Untersuchungen zur Tränenfilmstabilität bei der Französischen Bulldogge: Reproduzierbarkeit der Osmolaritätsmessung und diagnostische Einordnung evaporativer Parameter

von Joschka Jonathan Spornberger

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

Untersuchungen zur Tränenfilmstabilität bei der Französischen Bulldogge: Reproduzierbarkeit der Osmolaritätsmessung und diagnostische Einordnung evaporativer Parameter

von Joschka Jonathan Spornberger

aus Berlin

München 2026

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Chirurgie der Kleintiere

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ. -Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Angefertigt in der Augen-Tierarztpraxis Dr. Allgoewer

Mentor: Dr. Ingrid Allgoewer

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

Berichterstatterin: Univ. -Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. Dorothea Döring

Tag der Promotion: 25. Juli 2026

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS V
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS VII
I EINLEITUNG 1
II LITERATURÜBERSICHT 3
2.1 Tränenfilm 3
2.1.1 Schichtmodelle des Tränenfilms 3
2.1.2 Aufbau und Funktion des Tränenfilms 3
2.1.3 Homöostase des Tränenfilms 5
2.2 Das trockene Auge (Dry Eye Disease - DED) 5
2.2.1 Osmolarität 5
2.2.2 Pathophysiologie 6
2.3 Tränenfilm-Diagnostik 8
2.3.1 Quantitative Tests 8
2.3.1.1 Schirmer Tränen Test 8
2.3.1.2 Nasolakrimaler Reflex 9
2.3.1.3 Phenol-Red-Thread-Test 9
2.3.1.4 Endodontic-Absorbent-Paper-Point-Test 10
2.3.1.5 Meniskometrie 10
2.3.1.6 Meibometrie 11
2.3.2 Qualitative Tests 11
2.3.2.1 Interferometrie 11
2.3.2.2 Tränenfilmaufrisszeit 11
2.3.2.2.1 Invasive Tränenfilmaufrisszeit 12
2.3.2.2.2 Nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit 12
2.3.2.3 Vitalfärbungen 12
2.3.2.4 Punktförmiges Fluoreszein-Staining 13
2.3.3 Weitere Tests 14
2.3.3.1 Infrarot Meibografie 14
2.3.3.2 Ästhesiometrie 14
2.3.3.3 Farnkrauttest 15
2.3.3.4 Blinkreflex 15
2.4 Okulares Brachycephalensyndrom 15
2.4.1 Anatomische Veränderungen 16
2.4.2 Physiologische Veränderungen 17

III VERÖFFENTLICHUNGEN 18
3.1 1. Publikation 18
3.2 2. Publikation 26
IV DISKUSSION 38
V ZUSAMMENFASSUNG 42
VI SUMMARY 44
VII LITERATURVERZEICHNIS 47
VIII DANKSAGUNG 57

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADDE	Aqueous deficient dry eye (Quantitativer Tränenmangel)
BOS	Brachycephalic ocular syndrome (Okulares Brachyzephalensyndrom)
BUT	Break-up-time (Tränenfilmaufrisszeit)
DED	Dry eye disease (Trockenes Auge / Keratoconjunctivitis sicca)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EAPPT	Endodontic-Absorbent-Paper-Point-Test
EDED	Evaporative dry eye disease (Qualitativer Tränenmangel durch Verdunstung)
EGF	Epidermal Growth Factor
IL	Interleukin
JNK	c-Jun N-terminale Kinase
KCS	Keratoconjunctivitis sicca
LFU	Lacrimal Functional Unit (Lakrimale Funktionseinheit)
LLT	Lipid Layer Thickness (Lipidschichtdicke)
MAPK	Mitogen-activated protein kinases (MAP-Kinasen)
MMP	Matrix-Metalloproteinasen
mOsm/L / mOsM	Milliosmol pro Liter (Einheit der Osmolarität)
NETs	Neutrophil Extracellular Traps
NF-κB	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
NIBUT	Non-invasive break-up time (Nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit)
NLR	Nasolakrimaler Reflex
OAHFA	(O-acyl)-ω-hydroxyfettsäuren
OSD	Ocular Surface Disease (Erkrankung der Augenoberfläche)
PFS	Punktförmiges Fluoreszein-Staining
PRT	Phenol-Red-Thread-Test
SM	Strip-Meniskometrie
STT	Schirmer Tränen Test
STT-1 / STT-2	Schirmer Tränen Test 1 (basal & reflex) / Schirmer Tränen Test 2 (basal)
TFOS DEWS (II)	Tear Film & Ocular Surface Society Dry Eye Workshop

