

Corneal Cross Linking (CXL) - en klinisk studie för att utvärdera CXL som behandlingsmetod vid hornhinnesar hos häst.

*Björn Ekesten, Anna Hellander-Edman och Lena Ström
Institutionen för kliniska vetenskaper, SLU, Uppsala.*

Bakgrund

Hornhinnesar är ett av de vanligaste ögonproblemen hos hästar och kan leda till varierande grad av synnedsättning eller till och med blindhet (Brooks 2002). Hornhinnesar blir lätt infekterade eftersom hästarnas stora ögon ständigt exponeras för bakterier och svampar i miljön (Nasissse and Nelms 1992, Brooks and Matthews 2007). Såren är i regel mycket smärtsamma och leder till försämrad djurvälstånd, nedsatt prestationsförmåga och ekonomiska förluster.

Vid hornhinnesar utan sårinfektion får hästen bli förebyggande lokal antibiotikabehandling, men i de fall där djurägaren inte klarar att behandla hästen hemma måste behandlingen ske på klinik. Vid mer omfattande och infekterade sår krävs frekvent medicinering och hästarna behandlas oftast stationärt på hästsjukhus. Behandlingen, som alltid inkluderar lokal behandling med antibiotika eller antimykotika kan pågå under veckor till en dryg månad. Den medicinska behandling exkluderar oftast hästen som livsmedelsproducerande djur vid senare slakt.

En vanlig komplikation till sår i hornhinnan hos häst är enzymatisk nedbrytning (smältning) av stromat som utgör huvuddelen av hornhinnan. Den enzymatiska nedbrytningen leder snabbt till en försämrad mekanisk hållfasthet och risk för att den förtunnade hornhinnan brister med allvarliga, synhotande komplikationer som följd. Även den enzymatiska smältningen behandlas i normalfallet mycket intensivt med ögondroppar som på olika sätt motverkar de nedbrytande enzymernas funktion. Behandlingen kräver ofta att hästen vårdas på djursjukhus.

Corneal Collagen Crosslinking (CXL) är en behandlingsmetod som idag används kliniskt inom humanvården för behandling av keratokonus (en försvagning av hornhinnan med åtföljande deformation) hos människa (Snibson 2010). Med ultraviolett ljus (UV-A) och riboflavin (vitamin B2) skapas starka tvärbindingar, vilket förstärker hornhinnans kollagenstruktur. CXL genomförs som en engångsbehandling, där hornhinnans epitel avlägsnas (om det inte finns ett sår), sedan droppas med riboflavin under 25 minuter och därefter belyses med UV-A (365 nm våglängd). Då UV-ljuset endast penetrerar 300 µm skadas inte ögats djupare liggande strukturer (Kohlhaas, Spoerl et al. 2006, Spoerl, Mrochen et al. 2007, Spoerl, Raiskup-Wolf et al. 2008, Dhaliwal and Kaufman 2009, Caporossi, Mazzotta et al. 2010).

In vitro försök har visat att UV-A/riboflavin-behandling har 3 huvudsakliga effekter: ökad styvhet (jämför med långvarigt solbränd hud), antimikrobiell effekt samt ökad resistens mot enzymatisk nedbrytning (Spoerl, Wollensak et al. 2004, Makdoui, Bäckman et al. 2010). På senare år har även CXL-behandling utan samtidig antibiotikabehandling utförts i Sverige med gott resultat på svårläkta, infektiösa hornhinneinflammationer och -sår hos människa (Makdoui, Mortensen et al. 2010, Morén, Malmsjö et al. 2010, Makdoui, Mortensen et al. 2011), varvid man drar nytta av att behandlingen inaktiverar de mikroorganismer som stör sår läkningen i hornhinnan.

Syfte

Studien avsåg att utvärdera en ny behandlingsform för stromala hornhinnesar hos häst genom att jämföra sårhäknings hos hästar behandlade med CXL med sårhäknings hos konventionellt behandlade hästar. Vår hypotes var att behandling av stromala hornhinnesar hos häst med CXL ger en kortare avläknings tid, minskad antibiotikaanvändning samt ger ett visuellt bättre slutresultat än konventionell behandling.

Material och metoder

Hästar

Tjugosex hästar (26 ögon), av olika raser och kön och med en ålder mellan 1 till 27 år, med diagnosen stromala hornhinnesar studerades med två behandlingsmetoder (behandling respektive kontroll). Behandlings- och kontrollgrupperna delades in i två undergrupper var, hästar med stromala hornhinnesar med sårinfektion, respektive utan påvisbar sårinfektion (Tabell 1).

