

Grzybicze wrzodziejące zapalenie rogówki o złożonej etiologii u konia

IRENEUSZ BALICKI, GRAŻYNA ZIÓLKOWSKA**, ANNA ŚMIECH*

Katedra i Klinika Chirurgii Zwierząt, *Katedra Anatomii Patologicznej
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

**Zakład Mikrobiologii Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Balicki I., Ziółkowska G., Śmiech A.

Poliethiological ulcerative mycotic keratitis in a horse

Summary

The authors report a clinical case of poliethiological ulcerative mycotic keratitis in a horse. The disease was diagnosed in a 7-year-old mare, bay colour. In the inferior cranial quadrant of the right cornea ophthalmic examination revealed superficial and deep blood vessel ingrowth, oedema, multifocal dark brown subepithelial infiltrations as well as superficial corneal ulceration with detached epithelium. The impression cytology and mycological examination showed the presence of *Aspergillus fumigatus* as well as individual colonies of *Aspergillus flavus* in the examined research material. The horse was treated surgically and with the use of ophthalmic drops containing 0.2% fluconazole and 30% DMSO mixture. Oral fluconazole 500 mg was administered twice a day. The ophthalmic examination revealed the complete recovery of the corneal ulceration with a white scar 2 weeks after the operation. The pharmacological treatment was continued for 12 weeks. A control check-up a year after the treatment showed no blood vessels growing into the cornea, a marked reduction of the postoperative scar as well as higher corneal transparency at the ulcer site.

Keywords: horse, ulcerative mycotic keratitis, fluconazole, DMSO

Grzybicze zapalenie rogówki (GZR) jest chorobą gałki ocznej, wymagającą starannej diagnostyki i długo trwającego leczenia. Spośród zwierząt gospodarskich konie należą do gatunku zwierząt najczęściej chorujących na GZR. Mają one wyjątkową podatność na infekcje grzybicze rogówki, rozwijające się w wyniku urazów mechanicznych nabłonka, prowadzących do powstania owrzodzeń (9-11, 14). W przypadkach pourazowych ubytków rogówki u niektórych koni grzyby występujące w worku spojówkowym mogą stanowić florę patogenną, odpowiedzialną za rozwój procesu chorobowego i powstanie owrzodzeń (6, 11, 15, 16, 21). Długotrwałe stosowanie antybiotyków lub kortykosteroidów, jak również jednoczesne podawanie obydwu leków predisponują do wystąpienia grzybic zarówno u ludzi, jak i u zwierząt w tym również GZR (18).

W opracowaniu przedstawiono przypadek grzybiczego wrzodziejącego zapalenia rogówki o złożonej etiologii u konia.

Opis przypadku klinicznego

Koń, klacz, maści gniadej, w wieku 7 lat, przed dostarczeniem do Katedry i Kliniki Chirurgii Zwierząt chorował przez okres około 6 tygodni. Był leczony kroplami okulistycznymi zawierającymi deksametazon i gentamycynę. Badanie okulistyczne wykazało następujące objawy: zwężenie prawej szpary powiekowej małego stopnia, zaczerwienione błon śluzowych

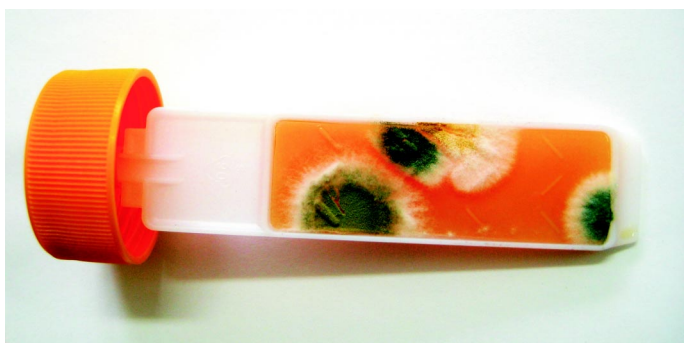
worka spojówkowego, obecność surowiczo-śluzowego wysięku. W dolnym skroniowym kwadrancie rogówki prawej stwierdzono wrastanie naczyń krwionośnych powierzchownych i głębokich oraz naciek zapalny koloru biało-żółtego otoczony obrzękiem i wielogniskowymi naciekami podnabłonkowymi koloru ciemnobrązowego. Szczegółowe badanie okulistyczne wykazało powierzchowne owrzodzenie rogówki z oddzieleniem nabłonka. W centralnej części rogówki stwierdzono liniowe zmętnienie błony Descemeta przebiegające wzdłuż równika. W kwadrantach górnym skroniowym i nosowym oraz dolnym nosowym występowały powierzchowne punktikowate zmętnienia rogówki, nie wybarwiającej się fluoresceiną i różem bengalskim (ryc. 1).