TGF	Transforming Growth Factor
TMH	Tear meniscus height (Höhe des Tränenmeniskus)
TNF-α	Tumor-Nekrose-Faktor-α

I EINLEITUNG

Die Homöostase des Tränenfilms ist für die Erhaltung der Augengesundheit unerlässlich (Giuliano, 2021, Hendrix et al., 2021, Meekins et al., 2021). Er glättet Unebenheiten der Cornea und stellt damit eine gleichmäßige optische Oberfläche dar, die als erstes Medium der Refraktion dient (Giuliano, 2021, Meekins et al., 2021, Ofri und Ekesten, 2021). Veränderungen in der Zusammensetzung des Tränenfilms oder in der Tränenfilmdicke führen zu Refraktionsfehlern (Fish et al., 2004) und Aberrationen (Montés-Micó et al., 2010). Darüber hinaus versorgt der Tränenfilm die Hornhaut mit Sauerstoff und Nährstoffen und schützt sie sowohl durch antimikrobielle Substanzen, als auch durch eine physische Barriere (Meekins et al., 2021, Tiffany, 2008). Grundsätzlich besteht der Tränenfilm aus den drei Schichten (von außen nach innen): Lipidschicht, wässrige Schicht und der Muzinschicht (Wolff, 1946). Neuere Modelle gehen von einem Zwei-Schichtensystem aus, indem die wässrige Schicht mit der Muzinschicht vermischt ist (Tiffany, 2008).

Störungen der Tränenfilmhomöostase werden beim Menschen gemäß des Tear Film & Ocular Surface Society Dry Eye Workshops (TFOS DEWS) als Dry Eye Disease (DED) bezeichnet (Craig et al., 2017). Die offizielle Definition des TFOS DEWS II lautet: *„Dry eye is a multifactorial disease of the ocular surface characterized by a loss of homeostasis of the tear film, and accompanied by ocular symptoms, in which tear film instability and hyperosmolarity, ocular surface inflammation and damage, and neurosensory abnormalities play etiological roles"* (Craig et al., 2017). Damit wird insbesondere die Multifaktorialität der Erkrankung betont, deren zentrale pathogenetische Faktoren Tränenfilminstabilität, Hyperosmolarität, Entzündung, Schädigung der Augenoberfläche und neurosensorische Veränderungen darstellen. In der Tiermedizin wird das Trockene Auge unterteilt in qualitative tear film deficiency (evaporative dry eye disease (EDED)) und quantitative tear film deficiency (aqueous deficient dry eye disease (ADDE)) (Giuliano, 2021, Sebbag und Sanchez, 2023). Beide Formen sind durch eine Hyperosmolarität des Tränenfilms und eine konsekutive Entzündungsreaktion gekennzeichnet (Sebbag und Sanchez, 2023).

Die Diagnose von Tränenfilmstörungen erfolgt standardmäßig mit dem Schirmer Tränen Test (STT) (Featherstone und Heinrich, 2021, Hawkins und Murphy, 1986), der die Quantität der Tränenproduktion erfasst. Für die Beurteilung der Qualität werden Verfahren wie die Break-up-Time, Non-invasive-break-up-Time (BUT/NIBUT),

Fluoreszein-Färbung, Interferometrie oder Meibographie verwendet (Featherstone und Heinrich, 2021, Moore, 1990). In der Humanmedizin gilt die Bestimmung der Tränenosmolarität als Goldstandard zur objektiven Beurteilung der Tränenfilmstabilität (Tomlinson et al., 2006).

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, (1) die intra- und interindividuelle Reproduzierbarkeit der Messung der Tränenosmolarität mit dem ScoutPro®-System (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA) zu untersuchen und (2) die Tränenfilmcharakteristika von gesunden Französischen Bulldoggen im Vergleich zu nicht-brachyzephalen Hunden zu analysieren. Durch die Kombination beider Fragestellungen sollen sowohl die methodische Validität des Messverfahrens als auch die klinische Relevanz aufgezeigt werden.