Tabell 1 – Hästar med och utan sårinfektion vid första undersökning i studien i de två behandlingsgrupperna,

	<i>Försöksgrupper med CXL-behandling</i>	<i>Kontrollgrupper med konventionell behandling</i>
<i>Utan sårinfektion</i>	6 hästar	4 hästar
<i>Med sårinfektion</i>	7 hästar	9 hästar

Patientmaterialet till studien rekryterades från ATG:s Hästsjukhus (numer Nya Skara Djursjukhus) i Skara och från Universitetsdjursjukhuset, SLU, Uppsala.

Inklusionskriterier för studien var:

- Häst med stromalt hornhinnesar med eller utan sårinfektion som ej står på behandling med antibiotika.
- Häst med stromalt hornhinnesar som givits annan behandling i fält.

Exklusionskriterier för studien var:

- Häst med stromalt hornhinnesar med främmande kropp, felväxande ögonhår, felställning av ögonlock eller liknande primär eller predisponerande orsak till ulcus.
- Häst med djupgående stromala hornhinnesar där mindre än 400 µm av cornea fanns kvar.

Göteborgs Djurförsöksetiska nämnd (Dnr 246-2010) har godkänt användningen av hästar i denna studie. Alla hästägare har godkänt medverkan till deltagande i studien.

Undersökningsprotokoll

För att få en likvärdig bedömning mellan de två klinikerna som ingår i studien har ett gemensamt undersökningsprotokoll utarbetats. Hornhinnesar har vidare dokumenterats fotografiskt vid varje undersökningstillfälle och regelbundna samordningsmöten har ägt rum mellan de ingående forskarna för uppföljning av undersökningsprotokoll och harmonisering av bedömningar.

Provtagning för cytologi, bakteriologi, mykologi samt för herpesvirus (EHV-2) utfördes på varje häst före behandling. För bakterieodling och resistensbestämning togs prover från både hornhinnesar och från bindehinnan. Undersökning med spaltlampa och oftalmoskop samt diagnos-

tisk infärgning med fluorescein följt av fotografering samt mätning av sår diameter och uppskattning av sår djup genomfördes på alla patienterna. Inledningsvis uppskattades djupet på såren i % av angränsande hel hornhinnan medan sår djupet i den senare delen av studien uppmättes med pachymeter (ultraljudsmätning) (Tomey AL-4000, Tomey Corp., Nagoya, Japan).

Uppföljning av ögonundersökningar har skett med täta kontroller initialt under stationärvård (för att kunna följa inledningen av sår läkningsförloppet tillräckligt frekvent), samt därefter polikliniskt när säkerställd förbättring med tecken på läkning skett, dvs. minskning av sårets/infiltratets storlek. Såret definierades som läkt då synbar färgning med fluorescein ej längre erhöles vid undersökning med spaltlampa och exciterande, blått ljus, d v s då ett flerlagrat epitel åter täckte hornhinnan.

Behandlingsprotokoll för CXL gruppen

De hästar som gavs CXL-behandling sederades med 0,01 mg/kg detomidin (Domodin vet, 10 mg/ml, Novartis Animal Health, Köpenhamn, Danmark) samt 0,02 mg/kg butorfanol (Butador vet 10mg/ml, Vetoquinol Scandinavia, Åstorp) som sedan underhölls i ett symtomatiskt detomidindropp, 10 mg detomidin i 1000 ml fysiologisk koksaltlösning (Natriumklorid, Fresenius Kabi, Uppsala). Den motoriska nerven (n. auriculopalpebralis) till ögonlocket blockerades med en subkutan injektion av lokalanestetikum. Ett yanestetikum, oxibuprokain (Oxibuprokain Chauvin, 20 mg/ml, Bausch & Lomb Nordic AB, Stockholm), droppades på hornhinnan och därefter avlägsnades med en skalpell det ytliga epitellaget i hornhinnan 1-2 mm runt hornhinnensår.

Ett modifierat Dresden-protokoll användes för CXL-behandlingen. Ögat droppades med en isoton riboflavinlösning 0,1 % (Medio-cross®, riboflavin > 0.1% i dextran 500 20% (Medio-cross GmbH, Neudorf, Tyskland) varannan minut under 30 minuter för att mätta det de-epitelialiserade området av hornhinnan med riboflavin. Området bestrålades därefter under 30 minuter med UVA (365 nm, 3,0 mW/cm²; CCL-365, Peschke Meditrade Huenenberg, Schweiz) och droppades fortsatt med riboflavinlösningen var 5e minut. Ögat hölls öppet med hjälp av ett ögonspekulum för häst. Diodlampan kalibrerades före varje behandling och ljuskäglan anpassades till sårets storlek. För postoperativ smärtlindring gavs flunixinmeglumin 1,1 mg/kg (Cronyxin vet 50 mg/ml, Ceva Animal Health, Lund) intravenöst och därefter som uppföljande symtomatisk smärtlindring och antiinflammatorisk behandling vid behov.