Wykonano badanie cytologiczne komórek nabłonka przedniego rogówki przy użyciu filtra miliporowego (Millipore VSWP 01300 typ DA). Preparat barwiono metodą PAS, a następnie oceniano w mikroskopie świetlnym.

Badanie cytologiczne wykazało pomiędzy komórkami nabłonka rogówki obecność pojedynczych fragmentów micelium, konidioforów oraz skupiska fialokonidii (ryc. 2). Wykonano szczegółowe badanie hodowlane materiału pobranego ze zmienionej chorobowo rogówki (ryc. 3). Identyfikację uzyskanych hodowli przeprowadzano wg klasycznych metod mikologicznych, obejmujących badania mikroskopowe, hodowlane z wykorzystaniem metod mikrohodowli. Wyniki weryfikowano przy zastosowaniu klucza identyfikacyjnego wg de Hoog G. S. i wsp. (12). Przeprowadzone badania mikologiczne wykazały w pobranym materiale obecność *Asper-*



Ryc. 1. Obraz kliniczny przed rozpoczęciem leczenia. Wrażliwość naczyń krwionośnych, naciek zapalny otoczony obrzękiem i wielogniskowymi naciekami podnabłonkowymi, powierzchowne owrzodzenie rogówki z oddzieleniem nabłonka, liniowe zmętnienie błony Descemeta, powierzchowne punktowe zmętnienia rogówki nie wybarwiającej się fluoresceiną

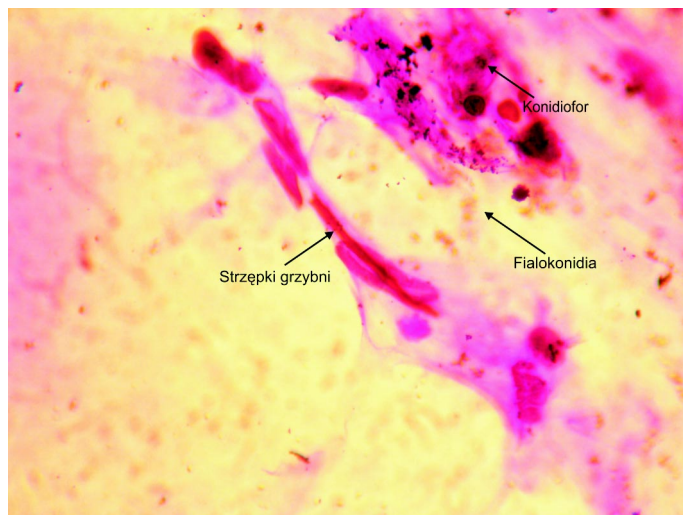


Ryc. 3. Wymaz z rogówki oka – badanie hodowlane, bezpośrednie. Widoczne kolonie *Aspergillus fumigatus* (3 kolonie) i *Aspergillus flavus* (1 kolonia)

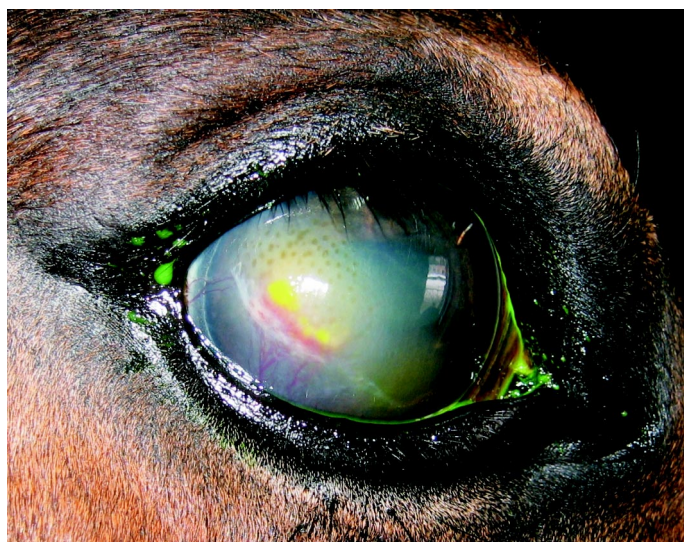
gillus fumigatus, a także pojedyncze kolonie *Aspergillus flavus*. Pobrano także wymaz z worka spojówkowego do badania bakteriologicznego, które wykazało obecność niespecyficznej flory bakteryjnej.

