 6/7 resistenta medan 2/7 var resistenta mot gentamycin och 1/7 var resistent mot kloramfenikol.

Ingen av de nio *Pasteurella*-isolaten uttryckte resistens mot mer än två typer av antibiotikum. Ett isolat av *Pasteurella trehalosi* var resistent mot både fusidin och gentamicin.

När det kommer till de nio isolaten med bakterien *Pseudomonas aeruginosa* sågs resistens mot de tre antibiotikumen penicillin, fusidin och kloramfenikol i två av tillfällena. Fyra isolat hade istället resistens mot fyra antibiotikasubstanser; penicillin, tetracyclin, fusidin och kloramfenikol eller polymyxin. Ett av isolaten var resistent mot fem antibiotika och två isolat visade resistens mot sex typer antibiotika. Dessa vart i tillägg testade för spiramycin och erytromycin. Totalt blev tre isolat med *P. aeruginosa* testade för resistens mot erytromycin och spiramycin; samtliga var resistenta.

Två av de sju isolaten tillhörande KNS arterna var resistenta mot tre av de testade antibiotika; penicillin, polymyxin och tetracyclin eller fusidin.

RESISTENS HOS BAKTERIEISOLATEN

Bakterie (antal isolat)	Antibiotikum							
	Penicillin	Tetracyclin	Fusidin	Gentamicin	Polymyxin	Kloramfenikol	Tobramycin	Oxacillin
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (19)	12	4	4 (1)	S	4	S	-	S
<i>Streptococcus canis</i> (15)	S	2	8 (5)	2 (5)	13	1 (3)	7	-
<i>Pasteurella</i> (11)	S	S	8 (1)	1 (1)	S	S	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (9)	9	7	9	S (1)	1	7	S	-
KNS sp. (7)	2	1	1 (1)	S	2	S	-	S

<i>Moraxella</i> (4)	1	S	1 (1)	S	S	S	-	-
<i>Escherichia coli</i> (3)	3	S	3	S	S	S	S	-
Enterokocker (4)	S	S	4	S (1)	4	S	-	-
<i>Proteus</i> sp. + <i>mirabilis</i> . (2)	1 (1)	2	2	S	2	S	S	
Alfahemolytiske streptokocker (3)	S	S	1	S	2	S	S	-
<i>Corynebact.</i> sp. (1)	1	S	1	S	1	-	S	-
<i>Micrococcus</i> sp. (1)	S	S	S	S	S	S	S	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (1)	1	S	S	S	1	S (1)	S	S

Tabell 4. Antal resistenta isolat innanför varje bakteriegrupp på tabellens y-axel samt de testade antibiotika på tabellens x-axel. Sorterade i ordning efter bakterie som isolerats mest frekvent. Totala antalet isolat står efter bakterienamnet, inom parentes på y-axel. De som inte blivit testat för ett specifikt antibiotikum är märkt med -. Stort S i tabellen innebär att samtliga isolat var sensitiva. I tabellens kolumner står antalet intermediära resultat i parentes.

I tabell 4 som anger isolaten som testades mot resistens ingår totalt 80 stycken isolat. De med ospecificerat blandningsisolat ingår ej i tabellen, eftersom dessa aldrig blev resistenstestade.

Här ingår inte heller den ena av dyrkningarna med *Proteus* sp. som blev dyrkat från ögon bilateralt på samma individ. Ingen resistens mot oxacillin påvisades i studiematerialet. Bland de åtta olika bakterierna som testades för resistens mot tobramycin var det bara *Streptococcus canis* som var resistent mot antibiotikumet.

Antibiotikum:	%-andel av bakterieisolaten* som var resistenta:
Penicillin	37,5 %
Tetracyklin	17,5 %
Fusidin	52,5 %
Gentamicin	3,8 %
Polymyxin	37,5 %
Kloramfenikol	10,0 %

*Beräknat utifrån det 80 isolaten inkluderade i tabell 4.

Behandling mot keratomalacia

Kirurgisk behandling

I 13 av de 93 kasusen blev kirurgi utfört som en del av behandlingen, i tillägg till medicinering, mot smältande corneasår. Två opererades samma dag som det smältande corneasåret påvisades och resterande kasus opererades mellan en till fem dagar efter diagnosen ställdes. Kirurgimetoden konjunktival-flap genomfördes på sju av patienterna, fem genomgick enukleation och en patient behandlades med superficiell keratektomi. Hos en av de som opererades med konjunktival-flap blev det samtidigt satt in en ACell disc innan flappen suturerades över.

Isolat påvisade hos dom olika operationspatienterna kan ses i tabell 5 nedan. Endast en av operationspatienterna hade negativt dyrknings svar. Av de som genomgick enukleation lämnade två patienter svaberprov med växt för *Pseudomonas aeruginosa*, en patient med växt av både *Staphylococcus pseudintermedius* och anaerob blandningsflora, en patient hade *Proteus mirabilis* och från en patient sågs växt av *Streptococcus canis*.

Av isolat som påvisades hos de patienter där det blev utfört konjunktival-flap var *S. pseudintermedius*, *Pasteurella* sp. och *Proteus* spp. vanligast.

I studien utgjordes tre isolat av *Proteus* sp. och *P. mirabilis*, dessa kom från två olika patientkasus. En av dessa patienter hade *Proteus* sp. bilateralt och fick konjunktival flap utfört på båda ögonen vid första besöket. Patienten med påvisad *Proteus mirabilis* fick ögat enukleerat två dagar efter första besöket.

KONJUNKTIVAL-FLAP KASUS

ENUKLEASJONSKASUS

Bakterie påvisad	Antal isolat	Bakterie påvisad	Antal isolat
<i>S. Pseudintermedius</i>	2	<i>S. pseudintermedius</i>	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2

<i>Proteus sp.</i>	2	<i>Proteus mirabilis</i>	1
<i>Pasteurella sp.</i>	2	<i>Streptococcus canis</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1	Anaerob blandningsflora	1
Hemolytisk <i>E. Coli</i>	1		
Negativt	1		

Tabell 5. Översikt över bakterieisolat från de 13 operationskasusen. Från dessa patienter isolerades totalt 15 isolat. En patient som genomgick metoden med konjunktival-flap hade negativ dyrkning.

Medicinsk behandling

För 67 av kasusen var det möjligt att utvärdera tidsperioden på den medicinska behandlingen av det smältande corneasåret. Starten för behandlingen sattes till den första dagen patienten uppsökte veterinären och räknades fram till den dag där hunden kom på kontroll och fick besked om att avsluta behandlingen med antibiotika och serum eller plasma (efter att ha färgat fluorescein negativt). Antalet dagar från första besöket där diagnosen smältande corneasår blev ställd, till avslutad medicinsk behandling var i genomsnitt 22,8 dagar (n=67) och medianen var 21 dagar. Kortast behandling förlöpte över 5 dagar medan patienten med längst registrerad behandlingsperiod kom upp i 59 dagar. Standardavviket för de 67 kasusen var 10,7 dagar.

För 13 medicinskt behandlade kasus saknades slutdatum på behandlingen. Elva av dessa kom inte på slutlig kontroll vid NMBU medan två av kasusen eutaniserades antingen vid första besöket eller vid senare kontrollbesök.

Genomsnittstiden till avslutad behandling för de olika bakterieisolaten, som framkommer i diagram 6, var högst bland de som fått påvisat *Streptococcus canis* och *Pasteurella multocida* med 27 dagar för var och en av grupperna. Efter dessa kom de med påvisade alfahemolytiska streptokocker med 26,5 dagar (n=2), *Pseudomonas aeruginosa* med 24,7 dagar (n=6),

Staphylococcus pseudintermedius med 22,2 dagar (n=10), KNS sp. med 20,4 dagar (n=7) och *Pasteurella* sp. med 18 dagar (n=5).

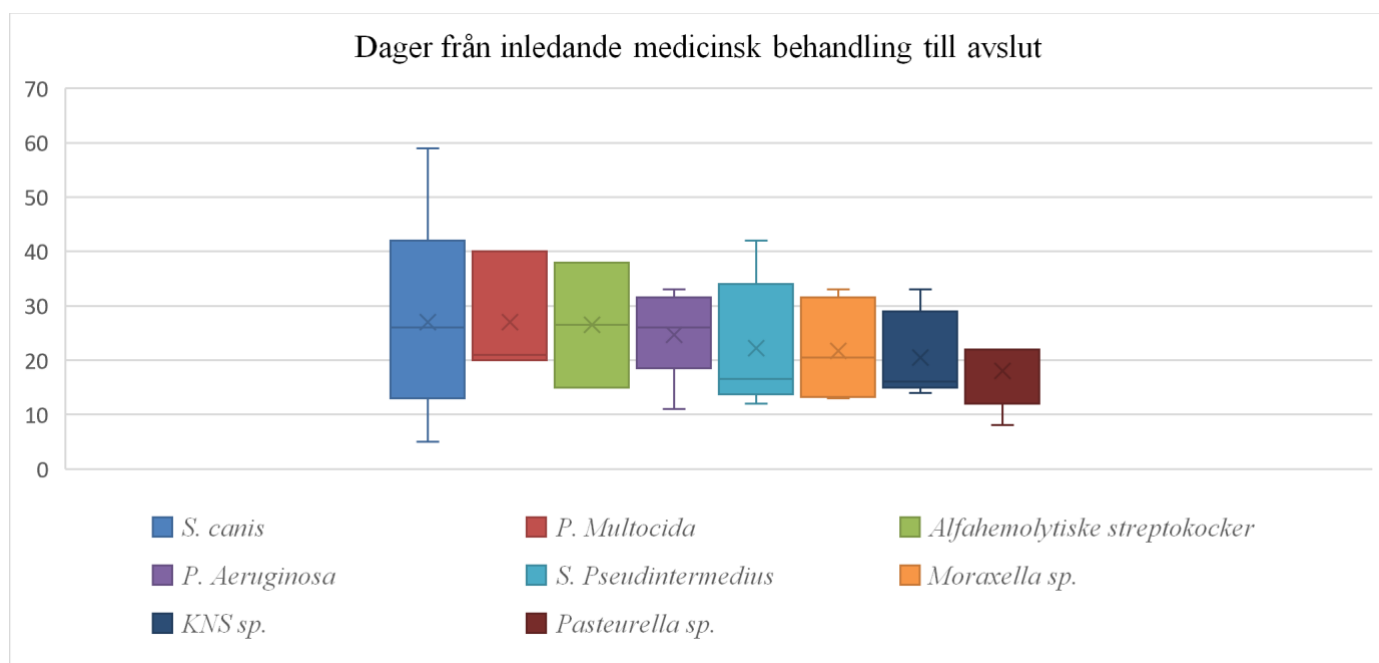


Diagram 6. Visar de åtta vanligaste isolerade bakteriegrupperna och hur många dagar det tog från start av behandling till avslut av behandling. Där starten sattes till första besöket hos veterinären och avslut av behandling klassades som dagen då de inte längre behövde antibiotika och serum eller plasma (fluorescein negativ). Sorterade i ordning från högsta genomsnittstiden på behandling (*Streptococcus canis* och *Pasteurella multocida*, 27 dagar) till minsta antalet behandlingsdagar (*Pasteurella* sp., 18 dagar). *Streptococcus canis* n=6, *Pseudomonas aeruginosa* n=6, KNS sp. n=7, *P. multocida* n=3, *Staphylococcus pseudintermedius* n=10, *Pasteurella* sp. n=8, alfahemolytiska streptokocker n=2, *Moraxella* sp. n=4. Där n= antal kasus. Kryss i box anger genomsnittet för alla kasus i gruppen och linje markerar medianen.

Patienter med påvisad *E. coli* från ögonsvabern (n=3) kunde inte tilldelas antal dagar till avslutad behandling då en av dessa blev opererad medan två inte kom på uppföljning på NMBU. Detsamma gällde för *Proteus* sp. som tidigare nämnts klassades till kirurgikausen. En patient var ensam om att få påvisat bakterien *Staphylococcus aureus* och denna behövde också genomgå operation.

Tid på året för diagnosen smältande corneasår

Tolv hundar fick diagnosen smältande corneasår i januari månad. Därefter blev det några färre fördelat på månaden februari; fem kasus. Antalet diagnosticerade kasus steg sedan successivt i perioden mars till maj. Från mars med sju kasus, till april med åtta kasus och vidare till maj med tio kasus. Sedan skedde en nedgång i antalet kasus; med fem i juni och sju kasus i juli. Flest kasus som blev diagnosticerades med smältande corneasår återfanns i kalendermånaden augusti, nämligen 15 kasus, se diagram 7. Till de som diagnosticerades under oktober kalendermånad hörde fyra kasus, i november sex kasus och i december fyra kasus. Därmed var det vanligast i studiematerialet med smältande corneasår i augusti medan ögonlidelsen var minst förekommande i oktober respektive december.