I CXL-gruppen sattes konventionell behandling in omedelbart vid försämring av tillståndet alternativt efter 7 dagar om ingen förbättring av tillståndet sågs. Då preliminära resultat gav vid handen att enbart CXL-behandling inte förmådde eliminera de bakterier som hade/kunde infektera hornhinnensår, bedömdes det inte rimligt att låta ytterligare patienter få CXL-behandling utan samtidig antibiotikabehandling, vilket gjorde att behandlingsprotokollet ändrades. Hos hästar i CXL-gruppen där bakterier påvisats vid cytologi och där mycket stark klinisk misstanke om bakteriell infektion förelåg, sattes lokal antibiotikabehandling in på samma sätt som i kontrollgruppen i anslutning till CXL-behandlingen.

Behandlingsprotokoll för kontrollgruppen

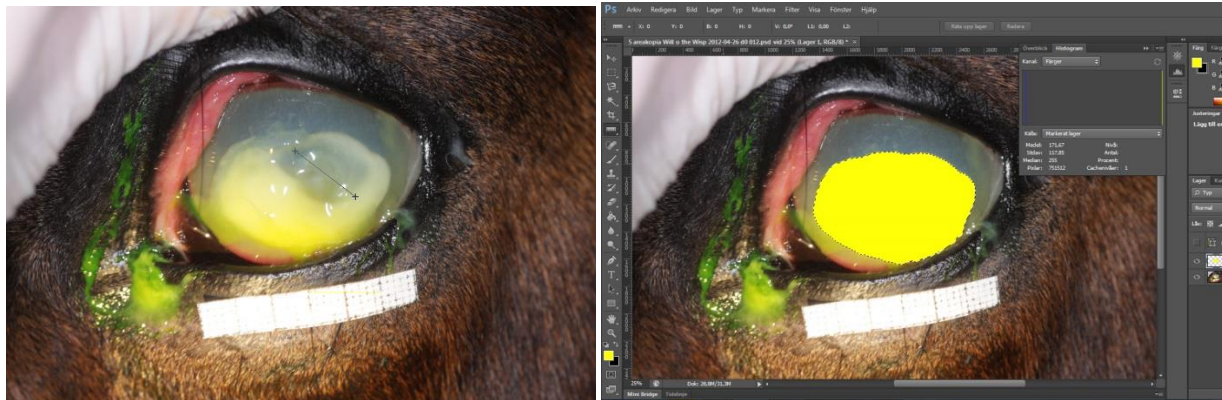
Kontrollgruppen behandlades enligt upprättat standardprotokoll med förebyggande lokal antibiotika (ej infekterade sår) eller lokal antibiotika/antimykotika enligt provsvar (infekterade sår).

Medicinsk topikal behandling av enzymatisk smältning bestod av autologt serum i EDTA (1,8 mg/ml serum, eg. serum tillsatt EDTA-rör)

Eventuell samtidigt förekommande uveit (inflammation i ögats djupare strukturer) behandlades i både grupperna med allmän antiinflammatorisk behandling (flunixin 1,1 mg/kg) samt topikal atropin (Isopto-Atropin 1%, S.A. Alcon-Couvreur N.V., Belgien).

Utvärdering av sårarea och sårvolym

Arean på hornhinnensåren uppmättes med ett vanligt bildbearbetningsprogram (Adobe Photoshop CS6, Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA) på de fotografier som tagits vid varje undersökningstillfälle och där en millimeterskala placerats under hästens öga för att ytan skulle kunna räknas om i mm² (Figur 1). För att erhålla en uppskattning av sårvolymen multiplicerades arean med uppskattat eller uppmätt djup. I de fall då det förelåg uppenbara skillnader i djup mellan olika delar av såret, räknades volymen för varje del av såret ut och adderades sedan till en totalvolym. För att reducera variationen i area- och volymsberäkningar har samtliga bilder analyserats av samma veterinär (AHE).



Figur 1 – Bearbetning av foton för att beräkna area och volym av hornhinnensår.