Rozpoznanie. Biorąc pod uwagę objawy kliniczne oraz wyniki badań cytologicznych i mikologicznych, stwierdzono u konia grzybicze, wrzodziejące zapalenie rogówki.

Leczenie. Worek spojówkowy płukano 1% roztworem jodopowidonu, a następnie podawano krople okulistyczne zawierające 0,2% flukonazol i 30% DMSO, które stosowano 5 razy dziennie. Krople te były przygotowane przez farmaceutę o specjalności farmacja okulistyczna. Trzy razy dziennie do worka spojówkowego zakładano maść zawierającą 1% chloramfenikol. Doustnie podawano kapsułki flukonazolu, w dawce 500 mg dwa razy dziennie. Po 12 dniach od rozpoczęcia leczenia nie stwierdzono zmniejszenia nacieku zapalnego i obrzęku rogówki, a także jasnobrązowych nacieków podnabłonkowych. Widoczna była zwiększona neowaskularyzacja kwadrantu rogówki objętego procesem chorobowym (ryc. 4). Nie uzyskano również wygojenia owrzodzenia rogówki i dlatego podjęto decyzję o przeprowadzeniu leczenia operacyjnego. Konia znieczulono, podając dożylnie ksylazynę 1 mg/



Ryc. 2. *Aspergillus fumigatus* – cytologia immersyjna z rogówki konia barwiona metodą PAS. Widoczne: strzępki grzybni, skupiska fialokonidii i konidiofor



Ryc. 4. Obraz kliniczny po 12 dniach od rozpoczęcia leczenia. Zwiększona neowaskularyzacja rogówki. Obecność nacieków podnabłonkowych oraz powierzchownego owrzodzenia rogówki

kg m.c., diazepam 0,1 mg/kg m.c. i ketaminę 2 mg/kg m.c. Po położeniu konia i znieczuleniu nerwu małżowinowo-powiekowego 2% lignokainą w dawce 5 ml, dokonano pomiaru ciśnienia wewnątrzgałkowego przy użyciu tonometru Schiøetza, które wynosiło 27 mm Hg. Worek spojówkowy przepłukano 1% roztworem jodopowidonu. Z okolicy wrzodu i nacieku zapalnego usunięto chorobowo zmieniony nabłonek rogówki oraz wykonano keratotomię liniową. Po przepłukaniu rogówki i worka spojówkowego roztworem Ringera dokonano czasowego zespolenia powiek z pozostawieniem w zewnętrznym kącie miejsca do aplikacji leków. Po operacji kontynuowano leczenie farmakologiczne flukonazolem uzupełnione o stosowanie do worka spojówkowego dekspanthenolu podawanego 5 razy dziennie i atropiny podawanej 2 razy dziennie. Przez 5 dni po zabiegu podano dożylnie fluniksę, w dawce 1,1 mg/kg m.c. Flukonazol stosowano doustnie przez 10 dni po operacji. W celu wykonania preparatu histologicznego z usuniętych patologicznie zmienionych powierzchownych warstw rogówki pobrano materiał, który zabarwiono HE.



Ryc. 5. Obraz kliniczny 3 tygodnie po operacji. Zanik nacieku zapalnego, wieloogniskowych nacieków podnabłonkowych i naczyń krwionośnych wrastających w rogówkę



Ryc. 6. Obraz kliniczny 1 rok po operacji. Brak wrastających w rogówkę naczyń krwionośnych, duże zmniejszenie blizny pooperacyjnej i zwiększenie przejrzystości rogówki w miejscu wrzodu, obecność powierzchniowych punkcikowych zmętnień rogówki i liniowego zmętnienia błony Descemeta

Badanie histopatologiczne pobranego fragmentu nabłonka rogówki nie wykazało obecności elementów morfotycznych grzyba.