II LITERATURÜBERSICHT

2.1 Tränenfilm

2.1.1 Schichtmodelle des Tränenfilms

In der Literatur werden sowohl beim Hund als auch beim Menschen zwei Strukturmodelle des Tränenfilms beschrieben. Das klassische Dreischichtenmodell unterscheidet eine äußere Lipidschicht, eine mittlere wässrige Schicht und eine innere Muzinschicht (Giuliano, 2021, Meekins et al., 2021, Willcox et al., 2017, Wolff, 1946). Demgegenüber fasst das biphasische Modell die wässrige und die Muzinkomponente zu einer wässrig-muzinösen Hauptphase zusammen, die von einer oberflächlichen Lipidschicht bedeckt ist (Tiffany, 2008, Willcox et al., 2017). Dieses biphasische Modell des Tränenfilms wird derzeit sowohl in der Humanophthalmologie (Willcox et al., 2017) als auch in der Veterinärophthalmologie (Ng et al., 2026) bevorzugt.

Der Tränenfilm verteilt sich in drei funktionale Kompartimente. Der präkorneale Tränenfilm, der Tränenmeniskus und das fornikale Kompartiment (Bron et al., 2017). Dabei ist zu beachten, dass Studien in der Humanophthalmologie gezeigt haben, dass Proben zur Untersuchung des Tränenfilms zwar meist aus dem Tränenmeniskus entnommen werden, deren Zusammensetzung aber nicht zwangsläufig mit der des präkornealen Tränenfilms übereinstimmt (Willcox et al., 2017).

2.1.2 Aufbau und Funktion des Tränenfilms

Die oberflächliche Lipidschicht wird zum Großteil von den Meibom-Drüsen und zu einem kleineren Teil von den Zeis-Drüsen sezerniert (Giuliano, 2021, Meekins et al., 2021). Der Hauptbestandteil sind unpolare Lipide (Wachs- und Cholesterinester) sowie polare Lipide wie (O-acyl)-ω-Hydroxyfettsäuren (OAHFA) und deren Cholesterinester (Hendrix et al., 2021). Hunde besitzen einen höheren Anteil an OAHFAs in ihrem Meibom als Menschen (Butovich et al., 2011, Hendrix et al., 2021). Dies ist eine mögliche Erklärung für einen stabileren Tränenfilm und dadurch eine niedrigere Blinzelfrequenz als der Mensch (Hendrix et al., 2021). Die polaren Anteile fördern die Spreitung und die Ankopplung an die wässrig-muzinöse Phase (Hendrix et al., 2021). Funktionell stabilisiert die Lipidschicht die Luft–Tränen-Grenzfläche, reduziert die Verdunstung, bildet eine physikalische Barriere gegenüber Umweltpartikeln und trägt zur antimikrobiellen Abwehr bei (Meekins et al., 2021). Durch die Stabilisierung des

Luft Tränenfilm-Übergangs erhält sie die gleichmäßige refraktive Oberfläche des Tränenfilms und reduziert damit Oberflächenstreuung sowie durch Instabilität induzierte Aberrationen (Montés-Micó et al., 2004, Ofri und Ekesten, 2021). Eine Störung der Lipidschicht führt zu einer Instabilität des Tränenfilms und einer verkürzten Tränenfilmaufrisszeit (Giuliano, 2021, Moore, 1990).