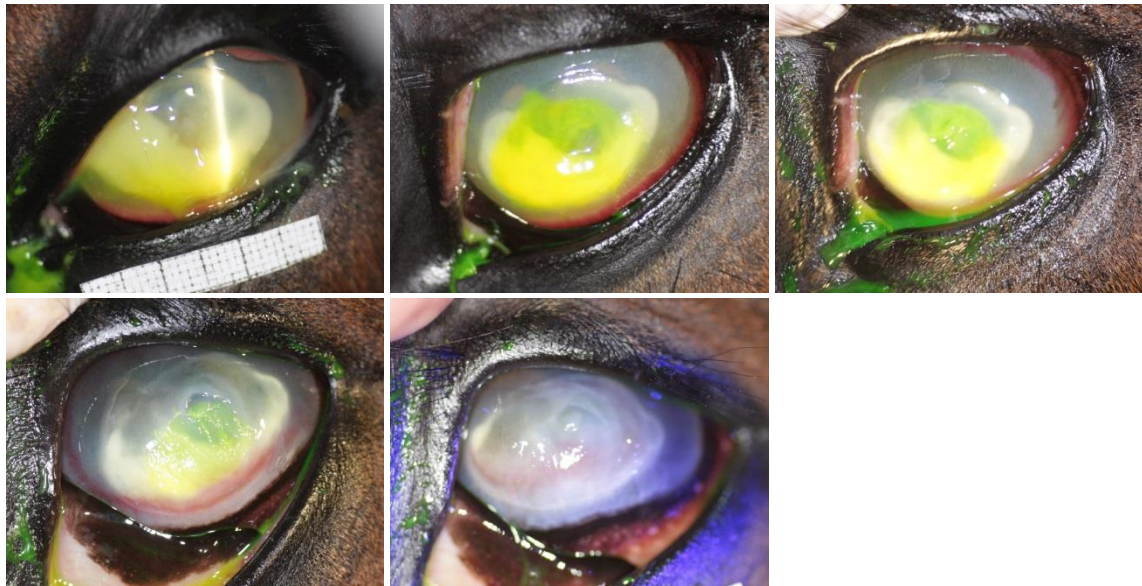
Statistisk bearbetning

Deskriptiva mått har angivits som medelvärden \pm standardavvikelser. Vid jämförelser mellan CXL- och kontrollgruppen har Wilcoxon's test använts. P-värden $< 0,05$ har bedömts vara signifikanta.

Resultat

Tjugosex hästar (26 ögon) behandlades för stromala hornhinnensår. Hos 16 av hästarna påvisades bakterier vid cytologi och bakterieodling. Hos en häst påvisades infektion med svamp. Vid inget tillfälle påvisades infektion med EHV2. Hästarna med bakteriellt infekterade hornhinnensår var fördelade mellan CXL-gruppen (7 hästar) och kontrollgruppen (9 hästar).

Smältning av hornhinnans stroma förelåg initialt hos 10 av de 26 hästarna, fördelade lika mellan CXL- och kontrollgrupp. Fördelat mellan undergrupperna förelåg smältning totalt hos 7 infektiösa och 3 icke-infektiösa hornhinnensår. Symtom på smältning upphörde inom 24 timmar efter en engångsbehandling med CXL (figur 2) respektive efter frekvent medicinsk behandling under det första dygnet efter diagnos.



Figur 2 – Häst nr 5 fotograferad dag 0, +2, +5, +12 och +22 efter en CXL-behandling. Bildserien visar läkningsförloppet av ett smältande hornhinnesar med upphörd smältning dag +2 samt negativt fluoresceintest dag +22.

CXL-gruppen

Tretton hästar behandlades initialt med CXL (tabell 2), en engångsbehandling som kräver en arbetsinsats av veterinär och djursjukskötare totalt motsvarande 3-4 mantimmar. Sju av hästarna var helt obehandlade vid remittering till djursjukhuset, resterande 6 hade fått någon form av lokal antibiotika och remitterades på grund av uteblivet eller dåligt terapivar.

Tolv av 13 hornhinnesar behandlade med CXL läkte inom 2-29 dagar (medelvärde \pm standardavvikelse: $15,2 \pm 8,0$ dagar; median: 15,5 dagar). En häst utvecklade perforation av hornhinnan och avfördes då ur studien.

Av de primärt icke-infektiösa hornhinnesar läkte 3 av 6 efter CXL-behandling, utan någon annan topikal ögonbehandling. Medicinsk behandling inkluderande topikal antibiotika initierades på resterande 3 hästar med icke-infektiösa hornhinnesar. På en av dessa hästar påbörjades kompletterande topikal antibiotika samma dag som CXL behandling utfördes på grund av den omfattande vävnadsskadan i ögat, på de övriga 2 initierades behandlingen med topikal antibiotika på grund av klinisk misstanke om sårinfektion.