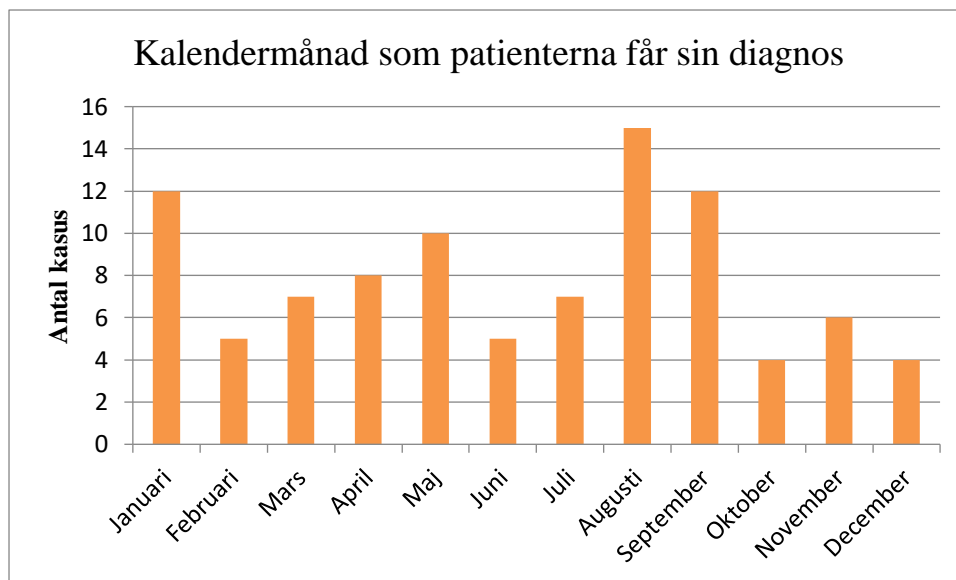


Diagram 7. Vilken kalendermånad hundarna fick diagnosen smältande corneasår.

Negativa respektive positiva dyrkningar efter kalendermånad

Från kalendermånad januari härstammar tolv av svaberproverna, där nio var positiva och tre negativa. För februari var fördelningen fyra positiva och en med negativ dyrkning. I mars kom också fyra dyrkningar ut som positiva medan tre var negativa. Av de åtta svaberproverna som togs i månaden april kom sju tillbaka som positiva och en var negativ. Maj utgjordes av

åtta positiva svaberprov och två negativa svaberprov, se diagram 8. För juni var det istället fyra positiva och en negativ. Av de sju kasusen där svaber togs under juli månad kunde bakterier påvisas i fyra av fallen. Flest dyrkningar blev genomförda i kalendermånaden augusti, varav tolv var positiva för bakterieväxt medan tre saknade bakterieväxt och klassades som negativa. I september blev utfallet positiv dyrkning för åtta av totalt tolv prov. Oktober var en av de kalendermånaderna med minst antal utförda dyrkningar på grund av smältande corneasår; totalt fyra varav två var positiva och lika många var negativa. Antalet positiva svaberprov för november var fem stycken och för samma kalendermånad var en negativ. För december med fyra insända dyrkningar konstaterades att tre ögon med smältande corneasår hade bakterieväxt medan dyrkningssvar från ett öga var negativt.

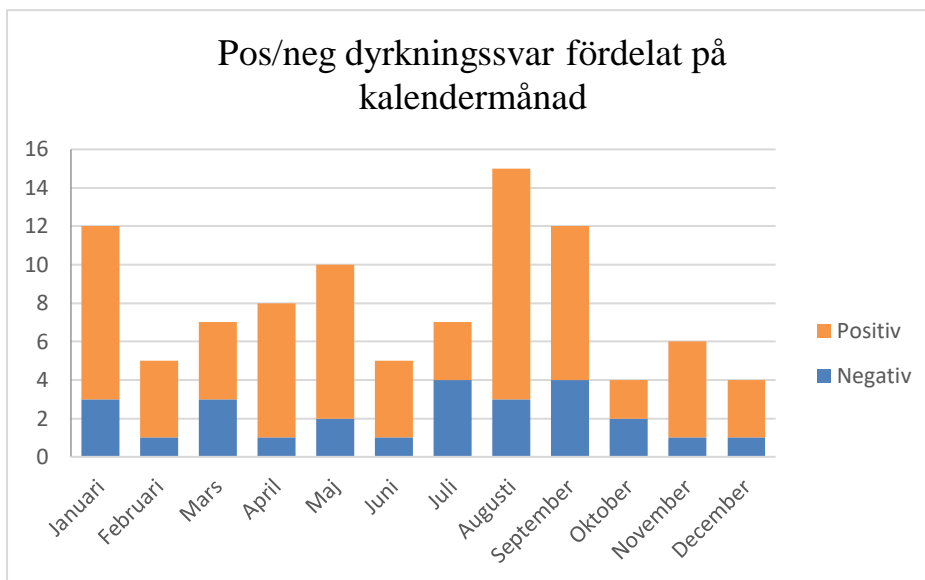


Diagram 8. Diagram över dyrkningsproverna och i vilken kalendermånad de togs från patienternas ögon.

Negativa och positiva dyrkningar efter årstid

Dyrkningssvar fördelat efter årstid finns återgivet i tabell 6. Under våren (mars, april och maj) dyrkades 25 svaberprov från ögon med diagnosen smältande corneasår. Av dessa var 19 positiva medan sex var negativa för bakterieväxt. Under sommarperioden (juni, juli och augusti) blev det tagit svaberprov från 27 kasus och från dessa sågs bakterieväxt vid dyrkning

i 19 fall medan ingen växt sågs efter dyrkning i 8 av fallen. På hösten (september, oktober, november) var 15 av de totala 22 dyrkningsproven positiva, vilket lämnade sju som negativa. För vinterns (december, januari, februari) 21 svaberprov kom 15 tillbaka som positiva medan sex visade sig vara negativa.

Dyrkningsresultat efter årstid					Total
Årstid	Vår	Sommar	Höst	Vinter	
Antal positiva dyrkningar (%)	19 (76,0)	19 (70,4)	15 (68,2)	16 (76,2)	68
Antal negativa dyrkningar (%)	6 (24,0)	8 (29,6)	7 (31,8)	5 (23,8)	27
Totala antalet dyrkningar	25	27	22	21	95

Tabell 6. Dyrkningsresultat efter årstid. Där vår representeras av månaderna mars, april maj. Sommar bestod av månaderna juni, juli och augusti. Höst inkluderar kalendermånaderna september, oktober och november. Till vintern hör december, januari och februari.

Bakterieförekomst utefter årstid.

För dyrkingsvaren med positivt utfall under våren var flest ögon infekterade med bakterien *Streptococcus canis*. Denna bakterie återfanns i åtta av de totalt 19 positiva dyrkningarna se diagram 9 längre ner. Under sommaren dominerades ögonkasusen av *Staphylococcus pseudintermedius* som växte i sju av 19 positiva dyrkningar. Samma bakterie, *S. pseudintermedius*, påträffades mest frekvent under hösten med växt från sex av de 15 positiva svaberproverna. Likt våren toppade *S. canis* också i frekvens för vintern där den identifierades i fyra av de totalt 16 positiva proverna.

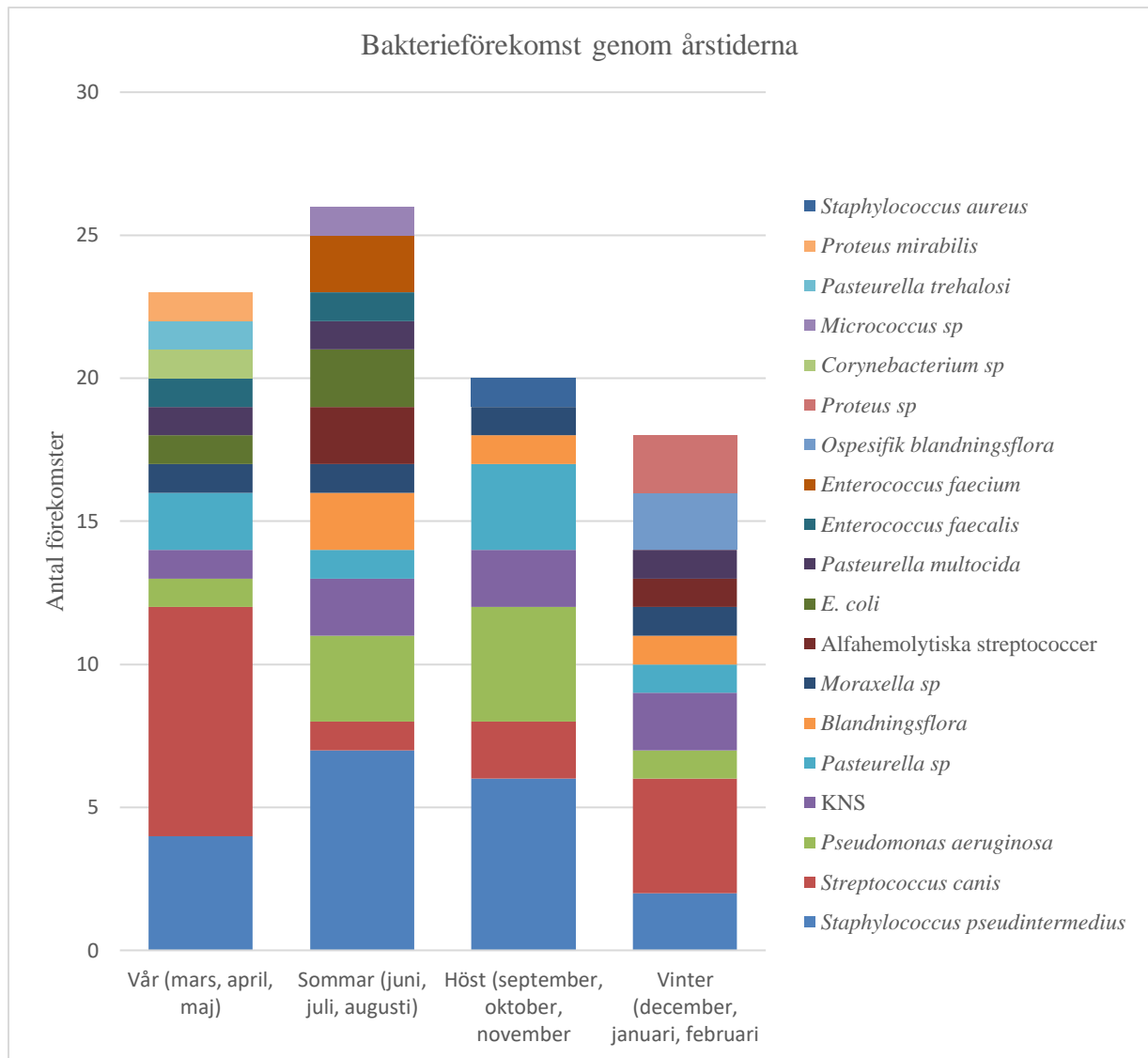


Diagram 9. Fördelningen av de olika bakterieisolaten genom årets årstider vår, sommar, höst och vinter.

Bakterieförekomst utefter kalendermånad

I januari månad sågs två isolat med vardera *Streptococcus canis* och *Proteus* sp, se diagram 10.

Under årets första månad påvisades också ett isolat av *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella* sp., *Pasteurella multocida* samt därtill en med ospecifik blandningsflora. Nästa månad, i februari, identifierades ett isolat vardera av *S.*

pseudintermedius, *S. canis*, alfahemolytiska streptokocker och en med ospecifik

blandningsflora. Under mars månad blev *S. pseudintermedius*, *S. canis*, *Enterococcus*

faecium, *P. trehalosi* samt *Proteus mirabilis* dyrkat i vardera ett isolat. Månaden därefter,

april, dominerades av isolaten *S. canis* som sågs i fem av tillfällena. Ett isolat av respektive *S. pseudintermedius*, *P. aeruginosa* och *Moraxella* sp. hörde också till april. I månaden maj utgjordes flest isolat av *S. pseudintermedius*, *S. canis* och *Pasteurella* sp., vilka kunde dyrkas fram från två kasus var. Ett isolat från var och en av bakterierna; KNS sp., *E. coli*, *P. multocida* och *Corynebacterium* sp. registrerades i tillägg under maj. För kalendermånaden juni sågs växt i enskilda isolat av *S. pseudintermedius*, KNS sp., alfahemolytiska streptokocker och *Enterococcus faecalis*. Nästa månad, juli, hade två isolat med *S. pseudintermedius* samt enkla isolat av *E. coli*, *Micrococcus* spp. och blandningsflora. Augusti dominerades bakterien *S. pseudintermedius* med sina 4 isolat. Tre isolat i augusti utgjordes av *P. aeruginosa*. Två isolat bestod av *Enterococcus faecium* och ett vardera isolat bestod av KNS sp., *Pasteurella* sp., *Moraxella* sp., alfahemolytiska streptokocker, *E. coli*, *P. multocida* samt blandningsflora. Under september månad var *S. pseudintermedius* och *P. aeruginosa* de vanligaste förekommande isolaten med vardera tre tillfällen. Vid två tillfällen sågs istället *Pasteurella* sp. Ett isolat fanns av respektive KNS sp., *Moraxella* sp., *Staphylococcus aureus* och blandningsflora. I oktober fanns endast ett isolat av *S. pseudintermedius* samt ett isolat av *S. canis*. *S. pseudintermedius* isolerades två gånger i kalendermånad november. Därtill enkla isolat av *P. aeruginosa*, KNS sp. och *Pasteurella* sp. Årets sista månad, december, innehöll enkla isolat av *S. canis*, KNS sp., *Pasteurella* sp. och blandningsflora.