Po 2 tygodniach szwy zapewniające czasowe zespolenie powiek usunięto. Badanie okulistyczne wykazało wygojenie się owrzodzenia rogówki, z obecnością białego koloru blizny, z centralnie położonym, unaczynionym naciekiem zapalnym. Zakończono podawanie do worka spojówkowego chloramfenikolu i deksantanolu, natomiast rozpoczęto stosowanie kropli okulistycznych diklofenaku, który podawano 3 razy dziennie przez okres 2 tygodni, a następnie zastąpiono go deksametazonem. Był on podawany przez okres 4 tygodni. Już po 7 dniach od zdjęcia szwów (3 tygodnie od operacji) stwierdzono zanik nacieku zapalnego zlokalizowanego w centralnej części blizny oraz wieloogniskowych nacieków podnabłonkowych (ryc. 5). Stopniowo zanikały również naczynia krwionośne wrastające w rogówkę. Pięć tygodni po operacji w rogówkę wrastało tylko jedno cienkie naczynie krwionośne, blizna zmniejszyła się i ustąpił obrzęk rogówki. Z wyjątkiem blizny, rogówka była przejrzysta, pozostały jedynie

mniej wyraźne powierzchniowe punkcikowe zmętnienia rogówki. Krople zawierające flukonazol i DMSO były stosowane przez 12 tygodni. Badanie kontrolne przeprowadzone po 1 roku od rozpoczęcia leczenia wykazało brak wrastających w rogówkę naczyń krwionośnych, znaczne zmniejszenie blizny pooperacyjnej i zwiększenie przejrzystości rogówki w miejscu wrzodu. Nadal widoczne były powierzchniowe punkcikowe zmętnienia rogówki i liniowe zmętnienie błony Descemeta (ryc. 6).

Omówienie

Główną zmianą patologiczną rogówki konia był naciek zapalny koloru biało-żółtego otoczony obrzękiem i wieloogniskowymi naciekami podnabłonkowymi koloru ciemnobrązowego. Tego rodzaju nacieki i owrzodzenia są typowe dla GZR u koni, co potwierdzono badaniami cytologicznymi, a następnie hodowlanymi. Szybkie postawienie diagnozy i rozpoczęcie leczenia było możliwe dzięki badaniu cytologicznemu. W dostępnym piśmiennictwie nie spotkano doniesień na temat zastosowania cytologii impresyjnej przy użyciu krążków miliporowych do diagnostyki grzybiczego zapalenia rogówki u konia. Badania cytologiczne i hodowlane wykazały jako czynnik etiologiczny *Aspergillus fumigatus*, który jest uważany za potencjalną przyczynę grzybiczych wrzodzących zapaleń rogówki (1, 4, 8, 17). *Aspergillus spp.* jako czynnik etiologiczny wrzodzącego grzybiczego zapalenia rogówki stwierdzono w 41% przypadków u koni (5). Pobrane śródoperacyjnie fragmenty rogówki do badań histopatologicznych nie wykazały obecności grzybów. W wielu przypadkach GZR badanie histopatologiczne, podobnie jak w przypadku innych form aspergilozy, jest jedynie badaniem potwierdzającym, a nie wykluczającym obecność czynnika etiologicznego (20). Na podkreślenie zasługuje fakt, że leczony koń już 12 dni przed operacją otrzymywał leki przeciwrzybicze miejscowo i ogólnie. W efekcie doszło do zmniejszenia nacieku zapalnego i obrzęku rogówki. Dodatkowo w wyniku leczenia przedoperacyjnego uzyskano zwiększoną neowaskularyzację rogówki. Jest ona korzystnym elementem leczenia GZR, umożliwiającym zwalczanie infekcji grzybiczych (14). Można przypuszczać, że w wyniku leczenia doszło do częściowej eliminacji czynnika infekcyjnego, co mogło być przyczyną braku elementów morfotycznych *Aspergillus fumigatus* we fragmentach rogówki pobranych po keratektomii.

Grzybicze wrzodzące zapalenie rogówki najczęściej wymaga leczenia chirurgicznego. Jedną z najczęściej stosowanych metod jest keratektomia połączona z przeszczepem spojówki gałkowej (4, 10, 14). W opisywanym przypadku owrzodzenie rogówki łączyło się z oddzieleniem nabłonka i miało charakter powierzchniowy, dlatego też podjęto decyzję o wykonaniu keratektomii powierzchniowej połączonej z czasowym zespoleniem powiek. Dwa tygodnie po operacji stwierdzono całkowite wygojenie się grzybiczego owrzodzenia rogówki, przy obecności blizny z centralnie położonym unaczynionym naciekiem zapalnym. Po roku od rozpoczęcia leczenia grzybiczego zapalenia rogówki u krowy wywołanego przez *Aspergillus spp.* i *Fusarium*

spp. Elligott i wsp. (7) stwierdzili obecność nieprzejrzystej włóknistej blizny. Badanie kontrolne leczonego konia wykonane po 1 roku wykazało znaczne zmniejszenie blizny w porównaniu do stanu po operacji i w miejscu wrzodu zwiększenie przejrzystości rogówki.