I sju hornhinnesar påvisades bakteriell infektion. Topikal antibiotika behövde initierades på samtliga dessa inom 14 dagar efter CXL-behandlingen, till följd av klinisk försämring eller utebliven sårhäkning. På tre av hästarna med infektiösa hornhinnesar påbörjades antibiotikabehandling samma dag som utförd CXL, då cytologi visade på bakteriell infektion och vävnadsskadan var så omfattande att risken för komplikationer bedömdes vara alltför stor utifrån erfarenheterna från den inledande delen av studien. Det bör noteras att i 3 fall kunde samma bakterie påvisas 4, 5 respektive 14 dagar efter utförd CXL-behandling som påvisats i hornhinnesar och i konjunktiva innan behandlingen.

Tabell 2 – Anamnes, signalement, fynd vid provtagning och kompletterande medicinska behandlingar hos hästarna som behandlades med CXL. Värt att notera är att tre av hästarna med stromala hornhinnesor inte behövde behandlas med antibiotika efter CXL-behandlingen.

ANAMNES OCH SIGNALEMENT			KLINISK UNDERSÖKNING	PROVTAGNING				INSATT BEHANDLING POST CXL		AV-LÄKNING
Häst nr	Ras	Sjukdomsduration	Smältning	Cytologi cornea d0 pre cxl	Bakt cornea d0 precxl	Bakt konjunktiva d0 precxl	Uppföljande provtagn cxl d+x	Ögonbehandling	Systemisk behandling	Fluoresc. neg.
1	Sv halvblod	<24 h	Nej	Rikl. neutrofiler Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	Nej	Nej	D 0 flunixin	D+2
2	Vbl travare	<24 h	Nej	Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	Nej	Nej	D 0 flunixin	D+6
3	Vbl travare	<24 h	Nej	Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	Nej	Nej	D 0 flunixin	D+7
4	Sv halvblod	2 d	Nej	Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	D+3 ej bakt	D+3 kloramfenikol, serum, atropin	D 0 flunixin	D+11
5	Arabkorsning	1 d	Ja	Rikl. neutrofiler Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	Nej	D0 kloramfenikol, serum, atropin	D 0 flunixin, penicillin	D+22
6	New Forest	1 d	Ja	Rikl. neutrofiler Ej bakt	Ej bakt	Ej bakt	D+8 ej bakt	D 0 atropin. D+4 serum D+8 kloramfenikol	D 0 flunixin D+8 penicillin	D+22
7	Am. Quarter	3 d	Nej	Rikl. neutrofiler Kockoida bakt	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	Nej	D 0 atropin D+4 bensylpenicillin, serum	D 0 flunixin D+4 penicillin	D+15
8	Islandshäst	3 d	Nej	Rikl. neutrofiler Kockoida bakt	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	D+4 β-hemolys. strept.	D 0 atropin D+4 kloramfenikol, serum	D 0 flunixin D+4 penicillin	D+29
9	Vbl travare	7 d	Nej	Rikl. neutrofiler Kockoida bakt	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	D+5 hemolys. strept. β-	D 0 atropin D+5 kloramfenikol, serum	D 0 flunixin D+5 penicillin	D+16
10	Vbl travare	>10 d	Nej	Rikl. neutrofiler Ej bakt.	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	D+14 β-hemolys. strept.	D+3 atropin D+14 bensylpenicillin	D 0 flunixin	D+21
11	Sv halvblod	6 d	Ja	Rikl. neutrofiler G+kocker	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	Nej	D 0 kloramfenikol, serum, atropin	D 0 flunixin, penicillin	D+11
12	Vbl travare	1 d	Ja	Rikl. neutrofiler G+kocker	β-hemolyserande streptokocker	β-hemolyserande streptokocker	Nej	D 0 penicillin, serum, atropin	D 0 flunixin, penicillin	D+21
13	Sv halvblod	1 d	Ja	Rikl. neutrofiler Spars. stavar	Ospezifisk blandflora	Sparsamt bacillus cereus	D+22 enterobacter cl.	D 0 kloramfenikol, serum, atropin	D 0 flunixin, penicillin	-

Kontrollgruppen

Tretton hästar behandlades med konventionell medicinsk behandling bestående av topikal antibiotika, atropin, serum samt systemisk flunixin (tabell 3). Till 11 av hästarna gavs även systemiskt penicillin, då de bedömdes vara djupa stromala sår där risk för perforation förelåg. Nio av 12 provtagna hornhinnesor i kontrollgruppen var positiva vid bakterieodling från horn- och bindehinna. Alla hornhinnesor i kontrollgruppen läkte inom 6-42 dagar.