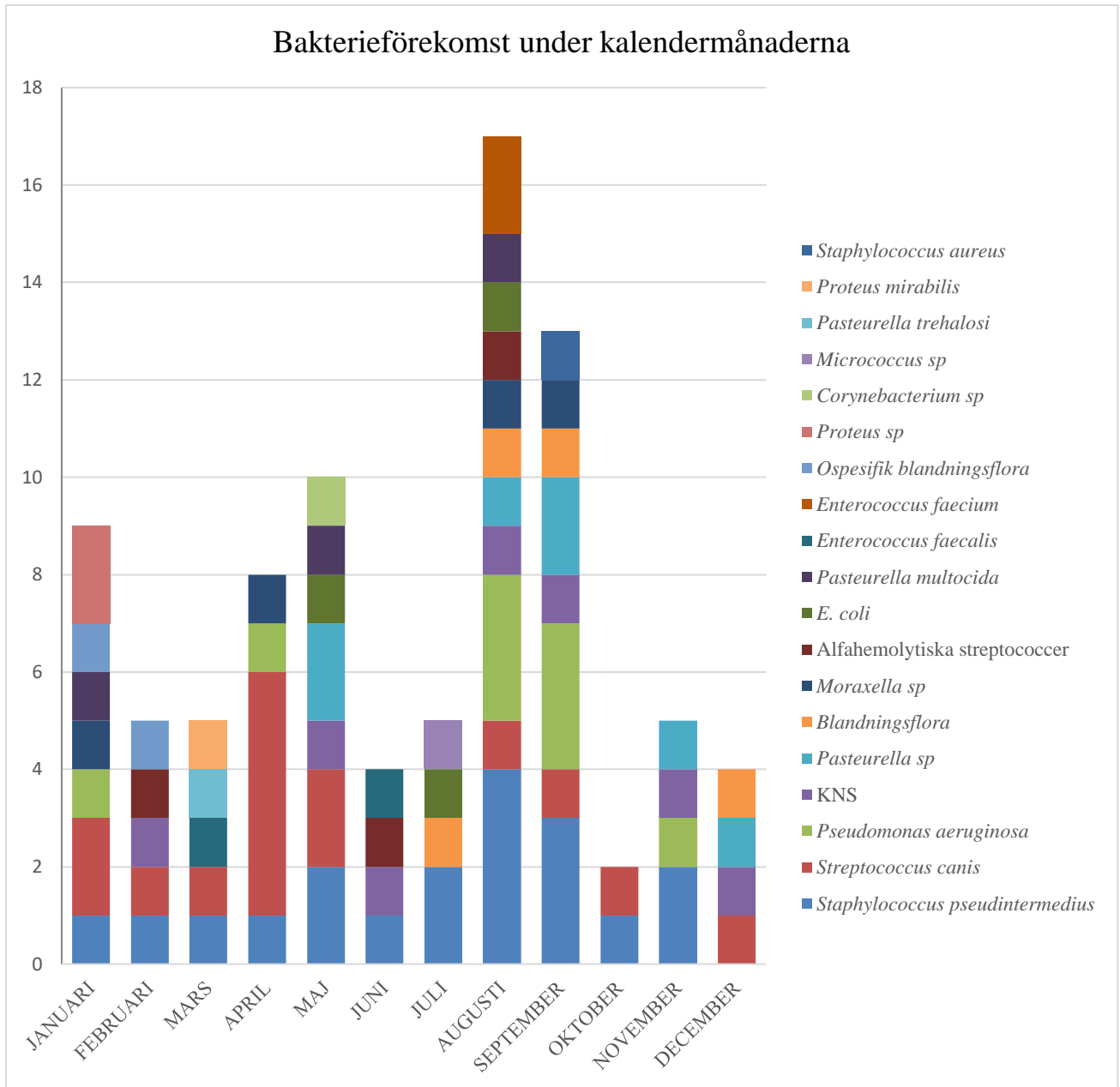


Diagram 10. Fördelningen av de olika bakterieisolaten mellan årets tolv kalendermånader.

Sammanfattning av data för de fem vanligaste bakterieisolaten

Staphylococcus pseudintermedius

Av 19 kasus med påvisad *Staphylococcus pseudintermedius* blev fyra opererade; en enukleation, två med konjunktival-flap och en med keratektomi. Genomsnittlig tid till avslutad behandling var 22,2 dagar (n=10).

I de medium med påvisning av bakterien *S. pseudintermedius* sågs samtidig växt av andra bakterier och/ eller blandningsflora i tio fall.

Det var flest hundar av rasen mops, fyra stycken, bland *S. pseudintermedius* kasusen. Två av respektive blandningsras, chihuahua, fransk bulldog och shih tzu. En av varje för raserna boxer, engelsk bulldog, japanese chin, pomeranian, rottweiler, schäfer och west highland white terrier.

Kulturerna med *S. pseudintermedius* växte från mycket sparsamt till moderat. Hos dyrkningarna som tillhörde kirurgikaset fanns kommentarer om att det krävdes uppförmering till mycket sparsam växt.

Åtta av kasusen med *S. pseudintermedius* hade diverse tilläggsdiagnoser kopplat till ögonen registrerat i journalen. Akut uveit, distichiasis, immunmedierad keratit, entropion och katarakt var några av dessa.

Flest isolat med *S. pseudintermedius* blev identifierade under månaden augusti, med fyra stycken av den aktuella bakterien.

Streptococcus canis

Bland de 15 kasus med påvisad *Streptococcus canis* kom en av dyrkningen från en patient som blev avlivad vid första besöket och en härstammade från patient som genomgick enukleation (två dagar efter första besöket). De resterande 13 patienterna behövde i genomsnitt 27,0 dagar till dess att behandlingen kunde avslutas.

Åter igen var det flest mopsar som fick påvisat denna bakterien, nämligen fyra stycken. Tre av studiens cavalier king charles spanielar hade *S. canis* och likaså två av raserna chihuahua, shih tzu samt west highland white terrier. En av vardera blandningsras, fransk bulldog, grand danois och yorkshire terrier hade *S. canis* vid dyrkning.

En cavalier king charles spaniel med *S. canis* var den individ som brukade längst tid till dess att behandlingen kunde avslutas; 59 dagar.

Av de totalt 15 svaberprover med påvisad *S. canis* sågs samväxt med andra bakterier i tre av dessa. Fyra av isolaten hade riklig förekomst vid dyrkning medan resten hade sparsam till moderat växt. Eukleationspatienten hade moderat växt av *S. canis* i renkultur.

Elva kasus hade tilläggsdiagnoser registrerat som egna diagnoskoder i journalen på detsamma ögat. KCS, uveit, distichiasis, corneal dystrofi med lipidavlagring var några av dessa.

Under månaden april påvisades flest isolat med *S. canis*, nämligen fem styck.

Pseudomonas aeruginosa

Tre av de nio patienterna med påvisad *Pseudomonas aeruginosa* var i behov av kirurgi; där två undergick eukleation och en konjunktival-flap. Resterande sex kasus hade i genomsnitt 24,7 dagars period fram till behandlingen kunde avslutas. Sex av nio isolat hade renkultur, tre hade blandning av växt med *P. aeruginosa* tillsammans med hemolytisk *E. coli*, *Moraxella* sp. eller bladningsflora. Tre isolat uppvisade riklig växt, varav en av dessa blev kirurgikasus. De två andra kirurgifallen hade moderat växt av *P. aeruginosa*.

Hos fem kasus fanns det i journalen angivna diagnoskoder för tilläggsdiagnoser på detsamma ögat som med smältande corneasår.

Tre av pseudomonas-patienterna var av rasen cavalier king charles spaniel och av dessa blev en opererad med konjunktival-flap. De andra hundarna var av rasen shih tzu, pekingeser, yorkshire terrier, jack russel terrier och boston terrier.

Flest isolat med *P. aeruginosa* kunde ses under månaderna augusti och september med vardera tre isolat.

Pasteurella spp.

Pasteurella spp. kunde påvisas hos sju kasus, där två av dessa behövde operation; båda med konjunktival-flap metoden. Genomsnittstiden till avslutad medicinsk behandling var 17,0 dagar bland de fyra kasus som ingick i beräkningen. En patient saknade kontrolltimme och kunde därför inte tilldelas antal dagar till avslutad behandling.

Två av kasusen var av blandningsras medan de resterande representerades av en enskild individ från raserna mops, boston terrier, fransk bulldog, norsk lundehund och tibetansk spaniel.

Hos två patienter med påvisad *Pasteurella* spp. blev *Staphylococcus pseudintermedius* identifierad i tillägg. En av dessa klarade sig med medicinsk behandling medan den andra var i behov av operation. *Pasteurella* spp.-kulturerna växte i varierande mängder kategoriserat från mycket sparsam till mycket riklig.

En av operationspatienterna hade diagnosen KCS uppfört i journalen på samma ögat som led av keratomalacia. Bland de medicinskt behandlade hade två tilläggsdiagnoser registrerade på samma ögat; däribland pigmentös keratit, akut främre uveit och katarakt.

Månaderna maj och september innehöll majoriteten av *Pasteurella* sp.- isolaten med två isolat för vardera månad.

KNS sp.

Ingen av de sju patienterna med påvisad KNS sp. behövde genomgå ögonkirurgi. Tiden till läkt corneasår med hjälp av medicinsk behandling var i genomsnitt 20,4 dagar (n=7).

Av raserna i gruppen med KNS sp. ingick tre mopsar, och en av varje från raserna chihuahua, japaneese chin, shih tzu och amerikansk toy fox terrier.

KNS sp. blev isolerat som renkultur hos fem av patienterna, medan båda de andra två hade växt av *Moraxella* sp. i tillägg. I en av de med KNS sp. och *Moraxella* sp. växte dessutom bakterien *Enterococcus faecium*. KNS-kulturerna hade över lag behov av uppförmering och en hade moderat växt.

Alla, bortsett en patient, hade en eller flera registrerade tilläggslidelser på samma öga som drabbats av keratomalacia. Dessa var främre akut non-purulent uveit, kronisk KCS samt "andra akuta, ospecificerade, icke ulcererande keratiter".

För KNS sp var det ingen av kalendermånaderna som utmärkte sig med majoriteten av dess isolat. Ett enkelt isolat av KNS sp. blev identifierat under månaderna februari, maj, juni, augusti, september, november och december. Resterande av årets månader hade inga KNS sp. isolat.

Diskussion

Dyrkning

Negativt versus positivt dyrknings svar

Nästan tre fjärdedelar, närmare bestämt 72,6 %, av svaberproverna kom tillbaka som positiva.

I den andra norska studien som omtalades tidigare i inledningen, var motsvarande siffra för de friska hundarna med svaber från konjunktiva 52 % (Sandanger et al., 2016). Att friska hundögon har en rik bakterieflora konstateras också i internationella studier där det setts att bakterier blivit dyrkade i 39-87 % av konjunktivalsäckarna från friska hundar (Gould & Papsouliotis, 2013). Samtidigt verkar det logiskt att ett sjukt öga kommer högre ut i andelen positiva dyrkningsprov jämfört med ett friskt. Det har registrerats att hundar med ulcerativ

keratit får en alternerad konjunktival bakterieflora och att det därmed är högre sannolikhet för att det blir isolerat bakterier från dessa jämfört med friska kasus (Hendrix, 2016). Men med tanke på den rika normalfloran som finns i ögat är det inte nödvändigtvis positiv eller negativ dyrkning som har något att säga för den enskilda patienten. Författarna menar att den kliniska evalueringen av patienten måste få stor vikt i val av behandling.