Do leczenia konia zastosowano krople okulistyczne zawierające 0,2% flukonazol i 30% DMSO. Dodatkowo flukonazol był stosowany doustnie. W piśmiennictwie nie spotkano opisu użycia kropli okulistycznych o takim składzie do leczenia grzybiczego zapalenia rogówki. Ball i wsp. (2) uzyskali dobre efekty leczenia grzybiczego zapalenia rogówki u koni maścią zawierającą 1% itraconazol i 30% DMSO. Uważa się, że DMSO zapewnia wyższą koncentrację itraconazolu w rogówce (3). Obserwacje własne wykazały dużą skuteczność zastosowanej metody leczenia z użyciem kropli okulistycznych zawierających flukonazol i DMSO przy jednoznacznie wielokrotnie niższych kosztach, gdyż flukonazol jest znacznie tańszym lekiem od itraconazolu. Terapeutyczną skuteczność flukonazolu wykazano również w przypadku aspergilozy jamy nosowej i zatok przynosowych u psów, u których po 8-tygodniowej kuracji uzyskano około 60% wyleczeń (13).

Jednym z objawów grzybiczego zapalenia rogówki u koni są wieloogniskowe białe lub szare nacieki podnabłonkowe (11). Trzy tygodnie po operacji stwierdzono zanik wieloogniskowych ciemnobrązowych nacieków. W związku z tym należy przypuszczać, że powstały one w wyniku grzybiczego zapalenia rogówki. Pozostały jednak powierzchowne punkcikowe zmętnienia rogówki. Przyczyna ich powstania jest trudna do ustalenia. Zmętnienia tego typu występują w przypadku wirusowego zapalenia rogówki. Najczęściej wybarwiają się one fluoresceiną, chociaż w niektórych przypadkach próba fluoresceinowa jest negatywna (4, 10, 19). W opisywanym przypadku punkcikowe zmętnienia nie wybarwiały się fluoresceiną. Nie stwierdzono również innych objawów typowych dla wirusowego zapalenia rogówki. Nacieki te nie ulegały zmianom tak w czasie leczenia, jak i po jego zakończeniu, pomimo że koń nie otrzymywał żadnych leków przeciw wirusowych. Obecność ich wykazano również badaniem kontrolnym, przeprowadzonym po 1 roku od rozpoczęcia terapii. Należy przypuszczać, że jest to długo trwająca keratopatia nabłonka rogówki, niewybarwiająca się fluoresceiną.

Stwierdzone liniowe zmętnienie błony Descementa mogło mieć kilka przyczyn. U koni występuje liniowa keratopatia. Objawia się ona przebiegającymi liniowo, najczęściej poziomo, zmętnieniami nabłonka przedniego rogówki widocznymi w postaci jasno-biało zabarwionych pasów. Są one związane ze ścięciem lub pęknięciem błony Descementa (4, 14). Tego rodzaju keratopatia może mieć charakter wrodzony i nie jest związana z procesem zapalnym, ale najczęściej powstaje w wyniku jaskry (14). U konia nie stwierdzono objawów klinicznych jaskry ani również z wywiadu nie uzyskano informacji na temat jej wcześniejszego występowania. Uważa się jednak, że do liniowej keratopatii może dojść w wyniku przemijającego, krótkotrwałego wzrostu ciśnienia wewnątrzgałkowego (4). Liniowa

keratopatia może powstać również jako następstwo tępego urazu gałki ocznej (4). Trudno jednoznacznie ustalić przyczynę liniowej keratopatii u leczonego konia. Biorąc pod uwagę, że obrażenia mechaniczne predysponują do rozwoju grzybiczego wrzodziejącego zapalenia rogówki, można przypuszczać, że potencjalny uraz mógł spowodować odkształcenie gałki ocznej, wzrost ciśnienia wewnątrzgałkowego i pęknięcie błony Descementa. Keratopatia liniowa nie ma następstw klinicznych i nie wymaga leczenia.