Jämförelser mellan CXL- och kontrollgruppen

Som framgår av tabell 4 förelåg inga statistiskt signifikanta skillnader mellan CXL- och konventionellt behandlade hästar, vare sig när det gäller sårens utbredning eller volym före behandling. Även om den genomsnittliga tiden till fluoresceinnegativitet var kortare i CXL-gruppen jämfört med kontrollgruppen var skillnaden inte signifikant. Den genomsnittliga minskningen av sårarean eller sårvolymen per dag efter insatta behandlingar i studien var också slående lika mellan grupperna.

Tabell 3 – Anamnes, signalement, fynd vid provtagning och kompletterande medicinska behandlingar hos hästarna som enbart fick medicinsk behandling (kontrollgruppen).

ANAMNES OCH SIGNALEMENT			KLINISK UNDERSÖKNING	PROVTAGNING				INSATT BEHANDLINGFRÅN DAG 0		AVLÄKNING
Häst nr	Ras	Sjukdoms duration	Smältning	Cytologi cornea d 0	Bakt cornea d0	Bakt konjunktiva d0	Uppföljande provtagning d+x	Ögonbehandling	Systemisk behandling	Fluoresc. neg.
14	Vbl travare	1 d	nej	Rikl. neutrofiler	Neg.	Neg.	D+3 neg	Kloramfenikol, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+10
15	Sv halvblod	3 d	ja	Rikl. neutrofiler	Neg.	Neg.	Nej	D 0 gentamicin, serum, atropin D+5 kloramfenikol fucidin D+13	Flunixin, penicillin D+28 dexadreson	D+22
16	Korsnings-ponny	10 d	nej	Rikl. neutrofiler	Neg.	Neg.	D+3 neg	Ciprofloxacin, serum, atropin	Flunixin	D+6
17	Vbl travare	42 d	nej	Måttl. neutrofiler	Neg.	Neg.	D+4 neg	Ciprofloxacin, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+6
18	Sv halvblod	3 d	ja	Rikl. neutrofiler Stavår	Ospecifik blandflora	Ospecifik blandflora	D+3 neg	D 0 ciprofloxacin, serum, atropin tobramycin, serum, atropin D+1	Flunixin, penicillin D 0 dexadreson	D+21
19	Islandshäst	10 d	nej	Spars. neutrofiler Rikl. kocker	β -hemolyserande streptokocker	β -hemolyserande streptokocker	D+3 β -hemolys. streptokocker	Ciprofloxacin, serum, atropin	D 0 flunixin D+7 penicillin	D+32
20	Islandshäst	3 d	nej	Rikl. neutrofiler Rikl. kocker	α -hemolyserande streptokocker	Ospecifik blandflora	D+3 enst. kocker Neg. baktodling	D 0 ciprofloxacin, serum, atropin + bensylpc från d+1 D+6 kloramfenikol, bensylpc, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+29
21	Eng. fullblod	7 d	nej	Måttl. neutrofiler Rikl. kocker	Moraxella	Ospecifik blandflora	D+2 neg	Kloramfenikol, serum, atropin	Flunixin	D+15
22	Vbl travare	2 d	ja	Måttl. neutrofiler	Pseudomonas	Pseudomonas	Spars. pseudomonas	Tobramycin, bensylpc, serum, atropin, d 0 - d+2 även EDTA	Flunixin, penicillin	D+7
23	Vbl travare	10 d	ja	Rikl. neutrofiler Rikl. kocker	Moraxella	Moraxella	Nej	Ciprofloxacin, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+21
24	Sv halvblod	14 d	nej	Rikl. neutrofiler Rikl. kocker	β -hemolyserande streptokocker	β -hemolyserande streptokocker	D+3 neg	Kloramfenikol, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+13
25	Connemara	1 d	ja	Rikl. neutrofiler Kocker o stavar	Actinobacillus	Neg.	Nej	Ciprofloxacin, bensylpenicillin, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+35
26	Islandshäst	10 d	nej	Måttl. neutrofiler Svamphyf. o bakt.	Aspergillus	Neg.	Nej	Kloramfenikol, natamycin, serum, atropin	Flunixin, penicillin	D+42

Tabell 4 – Jämförelser mellan hornhinnensårens utbredning och substansdefektens storlek vid inklusion i studien, samt tid till fluoresceinnegativitet och genomsnittlig minskning av sårarea och sårvolym mellan CXL- kontrollgrupperna. Resultaten anges som medelvärden \pm std,