Det kan också diskuteras huruvida de negativa dyrkningsproven verkligen var negativa eller om det fanns en andel falskt negativa svar. Som tidigare nämnts i inledningen är bruk av topikalanestesi ante svaberprov en omdiskuterad procedur inom oftalmologin. Det råder lite tvivel om att analgesi är indikerat när en svaber ska beröra ett skadat öga för uttag av dyrkningsprov. Dock menar vissa att det finns en risk att få falska negativa dyrkningar om topikalanestesi appliceras innan svaberprovet utförs, eftersom det historiskt påvisats ha en baktericid effekt (Pelosini et al., 2009). Studier indikerar att det är skillnader på vilken typ av verksamt substans som blir använt och vilka eventuella konserveringsämnen som är tillsatt (Edwards et al., 2019; Pelosini et al., 2009). Veterinärer som tar ut okulära svaberprov bör med andra ord visa aktsamhet vid val av preparat för den topikala anestesin. Å andra sidan kan man tänka sig att det vid administrering av topikal anestesi fås ett mer tillförlitligt provsvar, än om det ska försöka tas svaberprov från cornea på en motstridig hund med stora smärtor. Troligen skulle falskt negativa prov inte ha jättemycket att säga för en hund med smältande corneasår så länge det inte rör sig om en bakterie som är resistent mot de vanligt brukta preparaten kloramfenikol eller gentamicin. Patienter med smältande corneasår ska oavsett få behandling innan dyrkningssvar föreligger då perforation kan uppstå raskt hos dessa (Statens legemiddelverk, 2014).

Ytterligare en aspekt kring falska negativa svaberprov är huruvida hundarna hade blivit eller stod på behandling med lokal eller systemisk antibiotika innan dem kom till veterinären på

NMBU. I personlig kontakt med en av de behandlande oftalmologerna vid NMBU; Ernst-Otto Ropstad, Diplomat ECVO, har författarna fått information att de hundar som stått på bredspektra antibiotika när dem uppsökt kliniken sällan blivit tagna svaberprov från (personlig kommunikation via mail, 9. maj 2021). Ytterligare information om studiedeltagarnas föregående antibiotikabehandling har inte författarna. Ser man till studien av Tsvetanova et al. finns det grund att tro att en stor andel av patienterna redan stod på antibakteriell behandling innan dem kom till ögonspecialist. Tsvetanova et al. registrerade bland 89 stycken hundar att 75 % hade mottagit topikal antibiotikabehandling innan hänvisning. Vanligaste substansen var kloramfenikol efterföljt av fusidinsyra (Tsvetanova et al., 2021). Problematiken kring föregående antibiotikabehandling diskuteras vidare längre ned, under rubriken "begränsningar".

En annan källa som skulle kunna vara med och påverka dyrkningsresultat är bruk av så kallade multidoser. Där är diverse ögondroppar förpackade i stora flaskor eller tuber som räcker till flera patienter istället för engångspipetter. Flera undersökningar har visat den ökade risken med att kontaminera och sprida bakterier mellan patienter när denna typ av administrering används (da Costa et al., 2020; Teuchner et al., 2015). Enligt uppgifter från oftamologerna på NMBU brukades engångsdoser till topikalanestesin och därmed borde risken med kontaminering från just topikalanestesin innan provtagning inte vara aktuell för detta studiematerial.

Grad av bakterieväxt

I studiematerialet bestod 50 dyrkningar av renkultur medan 19 dyrkningar bestod av samlad växt från två eller flera isolat. Från svaberproverna behövde 36,2 % genomgå uppförmering för att uppvisa växt på medium och 15,9 % hade mycket sparsam växt. I motsättning hade 5,8

% mycket riklig växt och 13 % riklig växt. Här verkar det alltså som halva materialet inte hade så framträdande växt som man kanske kunde förväntas från ögon med en så allvarlig lidelse. Då kan det vara bra att påminnas om att alla smältande corneasår inte nödvändigtvis uppstått till följd av infektion (Hossain, 2012). Till jämförelse krävde 75 % (39/52) av proven uppförmering för att påvisa växt i studien av Sandanger et al. hos de friska hundarna från Oslo-regionen (Sandanger et al., 2016).

Även om en bakterie påvisas i ett dyrkningssvar är det inte alltid detsamma som att det är just den bakteriearten som varit delaktig i problematiken. Kvantiteten av växten kan dock ge en indikation; växt med högt antal bakteriekolonier av en ensam bakterietyp ger en stark indikation på att den har klinisk signifikans. Men i dyrkningssvar där bakterieväxten är sparsam ges utrymme för fler tveksamheter kring dess egentliga kliniska betydelse. Sådana kan istället representera normalflora och kontaminering (Gould & Papasouliotis, 2013).

Detta skulle eventuellt kunna vara med och förklara den stora skillnaden mellan andelen som krävde uppförmering vid jämförelse mellan de norska hundarna som hade smältande corneasår samt de norska hundarna som var friska.

Bakterieförekomst

I en fransk studie där man såg på utfall av medicinsk behandling hos hundar med keratomalacia blev det hos vissa av deltagarna utfört dyrkning (Guyonnet et al., 2020). Av de totalt 57 ögon med smältande corneasår togs det ut 33 svaberprov. Från 17 av dessa blev det identifierat 27 olika bakterieisolat där β -hemolytisk *Streptococcus* spp. och *Staphylococcus* spp. var de vanligaste och utgjorde 11 av 27 respektive 10 av de 27 isolaten. *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., samt *Pseudomonas aeruginosa* registrerades en gång var (Guyonnet et al., 2020). Även om det är något färre kasus som står bakom dyrkningsresultatet i den franska studien ser man att resultaten påminner om det som författarna fann bland hundarna

från smådyrskliniken NMBU. Vilken art av de β -hemolytiska streptokockerna som blev isolerade framkom inte av artikeln men andelen streptokocker blir då 40,7 % (11 av 27) i den franska studien jämfört med 17,2 % (15 av 87) i författarnas undersökning. Man kan även jämföra de 10 av 27 isolat som utgörs av *Staphylococcus* spp. i den franska studien med 20 (19+1) av 87 isolat som utgörs av *Staphylococcus pseudintermedius* och *S. aureus* i författarnas studie. I procentandel motsvarar detta 37,0 % i den franska studien jämfört med författarnas fynd på 23,0 % med stafylokocker. *Pasteurella* spp. blev i motsättning till författarnas resultat inte påvisat i den franska studien.

Nyligen har en stor studie utförd bland 106 hundar med keratomalacia i Storbritannien publicerats. Forskarna undersökte förekomsten av mikroorganismer bland de totala antalet 110 smältande corneasår och fann att de vanligaste renkulturerna var *Pseudomonas aeruginosa* (n=26) och β -hemolytiska streptokocker (n=12). I tillägg blev koagulase positiva Stafylokocker isolerade i sex tillfällen (Tsvetanova et al., 2021). Dessa registreringar påminner också om det författarna fann bland de norska hundarna med keratomalacia vid NMBU.

Om man ser på en thailändsk artikel som undersökte mikroorganismer och resistens bland hundar med allvarliga corneaulcer, inkluderades även några individer med keratomalacia. Här togs totalt 32 prov till vidare dyrkning och 26 av dessa var positiva för växt; varav 19 för bakterier och 7 för svamp. Från de 19 med bakterier togs det fram 24 bakterieisolat. Vanligaste isolaten här var *Staphylococcus* spp. med 11 av de 24 (45,8 %), *Pseudomonas aeruginosa* i 5 av 24 (20,8 %) samt *Streptococcus* spp. i 2 av 24 (8,3 %). Fem av isolaten med *Staphylococcus* spp. utgjordes av *S. pseudintermedius* (Ekapopphan et al., 2018). Huruvida någon av isolaten med *Streptococcus* spp. var *S. canis* framgick inte.

Ytterligare en artikel som bör nämnas vid jämförelse av bakterieförekomst är en utförd bland hundar i USA. Så många som 476 hundar med bakteriell keratit blev undersökta och totalt 465 bakterieisolat kunde framvisas. De vanligaste bakterierna var *S. pseudintermedius* med 26,7 %, *S. canis* 12,0 %, *Corynebacterium* spp. 8,4 % samt *Pseudomonas aeruginosa* med 7,5 % av isolaten (Hewitt et al., 2020). Dessa fynd stämmer väl överens med de vanligaste isolaten som författarna fann bland norska hundarna med smältande corneasår där 21,8 % var av bakteriearten *S. pseudintermedius*, 17,2 % av *S. canis*, samt 10,3 % av *P. aeruginosa*.

På samma vis är det intressant att jämföra fynden av bakterier i studie gjord av Sandanger et al. från den friska hundpopulationen. Bland de totala 65 bakterieisolaten från konjunktiva var *Staphylococcus epidermis* och *S. pseudintermedius* vanligast med nio respektive sju isolat vardera. *Streptococcus canis*, *P. aeruginosa*, *Pasteurella* spp. och KNS sp. utgjorde bara ett enkelt isolat vardera (Sandanger et al., 2016). I detta fall verkar det därmed som att både frekvens och typ av bakterie skiljer något sig åt mellan de friska hundarna och de diagnosticerade med keratomalacia på NMBU.

De bakterieisolat som förekom mest frekvent i författarnas studie var *S. pseudintermedius*, *S. canis* samt *P. aeruginosa*. *S. pseudintermedius* räknas till de opportunistiska bakterierna och återfinns typiskt i hud och slemhinnor (Hendrix, 2016; Kang et al., 2014). Bakterien är inte sällan inblandad i problematik som otiter och pyodermi hos hundar. Hur stor inblandning denna bakterie har i ögonlidelser är inte helt kartlagt i litteraturen (Kang et al., 2014). För att åter igen referera till de friska hundarna som blev undersökta i Oslo-regionen blev *S. pseudintermedius* även isolerad som den vanligaste bakterien hos dessa (Sandanger et al., 2016). Vid hudinfektioner har man sett att bakterien producerar exfoliativt toxin som förstör

desmosomer och cell-till-cell förbindelsen, för att så invadera. Denna egenskapen har blivit föreslagen som orsak till att bakterien även kan framkalla okulära infektioner (Kang et al., 2014).

S. canis, som stod för näst flest av bakterieisolaten, hör också till en av de opportunistiska bakterierna som bland annat återfinns hos hundar. Bakterien finns naturligt i reproduktionsvägarna, tonsiller och örongångarna. Den har också identifierats i samband med tillstånd som sepsis, otiter, pyometra, pyodermier, luftvägsinfektioner och urinvägsinfektioner. Med andra ord ofta i förbindelse med slemhinnor (Kruger et al., 2010). Dessutom har den registrerats vid tillstånd som endokardit och septikemi (Enache et al., 2020). *S. canis* har som tidigare nämnts även isolerats vid okulära lidelser som keratiter och ulcer (Enache et al., 2020; Hewitt et al., 2020). Jämfört med friska individer vart bakterien bara dyrkad fram i en av 65 isolat (Sandanger et al., 2016). Så med grundlag av den jämförelsen kan det verka som att bakterien har en större prevalens bland hundar med smältande corneasår än de som har friska ögon. Något som är viktigt att bemärka sig i sammanhanget är att *S. canis* är en β -hemolytisk streptokock (Enache et al., 2020). Dessa har satts i samband med smältande corneasår (Statens legemiddelverk, 2014).

Med hjälp av gensekvensering har forskare funnit ut att *S. canis* har en hög diversitet av virulensfaktorer. Några av dessa är exoenzym och proteaser som skadar väv och kan bidra till nekrotisering. Bakterien har ett M protein som både skyddar bakterien mot fagocytering och hjälper till att invadera värdceller. Därtill kan den producera toxinen CAMP faktor och Streptolysin S. Streptolysin S tros interagera med andra virulensfaktorer som M protein och proteaser för att accelerera nekros (Richards et al., 2012).

Tsvetanova et al. fann 19%, tolv isolat, av β -hemolytiska streptokocker bland 63 positiva svaberprov. De β -hemolytiska streptokockerna var näst vanligast bakteriegruppen i deras studie

(Tsvetanova et al., 2021). I tillägg såg Hewitt et al. *S. canis* i 12 % av sina isolat (Hewitt et al., 2020). En amerikansk studie med hundar från universitet i Tennessee och ett i Florida hittade β -hemolytiska *Streptococcus* spp. i 17 % av kasusen (119 svaber) med bakteriell keratit (Tolar et al., 2006). Med stöd av dessa studier önskar författarna betona det viktiga poänget att *S. canis* verkar vare en viktig potentiell patogen bakterie, antingen primärt eller sekundärt, vid smältande corneasår.