Die wässrige Phase des Tränenfilms besteht zu etwa 98,2% aus Wasser und zu rund 1,8% aus festen Bestandteilen (Giuliano, 2021). Sie ist die volumenmäßig größte Phase des Tränenfilms und wird von der Tränendrüse, den akzessorischen Tränendrüsen und der Nickhautdrüse gebildet (Meekins et al., 2021). Zu den Hauptbestandteilen zählen Elektrolyte (u.a. Natrium, Kalium, Chlorid, Bicarbonat), Glukose, Harnstoff, oberflächenaktive Polymere, Glykoproteine sowie Immunglobuline, Albumin, Lysozym, Lactoferrin, Lipocalin und Wachstumsfaktoren (EGF, TGF) (Davidson und Kuonen, 2004, Giuliano, 2021, Klenkler et al., 2007). Funktionell versorgt die wässrige Phase die avaskuläre Kornea mit Sauerstoff und Nährstoffen (Hendrix et al., 2021). Zusätzlich dient sie der Oberflächenbefeuchtung und entfernt sowohl Abfallprodukte des Stoffwechsels (CO2, Milchsäure) als auch, durch mechanische Clearance, Partikel und Mikroorganismen auf der Hornhautoberfläche (Hendrix et al., 2021). Die Konzentration der gelösten Elektrolyte hat einen direkten Einfluss auf die Osmolarität der Tränenflüssigkeit. Eine Störung der wässrigen Phase führt somit zu einer Veränderung der Osmolarität und auch einer messbaren quantitativen Änderung (Bron und Willshire, 2021).

Die Muzinschicht des Tränenfilms besteht hauptsächlich aus Muzinen, die von den Becherzellen der Konjunktiva produziert werden (Hendrix et al., 2021, Meekins et al., 2021). In geringerem Maße tragen auch die Epithelzellen der Hornhaut und der Konjunktiva, die Glykokalyx und die Tränendrüse zur Muzinproduktion bei (Hendrix et al., 2021, Meekins et al., 2021). Zudem enthält diese Phase weitere Bestandteile wie Immunglobuline, Salze, Harnstoff, Glukose, Leukozyten, Zelltrümmer und verschiedene Enzyme (Hendrix et al., 2021). Die Muzinschicht erfüllt mehrere funktionelle Aufgaben: Sie sorgt für eine gleichmäßige Benetzung der hydrophoben Hornhautoberfläche mit der wässrigen Phase des Tränenfilms, stabilisiert diesen durch Verringerung der Oberflächenspannung und schützt die darunter liegenden Zellen vor mechanischer Belastung, insbesondere beim Blinzeln (Hendrix et al., 2021). Die Muzine binden sich nicht fest an das Epithel, sondern heften sich an die Glykokalyx und bewegen sich frei über die Oberfläche der Hornhaut. Dieser Prozess gewährleistet eine

gleichmäßige Verteilung und verringert so die Scherkraft des Lidschlusses (Bron et al., 2017). Darüber hinaus trägt die Muzinschicht durch die Bildung einer Barriere wesentlich zur lokalen Abwehrfunktion bei (Gipson und Argüeso, 2003, Hendrix et al., 2021).

2.1.3 Homöostase des Tränenfilms

Die Homöostase des Tränenfilms bildet die Grundlage für dessen physiologische Funktion (Bron et al., 2017). Die Aufrechterhaltung eines physiologischen Tränenfilms wird durch die Lacrimal Functional Unit (Lakrimale Funktionseinheit, LFU) gewährleistet (Stern et al., 2004). Zu ihr gehören die Augenoberfläche, die Tränendrüsen und die dazugehörigen Nerven (Stern et al., 2004). Die Stimulation der kornealen und konjunktivalen Nervenenden, beispielsweise über Schmerzrezeptoren, mechanische Reizung oder Temperaturrezeptoren, resultiert in der Weiterleitung des Signals über den Nervus trigeminus zum Gehirn (Bron et al., 2017). Diese Funktion wird als afferenter Arm der Reflexkette bezeichnet (Bron et al., 2017). Dieser wird von sympathischen und parasympathischen Nervenfasern gebildet, die für die Versorgung der Tränendrüsen verantwortlich sind (Bron et al., 2017). Der efferente Arm wird von parasympathischen sekretomotorischen Nervenfasern gebildet. Ausgehend vom Nucleus salivatorius stimulieren diese die Tränendrüsen, Meibom-Drüsen und die konjunktivalen Becherzellen (Bron et al., 2017). Eine Störung der Homöostase bedingt die Entstehung eines trockenen Auges (Dry eye disease (DED)) (Bron et al., 2017).