Wnioski

1. Cytologia impresyjna z zastosowaniem filtrów m립orowych umożliwia szybką diagnostykę grzybiczego wrzodziejącego zapalenia rogówki.
2. Flukonazol i DMSO w postaci kropli okulistycznych mogą być stosowane w przypadku grzybiczego zapalenia rogówki u koni wywołanego przez *Aspergillus spp.*

Piśmiennictwo

1. Andrew S. E., Brooks D. E., Smith P. J., Gelatt K. N., Chmielewski N. T., Whittaker C. J.: Equine ulcerative keratomycosis: visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987-1996). *Equine Vet. J.* 1998, 30, 109-116.
2. Ball M. A., Rebhun W. C., Gaarder J. E., Patten V.: Evaluation of itraconazole-dimethyl sulfoxide ointment for treatment of keratomycosis in nine horses. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997, 211, 199-203.
3. Ball M. A., Rebhun W. C., Trepanier L., Gaarder J., Schwark W. S.: Corneal concentrations and preliminary toxicological evaluation of anitraconazole/dimethyl sulphoxide ophthalmic ointment. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 1997, 20, 100-104.B.
4. Barnett K. C., Crispin S. M., Lavach J. D., Matthews A. G.: *Equine ophthalmology. An atlas and text.* Saunders, London 2004.
5. Brooks D. E., Andrew S. E., Dillavou C. L., Ellis G., Kubilis P. S.: Antimicrobial susceptibility patterns of fungi isolated from horses with ulcerative keratomycosis. *Am. J. Vet. Res.* 1998, 59, 138-142.
6. Conde T.: Corneal ulcer complicated with a keratomycosis. *Proc. Internat. Veterinary Ophthalmology Meeting, Genova 2007*, s. 181.
7. Elligott C. R., Wilkie D. A., Kuonen V. J., Bras I. D., Neihaus A.: Primary *Aspergillus* and *Fusarium* keratitis in a Holstein cow. *Vet. Ophthalmol.* 2006, 9, 175-178.
8. Gaarder J. E., Rebhun W. C., Ball M. A., Patten V., Shin S., Erb H.: Clinical appearances, healing patterns, risk factors, and outcomes of horses with fungal keratitis: 53 cases (1978-1996). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1998, 213, 105-112.
9. Gelatt K. N.: *Veterinary Ophthalmology. Vol. 2.* Blackwell Publishing, Ames 2007.
10. Gilger B. C.: *Equine ophthalmology.* Elsevier Saunders, St. Louis 2005.
11. Graham B. H., Cullen L. C., Peiffer R. L.: *Veterinary Ophthalmology Essentials.* Butterworth Heinemann, Pennsylvania 2004.
12. Hoog G. S., Guarro J., Gene J., Figueras M.: *Atlas of clinical fungi.* CBS, Utrecht 2000.
13. Janeczek W., Ratajczak K., Janeczek M.: Leczenie aspergilozy jamy nosowej psa z pooperacyjnym podawaniem itraconazolu. *Medycyna Wet.* 2004, 60, 1303-1306.
14. Martin C.: *Ophthalmic disease in veterinary medicine.* Manson Publishing, London 2005.
15. Martin-Suarez E. M., Galan A., Tardon A., Mollada J. M.: Clinical Findings and evaluation of 10 cases of equine keratomycosis diagnosed in the south of Spain (Cordoba). *Proc. Internat. Veterinary Ophthalmology Meeting, Genova 2007*, s. 195.
16. Moore C.: Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. *Am. J. Vet. Res.* 1988, 49, 773-777.
17. Moore C. P., Fales W. H., Whittington P., Bauer L.: Bacterial and fungal isolates from Equidae with ulcerative keratitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1983, 182, 600-603.
18. Raczynski E., Kempki W.: Aspergiloza ptaków ozdobnych i dzikich w latach 1986-1995. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 153-155.
19. Sansom J., Featherstone H., Barnett K. C.: Keratomycosis in six horses in the United Kingdom. *Vet. Rec.* 2005, 156, 13-17.
20. Timurkaan N., Keskin O., Yilmaz F., Cimtay I.: Aspergilloz outbreak in an ostrich flock. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 765-766.
21. Verneuil M.: Equine mycotic ulcer and surgical repair. *Proc. Internat. Veterinary Ophthalmology Meeting, Genova 2007*, s. 205.

Adres autora: dr hab. Ireneusz Balicki, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin; e-mail: ireneusz.balicki@up.lublin.pl