Nästa bakterieart värd att diskutera är *Pseudomonas aeruginosa*. Trots att den anses som en opportunist är den omtalad som en av de mest virulenta corneapatogenerna (Hendrix, 2016). *P. aeruginosa* är likt β -hemolytiska streptokocker associerad med bland annat keratomalacia (Statens legemiddelverk, 2014). *P. aeruginosa* sekreterar olika proteaser; bland annat protease IV (PIV) som kan degradera proteiner. Proteiner som kan brytas ner är komplement, fribrinogen, plasminogen, immunoglobuliner och surfaktant protein. PASP kallas en annan protease producerad av *P. aeruginosa*, denna kan klyva kollagener och på så vis orsaka tapp av epithelium och efterföljande corneasår (Tsvetanova et al., 2021). Bakterien har pili som gör den kapabel att binda till proteiner i corneaepitelet och producerar en biofilm som gör den motståndskraftig mot fysisk bortrensning och antimikrobiella substanser. Den har framförallt god och snabb förmåga att adherera till skadade epitelceller i cornea (Hendrix, 2016). Som om det inte vore nog producerar *P. aeruginosa* minst två signifikanta matrix metalloproteinaser. Dessa kan attackera helixstrukturer på kollagen och ge upphov till fragment. Samtidigt interfererar den med värdens egna försvarsmekanismer genom att degradera komplementdelar, immunoglobuliner och interferoner. De har i tillägg påvisats vara i stånd att aktivera proMMPs (Hendrix, 2016). *P. aeruginosa* finns naturligt i jord, vatten och vegetation (Iglewski, 1996). Den har också isolerats från gastrointestinal-traktus, näs-och munhåla, könsvägar samt från konjunktiva hos friska djur (Seol et al., 2002). Med tanke på de

virulensmekanismer som just beskrivits och det faktum att bakterien är så pass vanligt förekommande i omgivningen, menar författarna att det är logiskt att den ses vid ögonlidelser; inte minst vid keratomalacia. Extra stor risk skulle kunna tänkas föreligga om hunden till exempel lider av distichiasis eller entropin som kan laga mikroskador på cornea och på så vis skulle kunna lägga till rätta för adherens av bakterien. Det har inte blivit studerat om något sådant samband föreligger i denna studie.

Antibiotikaresistens

Antibiotikaresistens fortsätter att vara ett dagsaktuellt tema med mycket fokus. I denna studie blev 80 isolat undersökta för resistens och uppvisade från 3,8 % till 52,5 % resistens mot penicillin, tetracyklin, fusidin, gentamycin, polymyxin och kloramfenikol. Av de grupper som testades mot antibiotikumet oxacillin uppvisade inget isolat resistens. Tidigare behandling med de olika antibiotikagrupperna hos patienterna blev inte undersökt i studien men kunde ha varit nyttig information. Inte minst för att en del av patienterna var hänvisningskasus till NMBU och därmed eventuellt redan stod på någon form av behandling från tidigare.

I terapianbefalningen från Statens legemiddelverk är fusidinsyra angiven som förstahandspreparat vid flera olika infektioner i ögat hos hund innan dyrknings svar med resistens svar föreligger (Statens legemiddelverk, 2014). Resistens mot fusidinsyra påvisades i 52,5 % av studiens undersökta isolat. I den nypublicerade studien av Tsvetanova et al. var resistens mot fusidinsyra uppvisat i 100 % för bland annat *P. aeruginosa*, β -hemolytiska streptokocker, koliforma bakterier och enterocoker. Samtidigt fann dem 30% resistens hos koagulase positiva stafylokocker (Tsvetanova et al., 2021). Detta ger goda indikationer för att dyrkning med efterföljande resistenstestning bör föreligga och att behandlingsval tas utefter detta.

Vid smältande corneasår är förstahandvalet enligt terapinabefalningen kloramfenikol ögondroppar i kombination med gentamicin ögondroppar, medan tobramycin ögondroppar uppges som andrahandsval fram tills dess att resistenssvar föreligger (Statens legemiddelverk, 2014). Av de 80 isolat som i studien hade testats mot gentamicin uppvisade tre isolat (3,8 %) resistens mot antibiotikumet. Åtta isolat var intermediära mot gentamicin. Bland de isolat som blev testade för resistens gentemot tobramycin skiljde sig bakterien *Streptococcus canis* ut, där sju av dess isolat var resistent medan de andra testade isolaten var sensitiva.

I författarnas studie visade en av 15 isolat med *Streptococcus canis*, resistens ovanför kloramfenikol. I studien av Tsetanova et al. visade motsvarande resistensbestämning resistens mot kloramfenikol i 12 % av de 17 testade β -hemolytiska streptokockisolaten (Tsvetanova et al., 2021). Det menar författarna understryker viktigheten av att undersöka denna typen av patienter för resistens då alla patienter följaktligen inte skulle svara på den rekommenderade behandlingssubstansen.

Som tidigare nämnts är *Pseudomonas* spp. vanligen resistent mot kloramfenikol (Statens legemiddelverk, 2014). Av de nio *P. aeruginosa*-isolaten som blev testade i studien var sju resistent mot kloramfenikol medan två var sensitiva. Gentamicin var dock samtliga sensitiva för. Detta stöttar därmed vad som står angivet som behandling i den norska terapianbefalningen hos patienter med keratomalacia (Statens legemiddelverk, 2014).

Studien ger också en indikation på att kombinationen kloramfenikol och gentamicin kan vara en fördelaktig kombination för att täcka de vanligt förekommande bakterierna vid smältande corneasår.

Staphylococcus pseudintermedius

Av studien *S. pseudintermedius*-isolat var 63,1 % resistenta mot penicillin, 21,0 % var tetracyklin-resistenta och 15,8 % resistenta mot kloramfenikol. Samtliga isolat var sensitiva för gentamicin. Gentamicin är som sagt förstahandsvalet fram tills resistensbestämning (Statens legemiddelverk, 2014). Därmed ser det ut att säkra behandlingen mot denna vanligt förekommande bakterie på såväl friska hundögon men som också kan vara en viktig opportunistisk patogen (Sandanger et al., 2016;van Duijkeren et al., 2011).

Min-Hee Kang et al. fann i sin forskning 70 % sensitivitet för kloramfenikol samt hög resistens mot tetracyklin (94 %) och penicillin (92 %) från 50 isolat med *S. pseudintermedius* (Kang et al., 2014). Liknande trend kan ses i författarnas studie även om resistensgraden mot tetracyklin här var 21,0 %.

Fusidinsyra är substansen som rekommenderas vid färska, okomplicerade corneasår utan tecken på var eller cellinfiltrat (Statens legemiddelverk, 2014). Vad gäller resistens mot fusidin uppvisade fyra av de 19 (21,0 %) testade isolaten resistens mot substansen. Detta korresponderar väl med en koreansk studie som fick fram att 27 % av *S. pseudintermedius*-isolaten var resistenta mot fusidinsyra bland hundar med pyodermi eller otit (Lim et al., 2020)

NORM-VET rapporten från 2008 (n= 185 isolat med *S. pseudintermedius*) redovisar hur det setts en ökning i resistens mot penicillin och fusidin hos *Staphylococcus pseudintermedius*, isolerade från hud- och öroninfektioner hos hundar jämfört med tidigare år (NORM-VET, 2009). Vidare omtalar denna rapport en studie där man noterat 70 % penicillin-resistens och 49 % fusidin-resistens hos *S. pseudintermedius* isolerade från norska hundar (Norström et al., 2009).

När det kommer till antibiotikumet tobramycin blev sex isolat med *S. pseudintermedius* resistenstestade, varav samtliga var sensitiva.

Streptococcus canis

S. canis visade sig att vara resistent för kloramfenikol hos 6,6 % och intermediär hos 20,0 % av isolaten i denna studien. Mot tobramycin var 46,0 % resistenta, mot gentamicin 13,3 % och mot fusidin var 13,3 % resistenta. Här föreligger några skillnader om man jämför med forskningsresultat från Hewitt et al. där *Streptococcus* sp. visade 100 % sensitivitet för kloramfenikol, 41,0 % sensitivitet för gentamicin och 6 % sensitivitet för tobramycin. Som ytterligare jämförelse fann studien i Storbritannien av Tsvetanova et al. bland de β -hemolytiska streptocockerna, resistens mot kloramfenikol i 12 % (av totala 17 isolat), mot gentamicin i 95 % (av totalt 18 isolat) och 100 % mot fusidinsyra. Tobramycin blev det inte utförd någon resistenstest mot (Tsvetanova et al., 2021). Vilka species som ingår i uträkningen av andelen resistent/sensitiv isolat bör uppmärksammas när dessa studieresultat jämförs. Men olikheterna i resultat kan också vara en återspeglning av geografiska skillnader lokalt, såväl som globalt, vilket också Hewitt et al. diskuterar i sin forskning (Hewitt et al., 2020). Författarna menar på bakgrund av dessa resultat att kombinationen kloramfenikol och gentamicin vill öka sannolikheten för att "träffa" *S. canis* om bakterierna hos patienten är resistent mot en av de två antibiotikumen. Men åter igen, resistensbestämning är den säkraste metoden för att uppnå riktig behandling.

Pseudomonas aeruginosa

Samtliga *P. aeruginosa*- isolat var sensitiva för tobramycin. Detta må anses som en stor fördel och av klinisk viktighet eftersom tobramycin är andrahandsvalet vid smältande corneasår (Statens legemiddelverk, 2014).

Som framgick i inledningen är *Pseudomonas* spp. generellt resistent mot kloramfenikol (Statens legemiddelverk, 2014). Av de nio testade isolaten med *P. aeruginosa* var majoriteten, sju stycken, resistent mot kloramfenikol. Detta styrker den kliniska rutinen att istället välja gentamicin vid inledande behandling av keratomalacia, som åtta av nio isolat var sensitiva för

och den sista var intermediär. I forskning från Hewitt et al. fann de för *P. aeruginosa* 98 % sensitivitet för gentamicin samt 100 % sensitivitet för tobramycin. Sensitiviteten för kloramfenikol var så låg som 20 % (Hewitt et al., 2020). Detta resultat stöttar författarnas studie med den höga kloramfenikol-resistensen hos *P. aeruginosa*.

***Pasteurella* spp.**

Studiens isolat med *Pasteurella* spp. var resistent mot gentamicin i 9 % av tillfällena. För kloramfenikol var *Pasteurella* spp. 100 % sensitiva. Mot fusidin påvisades 72,3 % resistens samt 9 % intermediär för densamma gruppen. Detta liknar resultaten från studien i USA, bland hundarna med ulcerativ keratit, där forskarna fann 94 % sensitivitet mot kloramfenikol och 94 % sensitivitet mot gentamicin hos 17 isolat med *Pasteurella* sp. (Hewitt et al., 2020). Tsvetanova et al. hade bara ett isolat med *Pasteurella multocida* forskningsmaterialet och denna var resistent mot fusidin.

Ögondroppar med kloramfenikol tycks därmed vara ett säkert val som behandling i de fall där *Pasteurella* spp. har inficerat corneasåret.

Resistens mot tre eller fler antibiotikum

För de fem vanligaste isolaten, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Streptococcus canis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella* spp. och KNS sp. blev den samlade resistensandelen mot tre eller fler antibiotikum 32,7 %. Bland isolat från hundar med ulcerativ keratit låg andelen med resistens mot tre eller fler antibiotikum på 34 % (Hewitt et al., 2020). Värt att notera var att samtliga isolat ingick i studien till Hewitt et al., och inte bara de fem vanligaste. Något som var av stor bemärkningsvärdighet i densamma artikeln var den drastiska ökning som kunde ses på dessa mätningar mellan 2016 och 2020; från 5 % år 2016 till 34 % år 2020. På grund av storleken på författarnas studie bland hundarna från NMBU har ingen granskning av motsvarande trend utförts.

Kirurgi och utfall medicinsk behandling

Kirurgiskasus

Totalt genomfördes kirurgi hos 13 av de 93 kasusen. Bland dessa kasus var det samlat påvisat nio bakterieisolat och åldersspannet bland patienterna sträckte sig från 10 månader till 15 år.

Jämfört med studiens totalt fem vanligaste isolat var det bara KNS sp. som inte blev isolerad hos någon av dessa kirurgiskasus. Bakterierna *Proteus sp.* och *Proteus mirabilis* blev endast dyrkade från två av operationskasusen och inte från någon annan av deltagarna i studien.

Tre av 13 operationspatienter hade isolat med *S. aureus* och tre patienter hade också isolat med *P. aeruginosa*. Tsvetanova et al. fann en samband mellan *Pseudomonas*- associerad keratomalaci och ökad risk för enukleation när de jämförde isolat och negativa svaberprov (Tsvetanova et al., 2021). I författarnas studie genomgick två av nio patienter med påvisad *P. aeruginosa* enukleation.

Förekomsten av brakycefala raser bland kirurgifallen, 69,0 %, var nästan lik som i den samlade populationen (66,7 %).

Alla variabler gör det utmanande att dra några konklusioner kring dessa patienter och bland annat kunde predisponerande faktorer varit undersökt närmare. Det är möjligt att det hade inverkan på allvarlighetsgrad och sjukdomens progression. Varaktigheten av sjukdomen innan patienten ankom NMBU är också okänd men kan ha spelat in i utfallet.

Medicinsk behandlingslängd

Vissa hundar kom aldrig på efterkontroll på NMBU, utan avklarade detta hos lokal veterinär.