	Kontrollgrupp	CXL-grupp	p-värde
Sårarea [mm ²]	87,9 \pm 69,1	85,2 \pm 92,4	0,72
Sårvolym [mm ³]	20,7 \pm 15,6	28,2 \pm 39,4	0,78
Dagar till fluoresceinnegativitet	19,9 \pm 11,8	15,2 \pm 8,0	0,44
Minskning av sårarea [mm ² /dygn]	5,6 \pm 5,2	5,7 \pm 4,4	0,81
Minskning av sårvolym [mm ³ /dygn]	1,4 \pm 1,1	1,6 \pm 1,7	1,00

Diskussion

CXL kan på ett säkert och relativt enkelt sätt genomföras på stående, sederad häst (Hellander-Edman, Makdoui et al. 2013). Med den utrustning som vi haft tillgång till, kräver en engångsbehandling en arbetsinsats som motsvarar 3-4 mantimmar. En nyare typ av utrustning, accelere-

rad CXL, minskar behandlingstiden avsevärt, även om det idag är osäkert om den nyare utrustningen har samma effekt när det gäller att avdöda mikroorganismer (Bäckman, Makdoui et al. 2013).

Vi bedömer att CXL inte bör användas som enda behandling på infekterade eller misstänkt infekterade hornhinnesor på häst. Även om det i de flesta falls sågs en initial förbättring hos de hästar som enbart behandlades med CXL, tillstötte kliniska symtom på onormal eller försämrad sårhäkning efter 3-4 dagar. I 4 av fallen sågs en sekundär bakteriell infektion eller bakteriell reinfektion. Det finns tecken såväl på att CXL-behandlingen hos vissa patienter med djupa infiltrat, opak hornhinna och omfattande vävnadsdestruktion förmodligen inte förmådde penetrera tillräckligt djupt och därmed avdöda alla bakterier, som att samma bakterie förekommit både lokalt i hornhinnesor och bindehinnan och att bindehinnan efter CXL-behandlingen fungerat som en reservoar varifrån bakterierna återigen kunnat infektera hornhinnesor. Detta har gjort att vi redan under studien valt att komplettera CXL-behandlingen med topikal antibiotikabehandling vid misstanke om sårinfektion av etiska skäl.

Avläkningstiden för hornhinnesor behandlade med CXL ± topikal antibiotikabehandling respektive konventionell, medicinsk behandling var likartat mellan grupperna. När den genomsnittliga avläkningstakten uttryckt i area- och volymminskning per dygn jämförs kan det konstateras att sårhäkningen fortskrider med nära nog identiskt samma hastighet i båda grupperna. Detta är i sig inte förvånande, eftersom t ex inväxten av hornhinneepitel över en defekt borde ske med samma hastighet oavsett behandling (under förutsättning att behandlingen inte påverkar epitelcellerna negativt). Studien visar alltså att CXL inte har någon negativ effekt på sårhäkningstakten på häst. En CXL-behandling ger också en i princip omedelbar stabilisering av hornhinnesor som komplicerats med enzymatisk smältning (Sporl, Raikup-Wolf et al. 2008). Trots att det modifierade Dresden-protokoll vi använde för CXL-behandling är relativt tidskrävande, kan topikal behandling med olika ögondroppar som motverkar enzymatisk smältning, och som kan vara mycket arbetskrävande under flera dygn, helt undvikas.

Subjektivt bedöms CXL-behandlade hornhinnesor läka med förhållandevis begränsad kvarstående ärrbildning. Då alla hästar ännu inte är uppföljda, kan vi idag inte ge ett säkert besked om det föreligger någon signifikant skillnad mellan CXL-behandlade och konventionellt behandlade hästar.

Sammanfattningsvis ser vi utifrån våra resultat att CXL är ett komplement till medicinsk behandling av hornhinnesor hos häst, särskilt sår som komplicerats med enzymatisk smältning. Vi kan vidare konstatera att en engångsbehandling med CXL inte ger en säker elimination av bakterier som infekterat eller kan infektera ett hornhinnesor på häst. CXL-behandlingen bör därför kompletteras med topikal antibiotikabehandling.

Det finns flera tecken som talar för att det föreligger djurslagsskillnader i penetration och effekt av CXL. Vi bedömer därför att studier av andra, likartade metoder för att åstadkomma korsbind-

ning av kollagen i hornhinnan och som ger bättre penetration i en hästhornhinna, samt gärna en kortare behandlingstid behöver göras.