2.2 Das trockene Auge (Dry Eye Disease - DED)

2.2.1 Osmolarität

Die Tränenfilmosmolarität quantifiziert die Konzentration osmotisch aktiver Substanzen in der Tränenflüssigkeit und fungiert als integrativer Marker der Tränenfilmhomöostase (Bron et al., 2017, Utine et al., 2011). In der aktuellen DED-Systematik wird Hyperosmolarität als einer der Schlüsselmechanismen der Pathogenese angesehen, da sie Verdunstungseffekte, Entzündung und Oberflächenschäden miteinander verknüpft (Bron et al., 2017). Die Bestimmung der Osmolarität erfolgt mittels unterschiedlicher Verfahren, darunter Gefrierpunktserniedrigung, Dampfdruckosmometrie oder elektrische Impedanz (Tomlinson et al., 2010). Für

Erstere ist ein vergleichsweise großes Probenvolumen erforderlich, die technisch und zeitlich aufwendig sind. Aus diesem Grund sind sie für den klinischen Routineeinsatz weniger geeignet (Tomlinson et al., 2010). Im klinischen Kontext finden Systeme Anwendung, die entweder die Messung am Tränenmeniskus ermöglichen (beispielsweise TearLab® (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA), ScoutPro® (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA)) oder die Messung über die palpebrale Bindehaut erlauben (beispielsweise I-Pen® Vet (I-Med Pharma, Dollard-des-Ormeaux, QC, Canada)).

Bei intakter Homöostase zeigen die gemessenen Werte eine enge Korrelation zwischen der Osmolarität des Tränenmeniskus´ und der Hornhautoberfläche (Bron et al., 2017). Während der Zeit zwischen zwei Lidschlägen steigt die Osmolarität auf der Hornhaut jedoch durch Evaporation an und kann in Aufrissarealen lokal deutlich höhere Werte („Hot-Spots") erreichen als im Meniskus (Bron et al., 2017). Experimentelle Studien zeigen dabei Werte von bis zu 1534 mOsM (Peng et al., 2014). Im Vergleich dazu, werden in der Humanmedizin zur Identifikation von DED häufig Cut-off Werte um 308–316 mOsm/L verwendet (Bron et al., 2017). Aufgrund breiter Überlappungen sind diese Cut-off Werte jedoch nur orientierend. In der wissenschaftlichen Literatur finden sich für Hunde Werte von 337 bis 339 mOsm/L für das TearLab® und von 315 bis 319 mOsm/L für den I-Pen® Vet (Iwashita et al., 2023).

In der Veterinärophthalmologie sind bei Hunden Lidspaltenweite und Blinzeldynamik (Blinzelfrequenz/Interblink Intervall) von besonderer Relevanz. Humanmedizinische Daten zeigen, dass eine vergrößerte Lidspalte sowie ein verlängertes Interblink Intervall (d. h. reduzierte Blinzelfrequenz) die Oberflächenosmolarität erhöhen (Bron et al., 2017). Dieser Effekt ist auf den verdunstungsbedingten Flüssigkeitsverlust zwischen zwei Lidschlägen zurückzuführen (Bron et al., 2017). Beim Hund mit okularen Brachycephzalensyndrom verstärken die konformationsbedingte Exposition und ein inkompletter Lidschluß diesen Mechanismus zusätzlich (Sebbag und Sanchez, 2023).

2.2.2 Pathophysiologie

Das Spektrum des trockenen Auges (DED) wird in der Human- und der Veterinärophthalmologie ätiologisch in zwei Hauptmuster gegliedert: die evaporative dry eye disease (EDED), bei dem eine verdunstungsbedingte Destabilisierung des Tränenfilms bei grundsätzlich normaler Tränenproduktion und Tränendrüsenfunktion

vorliegt, und das aqueous deficient dry eye (ADDE), das primär durch eine verminderte Tränendrüsensekretion gekennzeichnet ist (Bron et al., 2017, Giuliano, 2021). In der klinischen Realität manifestieren sich Mischformen häufig, und es besteht die Möglichkeit einer gegenseitigen Verstärkung oder alternierenden Dominanz beider Kategorien (Bron et al., 2017).