I dessa fall saknades uppföljande journaler. Andra kom regelbundet på uppföljning och kontroller. Dagen då hundens ägare kunde avsluta behandling med antibiotika och serum, med undantag för lubrithal eller annan ögongel, blev i studien valt som avslut på

sjukdomsperioden. Därmed kunde inte alla kasus ingå i analysen för behandlingstid med medikamenter. För de kasus som blev analyserade blev genomsnittet på behandlingstiden 22,8 dagar, eller median 21,0 dagar. Eftersom dagen för avslutad behandling inte bara påverkas av processen i ögat, utan också av när ägare och behandlande veterinär har möjlighet för kontrolltid utgör detta osäkra mätningar. Tsvetanova et al. fann en median läkningstid på 14,0 dagar för hundar med keratomalacia och den längsta medianen blev registrerad för *Pseudomonas aeruginosa*-patienterna med 19,0 dagar (Tsvetanova et al., 2021). Motsvarande median i författarnas studie blev 26,0 dagar för *P. aeruginosa*- fallen.

Ett av kasusen som avvek väldigt i författarnas material till denna analys, var en som hade påvisad *S. pseudintermedius*. Denna hade 59 dagar till läkning och hade därmed deciderat längst behandlingstid i det utvalda materialet.

Smältande corneasår och brakycefala hundar

Av de 93 kasus som ingick i denna studie var 62 patienter av det som klassas som en brakycefal hundras. Denna övervikt av de brakycefala hundtyperna vid oftalmologisk lidelse samsvarar med vad man sett i andra studier där man undersökt förekomsten av ögonlidelse i förhållande till ras (O'Neill et al., 2020). Likaså sågs det fler av de brakycefala hundarna när brittiska forskare studerade lidelsen keratomalacia specifikt (Tsvetanova et al., 2021). Det kan resoneras brett kring vad detta skulle kunna bero på. Till följd av huvudskallens form är ögonhålan hos dessa hundar väldigt grund jämfört med orbitan hos de mesocefala eller dolikocefala skulltyperna (Gelatt & Whitley, 2011; Hamor, 2016). En grundare orbita skulle kunna innebära mindre skyddade ögon och detta skulle kunna förklara att de prominerande ögonen därmed blir mer utsatta för trauma med ulcer och eventuell efterföljande smältning av cornea som följd.

Den säregna ögonpositionen påverkar också hundarnas förmåga till att blinka och sprida tårfilmen över cornea. De brakycefala hundarna kan ha svårt att sluta ögonlocken helt när dem blinkar, logophthalmos, vilket kan leda till mindre effektiv lubrikation av cornea med ökad risk för lidelser så som corneaulcer (Plummer, 2015).

En studie som undersökte corneas innervering och sensitivitet hos hundar indikerade att brakycefala hundar har lägre corneasensitivitet jämfört med de mesocefala och dolikocefala raserna (Barrett et al., 1991). Nedsatt sensitivitet i cornea i kombination med anatomisk utsatt position måste ses som en uheldig kombination när det kommer till risken att skada ögat. Inte bara är ögonen mer utsatta när hunden luktar sig fram och undersöker omgivningen på grund av de prominerande ögonen; den brakycefala hunden uppfattar heller inte lika lätt när cornea berörs av något potentiellt skadligt objekt.

För att fortsätta på temat brakycefala raser undersökte en annan studie prevalensen av djupa versus ytliga sår bland hundar med diagnosen ulcerativ keratit. Konklusionen av studien blev att de brakycefala hundarna var mer benägna att drabbas av djupa corneasår än de icke brakycefala hundarna vid ulcerativ keratit (Iwashita et al., 2020). Om de trubbnosade raserna är mer utsatta för allvarligare ögonlidelser är det därmed sannolikt att också smältande corneasår skulle kunna vara mer frekvent hos de brakycefala hundarna.

Men för att tillskriva att den reella förekomsten av smältande corneasår bland de brakycefala hundarna är större än bland de icke brakycefala hundraserna hade det behövts en studie med fler kasus och som gärna innefattade ett större geografiskt område. En tänkbar felkälla till att de brakycefala hundarna kom sämre ut i denna studien skulle kunna vara ifall denna typ av hund är långt mer populär i en storstad, så som Oslo, än vad dem är i landsgenomsnittet. Var förekomsten av brakycefala hundar väldigt hög i området där studiedatan inhämtades kan det ha gett en falsk bild av att brakycefala hundar har större risk att drabbas av smältande corneasår. Det hade till exempel varit intressant att få ta del av NKKs register för hundar vars

ägare har bostadsadress i Oslo och på så vis se hur indelning av olika raser ser ut. Dock måste det tas med i beaktning att inte alla hundar registreras i NKK och det ger därmed inte en helt sann bild av hundpopulationen.

Klimat och årstid

Troligen kom majoriteten av patienterna som ingick i studien från geografiskt närliggande orter med övervikt på Oslo-området, även om inte hundarnas faktiska hemadress har varit måltavla för analys i denna studien. En del av patienterna skulle därmed kunna vara hänvisningskasus där veterinären på hemorten rekommenderat uppföljning från specialist. På humansidan har man i studier sett att den okulära mikrofloran varierar utefter patienters geografiska hemort (Grzybowski et al., 2017). I en stor spansk studie med över 4000 dyrkningsprov från humana konjunktiva såg forskare att klimatet påverkade förekomst och frekvens av bakterier. Förekomsten av antalet bakterier ökade när dagstemperaturen steg under april, maj och juni från 12 °C till 22 °C och luftfuktigheten höll sig mellan 45-60 % (Rubio, 2004). Liknande fynd gjordes i en studie på hundar i Beijing, Kina, där 480 svaberprov togs från konjunktiva på friska hundar samt 29 prov från hundar med ulcerativ keratit. Forskarna fann att mängden positiva dyrkningar ökade under våren och sommaren jämfört med höst och vinter. Högst antal positiva dyrkningar, 60 %, sågs i juli månad medan lägst antal positiva dyrkningar registrerades i januari; 30 % (Wang et al., 2008). I författarnas studie stiger antalet positiva dyrkningar från februari fram till maj, men har istället de högst registrerande antalet positiva dyrkningar i augusti med 17, 4 % (12/69). Januari kommer vid jämförelse inte ut som månaden med minst andel positiva dyrkningar utan det gör istället oktober med 2,9 % (2/69). Antalet bakterieisolat följde densamma fördelningen. Det som blir problematiskt vid jämförelse av årstid och klimat mellan olika studier är faktumet att dem är utförda på olika platser och därmed kan ha annat klimat för de

olika årstiderna. Mer riktigt blir då egentligen att se på temperatur och fuktighet istället för tid på året. Självklart spelar också antalet kasus in om slutsatser ska dras.

När det ses till hur många kasus med smältande corneasår som registrerades under de olika kalendermånaderna kan det se ut som en uppåtgående trend under våren för att så göra en dipp till sommaren under juni och juli. Där har författarna funderat på om detta faktiskt är en reell nedgång i förekomsten av smältande corneasår eller om det kan ha samband med att många reser iväg från Oslo under sommaren. När folk åker på semester och hundarna blir med är det naturligt i händelse av sjukdom att istället uppsöka den lokala veterinären på ferieorten. Augusti var den månad som kom ut med flest kasus, och kanske är det ett resultat av att många kommer tillbaka från sina semestrar och då önskar hjälp av specialist.

Styrkor och begränsningar med studien

Styrkor

Materialet till denna studie baserades på hundar, med ögonsjukdom, som uppsökt Veterinærhøgskolen NMBU:s smådyrsklinikk. Dessa har så träffat någon av universitets två oftalmologer inom veterinärmedicin. Att det är så få, och desamma veterinärerna som har undersökt hundarna bakom studiematerialet borde följaktligen ge bra grund för likvärdiga bedömningar och undersökningar. Svaberproven blev dyrkade och resistenstestade på samma laboratorium vilket kan tänkas ha en fördelaktig inverkan på precisionen. Ett spännande inslag har varit att en del av studiens fynd har kunnat jämföras mot friska hundar från cirka samma geografiska område tack vara den studie som blev gjord av veterinärstudenter som ett fördjupningsarbete i 2016 (Sandanger et al., 2016).

Begränsningar

ProfVet

I ProfVet finns inte djurets födelsedatum tillgängligt utan endast information om ålder i hela årtal. För att ta reda på vilken ålder hunden hade vid det aktuella besöket var det nödvändigt att göra en manuell uträkning där x antal år subtraherades från besöksdatumet. Därmed fick åldersdata en mindre exakt registrering och hundarna under ett år hade inte mer utfyllande information såvida det inte framgick i anamnesen.

Diagnoskoden "kornealsår, smeltende" blev essentiell för att få ingå i studien. Det kan vara en tillfällighet men 53 av kasusen härrörde från perioden 2018-2020 (en tidsperiod på tre år), medan de resterande 40 kasusen var från 2012-2017 (en tidsperiod på sex år). En orsak till detta kan vara att diagnoskoden inte användes lika konsekvent under åren innan 2018, att det var mindre vanligt att hänvisa dessa hundar, eller att det reellt sett förekom färre smältande corneasår i regionen dessa år. Datagrundlaget är troligen inte stort nog för att kunna visa något signifikant samband här.

Det fanns inga registrerade kasus med diagnosen "kornealsår, smeltende" innan 2012 i ProfVet. Teorier om varför det såg ut så skulle kunna vara att den aktuella diagnoskoden inte låg i journalsystemet eller att ProfVet inte användes som program på Smådyrsykehuset innan 2012.

Tilläggsliedelser

Bland kasusen i studien var det 63 ögon som hade registrerad tilläggsdiagnos i detsamma ögat som var afficerat av keratomalacia. Författarna har fått information om att det troligen är stora felkällor bakom detta tal. Detta grundas i att tilläggsdiagnoserna inte alltid blivit registrerade i densamma journalen som blev upprättad vid den akuta händelsen för smältande corneasår. Det kan ha funnits tidigare eller senare journaler där dessa fanns med, eller som information från hänvisande veterinär. Samtliga diagnoskoder för varje enskild patient kom inte automatiskt upp vid sökningarna efter patienterna med smältande corneasår. För att finna dessa hade det varit nödvändigt att leta efter äldre och nyare journaler för varje aktuell patient

och detta blev inte utfört i denna studie. Exempel på tilläggsdiagnoser som afficerade ögat var i studien entropion, distichiasis och KCS. KCS har föreslagits som en potentiell predisponerande faktor till ulcerativ keratit hos hundar (Tolar et al., 2006). Möjligen skulle samma antagelse kunna appliceras på hundar med smältande corneasår. Entropion är ett vanligt tillstånd hos vissa hundraser och hos de hundar där hår når cornea är defekter på cornea vanliga. Dessutom kan smärta göra att hunden orsakar själv-trauma mot ögat (Stades & van der Woerdt, 2013). På liknande sätt är det därför lätt att anta att hundar med entropion skulle vara mer utsatta för smältande corneasår jämfört med de utan entropion. Men igen, det las ingen vikt på att utforska detta i denna studie.

Föregående antibiotikabehandling

Som nämndes tidigare under kapitlet för negativa versus positiva dyrkningar är en av studiens begränsningar det faktum att det saknas information kring huruvida studiedeltagarna redan stod på eller nyligen behandlats med antibiotika innan de ankom till veterinär på smådjurskeshuset, NMBU. I personlig kommunikation med veterinär Tobias Revold, Diplomat ECVO, som arbetat med en del av dessa patienter framkommer det att sådan information kan vara en utmaning att ta fram. För att få någon vetskap om detta skulle det vara nödvändigt att gå in och läsa varje enskild patients journal grundligt. Dessutom är det inte alltid djurägaren själv, eller den som kommer med hunden, har kännedom om vad hunden fått eller får av behandling. Bland de hänvisade patienterna kommer inte heller alltid denna informationen fram och för att få kartlagt det hade i vissa fall varit nödvändigt att i efterhand kontakta rekvirerande veterinär eller djurägaren (personlig kommunikation via mail, 9. maj 2021).

Storlek studiepopulation

Studiematerialet motsvarar en väldigt liten och snäv del av Norges hundpopulation och generaliserbarheten från denna studie måste anses som begränsad. Hade man önskat en mer rikstäckande bild över bakterie - och resistensläget hos hundar med smältande corneasår borde fler hundar från olika geografiska platser i landet ingått. En sådan studie hade troligen behövt gå över flera år för att hinna samla in tillräckligt många patientkasus från en såpass specifik ögon diagnos. Då hade det också varit möjligt att jämföra variationer av bakterieförekomst genom årstiderna och mellan årtalen för diagnos.