Resultatförmedling till forskare och näring

Kommunikationskanal enl. ansökan	Utförda aktiviteter hittills
Ridsport, Sv. Veterinär- tidning, Hästsverige	Informationsmöten för hästpraktiker genomförda i Uppsala och Skara. Informationsartikel publicerad på flera internetsidor (t ex Hästsverige 2012-12-28, 2013-09-16, SLU 2012-12-27) samt tidningar: Ridsport, Svensk Veterinärtidning (2013), Veterinärmagasinet (2012-12-28), Skaraborgsbygden (2013-11-27), Västsvrige-Västerbygden (2013-01-04)
Vetenskaplig litteratur	Hellander-Edman et al. BMC Veterinary Research 2013, 9:128, http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/128 Preparation av manuskript gällande den kontrollerade studien pågår.
Forskningskonferenser, ECVO	Hellander-Edman, A., Mortensen, J. and Ekesten, B. Corneal cross-linking in 1 horses. Scientific Meeting of the ECVO, Trieste, Italy, May 25-26, 2012 [Abstract]. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2012.01047.x Hellander-Edman, A., Ström, L. and Ekesten, B. Corneal cross-linking (CXL) in comparison to medical treatment in horses with ulcerative keratitis. Scientific Meeting of the ECVO, London, UK, May 15-17, 2014 [Abstract].
Tidning EquiLibris, Sv. Veterinärtidning	Preparation av manuskript pågår.

Referenser

- Brooks, D. E. (2002). Equine ophthalmology. Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners, AAEP.
- Brooks, D. E. and A. G. Matthews (2007). Equine ophthalmology. Veterinary Ophthalmology. K. N. Gelatt. Ames, IO, Blackwell Publishing. **Volume II**: 1165-1274.
- Bäckman, A., K. Makdoui, J. Mortensen and S. Crafoord (2013). "The efficiency of cross-linking methods in eradication of bacteria is influenced by the riboflavin concentration and the irradiation time of ultraviolet light." Acta Ophthalmologica.
- Caporossi, A., C. Mazzotta, S. Baiocchi and T. Caporossi (2010). "Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study." Am. J. Ophthalmol. **149**(4): 585-593.
- Dhaliwal, J. S. and S. C. Kaufman (2009). "Corneal collagen cross-linking: a confocal, electron, and light microscopy study of eye bank corneas." Cornea **28**(1): 62-67.
- Hellander-Edman, A., K. Makdoui, J. Mortensen and B. Ekesten (2013). "Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis." BMC Veterinary Research **9**(1): 128.
- Kohlhaas, M., E. Spoerl, T. Schilde, G. Unger, C. Wittig and L. E. Pillunat (2006). "Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin an ultraviolet A light." J. Cataract Refract. Surg. **32**: 279-283.

Makdoumi, K., A. Bäckman, J. Mortensen and S. Crafoord (2010). "Evaluation of antibacterial efficacy of photo-activated riboflavin using ultraviolet light (UVA)." Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology **248**(2): 207-212.

Makdoumi, K., J. Mortensen and S. Crafoord (2010). "Infectious keratitis treated with corneal crosslinking." Cornea **29**(12): 1353-1358.

Makdoumi, K., J. Mortensen, O. Sorkhabi, B. E. Malmvall and S. Crafoord (2011). "UVA-riboflavin photochemical therapy of bacterial keratitis: a pilot study." Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol. **In press.**

Morén, H., M. Malmjö, J. Mortensen and A. Ohrström (2010). "Riboflavin and ultraviolet a collagen crosslinking of the cornea for the treatment of keratitis." Cornea **29**(1): 102-104.

Nasissé, M. P. and S. Nelms (1992). "Equine ulcerative keratitis." The Veterinary clinics of North America. Equine practice **8**(3): 537-555.

Snibson, G. R. (2010). "Collagen cross-linking: a new treatment paradigm in corneal disease - a review." Clinical & experimental ophthalmology **38**(2): 141-153.

Spoerl, E., M. Mrochen, S. Trokel and T. Seiler (2007). "Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. ." Cornea **26**(4): 385-389.

Spoerl, E., F. Raiskup-Wolf and L. E. Pillunat (2008). "Biophysical principles of collagen cross-linking." Klin. Monbl. Augenheilkd. **225**(2): 131-137.

Spoerl, E., G. Wollensak and T. Seiler (2004). "Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion." Current Eye Research **29**(1): 35-40.

Sporl, E., F. Raiskup-Wolf and L. E. Pillunat (2008). "[Biophysical principles of collagen cross-linking]." Klin Monbl Augenheilkd **225**(2): 131-137.