In der Humanophthalmologie steht, unabhängig vom Eintrittspfad, Hyperosmolarität als zentraler Mechanismus im Mittelpunkt des Pathomechanismus (Bron et al., 2017). Die erhöhte Osmolarität aktiviert intrazelluläre Stress- und Entzündungssignalwege (u. a. MAP-Kinasen/JNK, NF-KB) und führt zur Freisetzung proinflammatorischer Zytokine (z. B. IL-1, IL-1α, IL-1β, TNF-α) und Matrix-Metalloproteinasen (insbesondere MMP-1, MMP-3, MMP-9, MMP-13) (Bron et al., 2017, Li et al., 2004). Sowohl diese Entzündungsmediatoren als auch die Hyperosmolarität selber beeinträchtigen die epitheliale Zellbarriere, fördern apoptotische und nekrotische Zellverluste, reduzieren die Dichte der Becherzellen und stören die Muzin-/Glykokalyx-Schicht (Bron et al., 2017, Yeh et al., 2003). Besonders MMP-9 spielt dabei eine besondere Rolle. Das Transmembranprotein der Tight Junctions (Occludin) wird direkt von MMP-9 abgebaut und fördert so einen Verlust der epithelialen Zellbarriere (Bron et al., 2017). Die Folge ist eine verkürzte Tränenfilmaufrisszeit und der daraus resultierende zusätzliche Verdunstungsverlust verstärkt wiederum die Hyperosmolarität (Bron et al., 2017). Ein neuerer Mechanismus der Pathophysiologie der DED befasst sich mit der Rolle von Entzündungszellen, insbesondere der neutrophilen Granulozyten und extrazellulärer DNA (Bron et al., 2017). Die extrazelluläre DNA aus Desquamation von konjunktivalen- und kornealen Epithelzellen induziert eine Typ-1-Immunreaktion sowie eine verstärkte Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten. Während Neutrophile in einem gesunden Auge nur in geringer Zahl vorkommen, werden sie bei Entzündungsreaktionen massiv an die Augenoberfläche rekrutiert. Der Einfluss von hyperosmolarem Stress auf neutrophile Granulozyten führt zur Freisetzung eines Netzes aus Chromatin und Proteinen. Dieses wird als Neutrophil Extracellular Traps (NETs) bezeichnet. Obwohl NETs physiologisch der Abwehr von Pathogenen dienen, können sie in hoher Konzentration die Augenoberfläche direkt schädigen. Die in den Netzen enthaltenen Komponenten, wie beispielsweise Histone und die Neutrophilen-Elastase, sind zytotoxisch und können in den Hornhautepithelzellen Apoptose induzieren (Bron et al., 2017).

Zu den Prozessen, die eine erhöhte Evaporation begünstigen, gehören unter anderem Ursachen, die einen direkten Einfluss auf die Qualität der Lipidschicht haben (Bron et al., 2017). Hierzu zählt beispielsweise eine Dysfunktion der Meibom Drüsen (Tomlinson et al., 2011). Darüber hinaus gibt es jedoch auch Ursachen, die indirekt über die Meibom Drüsen wirken, wie beispielsweise saisonale Allergien (Wei et al., 2025). Ein verminderter Tränenfluss kann verschiedene Ursachen haben. Einerseits kann er direkt durch Autoimmunerkrankungen der Tränendrüsen (Giuliano, 2021, Kaswan et al., 1985) bedingt sein. Andererseits kann er indirekt durch Schäden der lakrimalen Funktionseinheit nach Operationen (Bron et al., 2017), beispielsweise bei Kataraktoperationen (Whitley et al., 2013), metabolischen Erkrankungen (Cullen et al., 2005, Miller und Panciera, 1994), infektiöse Ursachen wie z.B. Herpesvirusinfektionen (Ahmad et al., 2025) oder durch Medikamenteneinflüsse (z.B. Atropin (Hollingsworth et al., 1992, Ludders und Heavner, 1979) und Trimethoprim–Sulfadiazine (Berger et al., 1995, Slatter und Blogg, 1978)) verursacht werden .