Framtida rekommendationer

Det finns i dagsläget sparsamt med genomförda studier som avhandlar specifikt ögonlidelsen smältande corneasår hos hund. En del studier har tagit sig an att se på utfallet av olika kirurgiska metoder vid allvarliga ögonsjukdomar. Diagnoserna på patienterna som ingått i dessa studier har omfattat olika grader av corneaulcer; där vissa av deltagarna haft keratomalacia (Barros et al., 2005; Hansen & Guandalini, 1999; Ionascu et al., 2020). Majoriteten av de studier som gjorts enbart inriktat mot diagnosen smältande corneasår är kasusrapporter eller innehåller en relativt liten studiepopulation (Dutt, 2016; Famose, 2014; Pumphrey et al., 2011). I studier med en större studiepopulation har det i vissa fall inkluderats både katter och hundar (Ion et al., 2015; Pot et al., 2014). Författarna hittade dock en studie, som relativt sett var av större omfattning och där forskarna undersökt utfall av medicinsk behandling vid keratomalacia på hund (Guyonnet et al., 2020). Som tidigare omtalades har det dessutom nyligen publicerats en artikel från Storbritannien där studiematerialet bestod av hela 106 stycken hundar med smältande corneasår (Tsvetanova et al., 2021). Författarna menar att det hade varit intressant med en studie om smältande corneasår bland hundar där det även ingick en kontrollgrupp. Som framkom i inledning och diskussion har också friska hundögon en rik mikroflora och med hjälp av en kontrollgrupp

kan troligen fler slutsatser dras kring dess betydelse. Författarna uppmuntrar också till att en motsvarande studie blir gjord i framtiden för att kunna följa hur förekomsten av resistens utvecklas över tid.

Konklusion

Vanligaste förekommande bakterierna i dyrkningsproverna från hundarna i studien med smältande corneasår var *Staphylococcus pseudintermedius* (21,8 %), *Streptococcus canis* (17,2 %), *Pseudomonas aeruginosa* (10,3 %), *Pasteurella* spp. (8,0 %) och KNS sp. (8,0 %). Hos dessa bakterier uppvisades resistens till tre eller flera antibiotika hos 32,7 % av isolaten. I studien representerades en högre andel av kasusen av brakycefala hundraser jämfört med de mesocefala och dolikocefala hundtyperna. Flest bakterieisolat, 17 stycken, påvisades under augusti månad, som också var månaden med flest diagnosticerade patienter. På grund av studiens begränsade storlek och frånvaro av kontrollgrupp ska dess generaliserbarhet mot norska och internationella hundpopulationen ske med försiktighet. Studier med frisk kontrollgrupp och möjlighet att kontrollera utfallens signifikansnivå rekommenderas.

Tack till

Vi vill rikta ett stort tack till våra handledare Tobias Revold, Ernst-Otto Ropstad och Henning Sørum för generöst delgivande av kunskap och guidning genom arbetet med studiematerialet samt i den skrivande processen. Vi vill också tacka Stein Hanstad på NMBUs IT-avdelning för hjälp med att lösa svårigheter som varit kopplade till journalsystem och inloggning. Tack även till Hilde Søgne på NMBUs bibliotek som varit behjälplig i att finna artiklar och gett vägledning i bruk av Endnote. Sist, men inte minst, tack till Martina Sjöblom för ditt outtröttliga support med pivottabeller.

Summary

Title: Bacterial presence and antibiotic susceptibility in dogs with keratomalacia.

Authors: Maria Johansson, Henriette Kirkeby.

Supervisor: Ernst-Otto Ropstad and Tobias Revold, Department of Companion Animal Clinical Sciences, Henning Sørum, department of Paraclinical Sciences.

This retrospective study's objective was to collect data on bacterial presence and their antibiotic susceptibility in dogs with keratomalacia by reviewing medical records from NMBU's small animal hospital. 93 cases were included from 2012-2020; satisfying the inclusion criteria of a keratomalacia diagnosis combined with an antibacterial sensitivity profile result. 95 corneal swabs from 93 dogs with keratomalacia yielded 17 different bacterial genera as well as two swabs with unidentified mixed floras. 26 corneal culture results were negative (27.3 %).

Among the 69 positive isolates, 36.2 % needed enrichment to grow, 15.9 % grew very sparsely, 8.7 % sparsely, while only 13.0 % grew abundantly and 5.8 % very abundantly after direct inoculation. The most commonly isolated organisms were *Staphylococcus pseudintermedius* (21.8 %), *Streptococcus canis* (17.2 %), *Pseudomonas aeruginosa* (10.3 %), *Pasteurella* sp. (8.0 %) and CoNS (8.0 %).

Antibiotic susceptibility testing of 80 isolates, showed 52.5 % resistance to fusidic acid. Resistance to penicillin and polymyxin was 37.5 % each, while tetracycline-resistance was 17.5 %, chloramphenicol 10.0 % and gentamicin-resistance 3.8 %. No isolate showed oxacillin-resistance. 66.7 % of the study population were brachycephalic dogs. August was the single month accompanied by most patients, 17, diagnosed with keratomalacia.

Referenser

- Aukunuru, J., Chinnala, K. M. & Vimaladevi, M. (2008). Development and Evaluation of a Chloramphenicol Hypertonic Ophthalmic Solution. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 70: 66-70. doi: 10.4103/0250-474X.40334.
- Barrett, P. M., Scagliotti, R. H., Merideth, R. E., Jackson, P. A. & Alarcon Lazano, F. (1991). Absolute corneal sensitivity and corneal trigeminal nerve anatomy in normal dogs. *Progress in veterinary & comparative ophthalmology*, 1 (4): 245-254.
- Barros, P. S., Safatle, A. M., Godoy, C. A., Souza, M. S., Barros, L. F. & Brooks, D. E. (2005). Amniotic membrane transplantation for the reconstruction of the ocular surface in three cases. *Veterinary Ophthalmology*, 8 (3): 189-92. doi: 10.1111/j.1463-5224.2005.00391.x.
- Belknap, E. B. (2015). Corneal Emergencies. *Topics in companion animal medicine*, 30: 78-80.
- Bhardwaj Dutt, S. (2016). Managing melting corneal ulcers with conventional and autologous serum therapy- a report of 2 pugs. *Intas Polivet*, 17: 388-400.
- Blacklock, B. (2018). *Potential applications for corneal cross-linking in ophthalmology*. Tilgjengelig fra: <https://veterinary-practice.com/article/potential-applications-for-corneal-cross-linking-in-ophthalmology> (lest 20.04.2021).
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O. & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (1): 42-51. doi: 10.1038/nrmicro3380.
- Chow, D. W., Chau, Y., Yeung, W. K. & Westermeyer, H. D. (2015). In vitro evaluation of the inhibitory effect of canine serum, canine fresh frozen plasma, freeze-thaw-cycled plasma, and Solcoseryl™ on matrix metalloproteinases 2 and 9. *Veterinary Ophthalmology*, 18 (3): 229-33. doi: 10.1111/vop.12204.
- Clarridge, J. E., 3rd. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Rev*, 17 (4): 840-62, table of contents. doi: 10.1128/cmr.17.4.840-862.2004.
- Clode, A. (2013). Clinical pharmacology and therapeutics. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 1 *Veterinary ophthalmology*, s. 381-422.
- Couture, S., Doucet, M., Moreau, M. & Carrier, M. (2006). Topical effect of various agents on gelatinase activity in the tear film of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 9 (3): 157-64. doi: 10.1111/j.1463-5224.2006.00457.x.
- da Costa, A. X., Yu, M. C. Z., de Freitas, D., Cristovam, P. C., LaMonica, L. C., Dos Santos, V. R. & Gomes, J. A. P. (2020). Microbial Cross-contamination in Multidose Eyedrops: The Impact of Instillation Angle and Bottle Geometry. *Transl Vis Sci Technol*, 9 (7): 7. doi: 10.1167/tvst.9.7.7.
- Dartt, D. A. & Willcox, M. D. (2013). Complexity of the tear film: importance in homeostasis and dysfunction during disease. *Experimental Eye Research*, 117: 1-3. doi: 10.1016/j.exer.2013.10.008.
- de Oliveira, R. C. & Wilson, S. E. (2020). Descemet's membrane development, structure, function and regeneration. *Experimental Eye Research*, 197: 108090. doi: 10.1016/j.exer.2020.108090.
- Dutt, B. S. (2016). Managing Melting Corneal Ulcers with Conventional and Autologous Serum Therapy-A Report of 2 Pugs. *Intas Polivet*, 17 (2): 399-400.
- Edwards, S. G., Maggs, D. J., Byrne, B. A., Kass, P. H. & Lassaline, M. E. (2019). Effect of topical application of 0.5% proparacaine on corneal culture results from 33 dogs, 12 cats, and 19 horses with spontaneously arising ulcerative keratitis. *Vet Ophthalmol*, 22 (4): 415-422. doi: 10.1111/vop.12604.
- Ekapopphan, D., Srisutthakarn, A., Moonarmart, W., Buddhirongawatr, R. & Bangphoomi, N. (2018). Identification and antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from severe corneal ulcers of dogs in Thailand. *J Vet Med Sci*, 80 (8): 1259-1265. doi: 10.1292/jvms.18-0045.

- Enache, A. E., Mitchell, C., Kafarnik, C. & Waller, A. S. (2020). Streptococcus canis multilocus sequence typing in a case series of dogs with ulcerative keratitis. *Vet Ophthalmol*, 23 (2): 252-258. doi: 10.1111/vop.12714.
- Famose, F. (2014). Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in eight dogs. *Veterinary Ophthalmology*, 17 (5): 358-67. doi: 10.1111/vop.12085.
- Funderburgh, J. L., Funderburgh, M. L., Mann, M. M., Corpuz, L. & Roth, M. R. (2001). Proteoglycan expression during transforming growth factor beta -induced keratocyte-myofibroblast transdifferentiation. *Journal of Biological Chemistry*, 276 (47): 44173-8. doi: 10.1074/jbc.M107596200.
- Funderburgh, J. L., Mann, M. M. & Funderburgh, M. L. (2003). Keratocyte phenotype mediates proteoglycan structure: a role for fibroblasts in corneal fibrosis. *Journal of Biological Chemistry*, 278 (46): 45629-37. doi: 10.1074/jbc.M303292200.
- Fung, A. T., Tran, T., Lim, L. L., Samarawickrama, C., Arnold, J., Gillies, M., Catt, C., Mitchell, L., Symons, A., Buttery, R., et al. (2020). Local delivery of corticosteroids in clinical ophthalmology: A review. *Clin Exp Ophthalmol*, 48 (3): 366-401. doi: 10.1111/ceo.13702.
- Gelatt, K. N. & Whitley, D. R. (2011). Surgery of the orbit. I: Gelatt, K. N. & Gelatt, J. P. (red.) b. 1 *Veterinary ophthalmic surgery*, s. 51-88. Gainesville, Florida: Elsevier Saunders.
- Glenwood, G. G. & Edward, M. O. (2013). Physiology of the Eye. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 1 *Veterinary Ophthalmology*, s. 171-208. Philadelphia: Wiley-Blackwell.
- Gogova, S., Leiva, M., Ortilés, Á., Lacerda, R. P., Seruca, C., Laguna, F., Crasta, M., Ríos, J. & Peña, M. T. (2020). Corneoconjunctival transposition for the treatment of deep stromal to full-thickness corneal defects in dogs: A multicentric retrospective study of 100 cases (2012-2018). *Veterinary Ophthalmology*, 23 (3): 450-459. doi: <https://doi.org/10.1111/vop.12740>.
- Gould, D. & Pappasoulitis, K. (2013). Clinical Microbiology and Parasitology. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 1 *Veterinary ophthalmology*. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Grzybowski, A., Brona, P. & Kim, S. J. (2017). Microbial flora and resistance in ophthalmology: a review. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 255 (5): 851-862. doi: 10.1007/s00417-017-3608-y.
- Guyonnet, A., Desquillet, L., Faure, J., Bourguet, A., Donzel, E. & Chahory, S. (2020). Outcome of medical therapy for keratomalacia in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 61 (4): 253-258. doi: 10.1111/jsap.13118.
- Gwin, R. M., Lerner, I., Warren, J. K. & Gum, G. (1982). Decrease in canine corneal endothelial cell density and increase in corneal thickness as functions of age. *Investigate Ophthalmology & Visual Science*, 22 (2): 267-71.
- Gwin, R. M., Warren, J. K., Samuelson, D. A. & Gum, G. G. (1983). Effects of phacoemulsification and extracapsular lens removal on corneal thickness and endothelial cell density in the dog. *Investigate Ophthalmology & Visual Science*, 24 (2): 227-36.
- Halse, S. (2019). *Corneal ulcers: a superficial to deep review*. Tilgjengelig fra: <https://lakeshorevetspecialists.com/wp-content/uploads/2019/08/Corneal-Ulcers-A-Superficial-to-Deep-Review-Proceedings-Halse.pdf> (lest 10.04.2021).
- Hamor, R. E. (2016). *Orbital disease*. Tilgjengelig fra: <https://veteriankey.com/orbital-disease/> (lest 22.04.2021).
- Hansen, P. A. & Guandalini, A. (1999). A retrospective study of 30 cases of frozen lamellar corneal graft in dogs and cats. *Vet Ophthalmol*, 2 (4): 233-241. doi: 10.1046/j.1463-5224.1999.00084.x.
- Hassell, J. R. & Birk, D. E. (2010). The molecular basis of corneal transparency. *Experimental Eye Research*, 91 (3): 326-35. doi: 10.1016/j.exer.2010.06.021.
- Hellander-Edman, A., Makdoui, K., Mortensen, J. & Ekesten, B. (2013). Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis. *BMC Vet Res*, 9: 128. doi: 10.1186/1746-6148-9-128.
- Hellander Edman, A., Ström, L. & Ekesten, B. (2019). Corneal cross-linking (CXL)-A clinical study to evaluate CXL as a treatment in comparison with medical treatment for ulcerative keratitis in horses. *Vet Ophthalmol*, 22 (4): 552-562. doi: 10.1111/vop.12662.

- Hendrix, D. V. (2016). *Infectious organisms of ophthalmic importance*. Tilgjengelig fra: https://cvm.ncsu.edu/wp-content/uploads/2016/05/Hendrix_INFECTIOUS-ORGANISMS.pdf (lest 02.05.2021).
- Hewitt, J. S., Allbaugh, R. A., Kenne, D. E. & Sebbag, L. (2020). Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates From Dogs With Ulcerative Keratitis in Midwestern United States. *Front Vet Sci*, 7: 583965. doi: 10.3389/fvets.2020.583965.
- Hoehn, A. L., Thomasy, S. M., Kass, P. H., Horikawa, T., Samuel, M., Shull, O. R., Stewart, K. A. & Murphy, C. J. (2018). Comparison of ultrasonic pachymetry and Fourier-domain optical coherence tomography for measurement of corneal thickness in dogs with and without corneal disease. *The Veterinary Journal*, 242: 59-66. doi: 10.1016/j.tvjl.2018.10.008.
- Hossain, P. (2012). The corneal melting point. *Eye (Lond)*, 26 (8): 1029-30. doi: 10.1038/eye.2012.136.
- Iglewski, B. H. (1996). Pseudomonas. I: Baron, S. (red.) *Medical Microbiology*. Galveston (TX): The University of Texas Medical Branch at Galveston. Tilgjengelig fra: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8326/> (lest 12.04.2021).
- Ion, L., Ionascu, I. & Birtoiu, A. (2015). Melting keratitis in dogs and cats. *Agriculture and agricultural science procedia*, 6: 342-349.
- Ionascu, I., Argaseala, A. & Uzun, S. (2020). A new eye drop formulation used in the management of corneal ulcers in dogs and cats. *Agrolife scientific journal*, 9: 164-171.
- Iwashita, H., Wakaiki, S., Kazama, Y. & Saito, A. (2020). Breed prevalence of canine ulcerative keratitis according to depth of corneal involvement. *Veterinary Ophthalmology*, 23 (5): 849-855. doi: <https://doi.org/10.1111/vop.12808>.
- Joyce, N. C., Meklir, B., Joyce, S. J. & Zieske, J. D. (1996). Cell cycle protein expression and proliferative status in human corneal cells. *Investigate Ophthalmology & Visual Science*, 37 (4): 645-55.
- Kang, M. H., Chae, M. J., Yoon, J. W., Kim, S. G., Lee, S. Y., Yoo, J. H. & Park, H. M. (2014). Antibiotic resistance and molecular characterization of ophthalmic *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs. *Journal of veterinary science*, 15 (3): 409-15. doi: 10.4142/jvs.2014.15.3.409.
- Khan, Z. A., Siddiqui, M. F. & Park, S. (2019). Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics (Basel)*, 9 (2). doi: 10.3390/diagnostics9020049.
- Kim, J., Bae, J. & Kwon, Y.-h. (2013). Equine amniotic membrane transplantation in corneal perforation resulting from melting ulcer in a dog. *Journal of Veterinary Clinics*, 30: 41-44.
- Kruger, E. F., Byrne, B. A., Pesavento, P., Hurley, K. F., Lindsay, L. L. & Sykes, J. E. (2010). Relationship between clinical manifestations and pulsed-field gel profiles of *Streptococcus canis* isolates from dogs and cats. *Veterinary Microbiology*, 146 (1): 167-171. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.04.026>.
- Ledbetter, E. C. & Gilger, B. C. (2013). Diseases and surgery of the canine cornea and sclera. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 2 *Veterinary Ophthalmology*, s. 976-1037. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Lim, Y. J., Hyun, J. E. & Hwang, C. Y. (2020). Identification of fusidic acid resistance in clinical isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs in Korea. *Vet Dermatol*, 31 (4): 267-e62. doi: 10.1111/vde.12844.
- Lowbury, E. J. L., Ayliffe, G. A. J., Geddes, A. M. & Williams, J. D. (1998). Use of antibiotics and chemotherapeutic agents. I: Lowbury, E. J. L., Ayliffe, G. A. J., Geddes, A. M. & Williams, J. D. (red.) *Control of hospital infection*, s. 187-211. Boston, MA: Springer.
- Martínez, J. L. (2008). Antibiotics and antibiotic resistance genes in natural environments. *Science*, 321 (5887): 365-7. doi: 10.1126/science.1159483.
- Mescher, L. A. (2013). *Junqueira's Basic Histology*. 13 utg. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Munita, J. M. & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4 (2). doi: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.

- NORM-VET. (2009). *NORM-VET 2008. Usage of Antimicrobial Agents and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Norway*. . Tromsø/Oslo. Tilgjengelig fra: <https://unn.no/Documents/Kompetansetjenester,%20sentre%20og%20fagr%C3%A5d/NORM%20%20Norsk%20overv%C3%A5kingssystem%20for%20antibiotikaresistens%20hos%20mikrober/Rapporter/NORM%20NORM-VET%202008.pdf> (lest 06.05.2021).
- Norström, M., Sunde, M., Tharaldsen, H., Mørk, T., Bergsjø, B. & Kruse, H. (2009). Antimicrobial resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* in the Norwegian dog population. *Microb Drug Resist*, 15 (1): 55-9. doi: 10.1089/mdr.2009.0865.
- O'Neill, D., Pegram, C., Crocker, P., Brodbelt, D., Church, D. & Packer, R. (2020). Unravelling the health status of brachycephalic dogs in the UK using multivariable analysis. *Scientific Reports*, 10: 17251. doi: 10.1038/s41598-020-73088-y.
- Pelosini, L., Treffene, S. & Hollick, E. J. (2009). Antibacterial activity of preservative-free topical anesthetic drops in current use in ophthalmology departments. *Cornea*, 28 (1): 58-61. doi: 10.1097/ICO.0b013e318182ecf9.
- Pizzirani, S. & Gong, H. (2015). Functional Anatomy of the Outflow Facilities. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 45 (6): 1101-26, v. doi: 10.1016/j.cvsm.2015.06.005.
- Plummer, C. E. (2015). *Addressing Brachycephalic Ocular Syndrome in the Dog*. Tilgjengelig fra: <https://todaysveterinarypractice.com/wp-content/uploads/sites/4/2016/06/T1503F01.pdf> (lest 23.04.2021).
- Pot, S. A., Gallhöfer, N. S., Matheis, F. L., Voelter-Ratson, K., Hafezi, F. & Spiess, B. M. (2014). Corneal collagen cross-linking as treatment for infectious and noninfectious corneal melting in cats and dogs: results of a prospective, nonrandomized, controlled trial. *Veterinary Ophthalmology*, 17 (4): 250-260. doi: <https://doi.org/10.1111/vop.12090>.
- Pumphrey, S. A., Pizzirani, S. & Pirie, C. G. (2011). 360-degree conjunctival grafting for management of diffuse keratomalacia in a dog. *Vet Ophthalmol*, 14 (3): 209-13. doi: 10.1111/j.1463-5224.2010.00864.x.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. & Leonard, F. C. (2002). *Veterinary microbiology and microbial disease*. 1 utg. Oxford: Blackwell.
- Reygaert, W. C. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4 (3): 482-501. doi: 10.3934/microbiol.2018.3.482.
- Richards, V. P., Zadoks, R. N., Pavinski Bitar, P. D., Lefébure, T., Lang, P., Werner, B., Tikofsky, L., Moroni, P. & Stanhope, M. J. (2012). Genome characterization and population genetic structure of the zoonotic pathogen, *Streptococcus canis*. *BMC Microbiology*, 12: 293. doi: 10.1186/1471-2180-12-293.
- Rogers, C. M., Scott, E. M., Sarawichitr, B., Arnold, C. & Suchodolski, J. S. (2020). Evaluation of the bacterial ocular surface microbiome in ophthalmologically normal dogs prior to and following treatment with topical neomycin-polymyxin-bacitracin. *Plos one*, 15: 1-20. doi: 10.1371/journal.pone.0234313.
- Rubio, E. F. (2004). Climatic influence on conjunctival bacteria of patients undergoing cataract surgery. *Eye*, 18 (8): 778-784. doi: 10.1038/sj.eye.6701352.
- Samuelson, D. A. (2013). *Ophthalmic Anatomy. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 1 Veterinary Ophthalmology*, s. 39-171. Philadelphia: Wiley-Blackwell.
- Sandanger, M., Svendsen, E. & Wilhelmsen, S.-M. S. (2016). *Normal konjunktival bakterieflora hos friske hunder i Norge*. Norges miljø og biovitenskaplige universitet: Fakultet for veterinærmedisin og biovitenskap. Upublisert manuskript.
- Seol, B., Naglić, T., Madić, J. & Bedeković, M. (2002). In vitro antimicrobial susceptibility of 183 *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from dogs to selected antipseudomonal agents. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*, 49 (4): 188-92. doi: 10.1046/j.1439-0450.2002.00548.x.
- Singh, S. B., Young, K. & Silver, L. L. (2017). What is an "ideal" antibiotic? Discovery challenges and path forward. *Biochemical pharmacology*, 133: 63-73.

- Sridhar, M. S. (2018). Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian Journal of Ophthalmology*, 66 (2): 190-194. doi: 10.4103/ijo.IJO_646_17.
- Stades, F. C. & van der Woerd, A. (2013). Diseases and surgery of the canine eyelid. I: Gelatt, K. N., Gilger, B. C. & Kern, T. J. (red.) b. 2 *Veterinary Ophthalmology*, s. 844-845. Ames: Wiley Blackwell.
- Statens legemiddelverk. (2014). *Terapianbefaling: bruk av antibakterielle midler til hund og katt*. Tilgjengelig fra: https://legemiddelverket.no/Documents/Veterin%C3%A6rmedisin/Terapianbefalinger/Terapianbefaling_Antibakterielle%20midler%20hund%20og%20katt_2014_N.pdf (lest 20.04.2021).
- Sykes, J. (2017). *Streptococcus infections in dogs and cats- an underestimated pathogen*. Tilgjengelig fra: <https://www.vin.com/apputil/content/defaultadv1.aspx?pId=20539&id=8506228> (lest 23.03.2021).
- Teuchner, B., Wagner, J., Bechrakis, N. E., Orth-Höller, D. & Nagl, M. (2015). Microbial contamination of glaucoma eyedrops used by patients compared with ocular medications used in the hospital. *Medicine (Baltimore)*, 94 (8): e583. doi: 10.1097/md.0000000000000583.
- Tolar, E. L., Hendrix, D. V., Rohrbach, B. W., Plummer, C. E., Brooks, D. E. & Gelatt, K. N. (2006). Evaluation of clinical characteristics and bacterial isolates in dogs with bacterial keratitis: 97 cases (1993-2003). *J Am Vet Med Assoc*, 228 (1): 80-5. doi: 10.2460/javma.228.1.80.
- Tsvetanova, A., Powell, R. M., Tsvetanov, K. A., Smith, K. M. & Gould, D. J. (2021). Melting corneal ulcers (keratomalacia) in dogs: A 5-year clinical and microbiological study (2014-2018). *Vet Ophthalmol*. doi: 10.1111/vop.12885.
- Valdez-Garcia, J. E., Lozano-Ramirez, J. F. & Zavala, J. (2015). Adult white New Zealand rabbit as suitable model for corneal endothelial engineering. *BMC Research Notes*, 8: 28. doi: 10.1186/s13104-015-0995-1.
- van Duijkeren, E., Catry, B., Greko, C., Moreno, M. A., Pomba, M. C., Pyörälä, S., Ruzauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E. J., Torren-Edo, J., et al. (2011). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *J Antimicrob Chemother*, 66 (12): 2705-14. doi: 10.1093/jac/dkr367.
- Váradi, L., Luo, J. L., Hibbs, D. E., Perry, J. D., Anderson, R. J., Orenge, S. & Groundwater, P. W. (2017). Methods for the detection and identification of pathogenic bacteria: past, present, and future. *Chem Soc Rev*, 46 (16): 4818-4832. doi: 10.1039/c6cs00693k.
- Wang, L., Pan, Q., Zhang, L., Xue, Q., Cui, J. & Qi, C. (2008). Investigation of bacterial microorganisms in the conjunctival sac of clinically normal dogs and dogs with ulcerative keratitis in Beijing, China. *Vet Ophthalmol*, 11 (3): 145-9. doi: 10.1111/j.1463-5224.2008.00579.x.



Norges miljø- og
biovitenskapelige
universitet

Postboks 5003
NO-1432 Ås
67 23 00 00
www.nmbu.no