2.3 Tränenfilm-Diagnostik

2.3.1 Quantitative Tests

2.3.1.1 Schirmer Tränen Test

Der Schirmer Tränen Test (STT) stellt den am häufigsten angewandten Test in der Tränenfilmdiagnostik beim Hund dar. Der Teststreifen wird in den lateralen Fornix des Unterlides eingehängt und nach einer Minute wird die Feuchtigkeit in Millimeter pro Minute (mm/Min) an der Teststreifenskala abgelesen. Der Test misst demnach die wässrige Phase des Tränenfilms (Featherstone und Heinrich, 2021). Dabei ist darauf zu achten, dass die Augen einheitlich geöffnet bleiben, da der Messwert signifikant von der jeweiligen Augenöffnung abhängt (Pe'er et al., 2025). Es existieren weitere Faktoren, die potenziell den STT beeinflussen können, darunter Rasse (Bolzanni et al., 2020), Alter (Hartley et al., 2006), Geschlecht (Hartley et al., 2006), Gewicht (Hartley et al., 2006), Tageszeit (Hartley et al., 2006), systemische Erkrankungen (Cullen et al., 2005), vorangegangene Operationen (Helper et al., 1974), verabreichte Medikamente (Hollingsworth et al., 1992), relative Luftfeuchtigkeit (Yoon et al., 2020), Platzierung des Teststreifens (Visser et al., 2017) und Hersteller der Teststreifen (Hawkins und Murphy, 1986). Der STT ist in zwei Varianten unterteilt, den STT-1 und den STT-2. Der STT-1 misst die Basal- und Reflextränenproduktion (Featherstone und Heinrich,

2021). Nach Verabreichung eines Tropfens Lokalanästhesie wird der STT-2 durchgeführt, wobei ausschließlich die Basaltränenproduktion gemessen wird (Featherstone und Heinrich, 2021). Die Normwerte für den Hund betragen für den STT-1 18,64 ± 4,47 mm/Min bis 23,90 ± 5,12 mm/Min und 6,2 ± 3,1 mm/Min bis 11,6 ± 6,1 mm/Min für den STT-2 (Featherstone und Heinrich, 2021, Gelatt et al., 1975).

2.3.1.2 Nasolakrimaler Reflex

Zur Testung des nasolakrimalen Reflexes (NLR) wird zeitgleich mit dem STT ein mit Alkohol getränkter Wattebausch vor die Nase des Patienten gehalten (Iwashita et al., 2023). Die chemosensorische Stimulation der Nasenschleimhaut aktiviert den N. trigeminus (afferent) und über parasympathische Efferenzen die Tränendrüse, was die Tränenproduktion erhöht (Iwashita et al., 2023). Der NLR untersucht somit die wässrige Phase des Tränenfilms unter Reflexstimulation. Darüber hinaus erlauben die erhobenen Werte des NLR im Vergleich zum STT die Ableitung von Rückschlüssen auf die Hornhautsensibilität (Bolzanni et al., 2020, Iwashita et al., 2023). Ein erhöhter NLR bei vermindertem STT kann ein Anzeichen für Hypästhesie der Hornhaut sein (Iwashita et al., 2023).

2.3.1.3 Phenol-Red-Thread-Test

Der Phenol-Red-Thread-Test (PRT) misst wie der STT die wässrige Phase des Tränenfilms (Brown et al., 1996, Featherstone und Heinrich, 2021). Zu diesem Zweck wird ein 75 mm langer, mit Phenolrot imprägnierter Teststreifen in den konjunktivalen Fornix des Unterlids platziert (Featherstone und Heinrich, 2021). Die Reaktion des pH-sensitiven Phenolrots mit den alkalischen Tränen resultiert in einer orangeroten Färbung des Testreifens (Featherstone und Heinrich, 2021). Nach einer Messzeit von fünfzehn Sekunden erfolgt die Ablesung des Ergebnisses in Millimetern pro 15 Sekunden (mm/15 s) (Featherstone und Heinrich, 2021). Die Normwerte des PRT für den Hund liegen bei 34,15 ± 4,45 mm (Brown et al., 1996). Im Gegensatz zum STT wird der PRT nicht durch die relative Luftfeuchtigkeit beeinflusst (Yoon et al., 2020).

2.3.1.4 Endodontic-Absorbent-Paper-Point-Test

Der Endodontic-Absorbent-Paper-Point-Test (EAPPT) stellt einen weiteren Test der Messung der wässrigen Phase des Tränenfilms dar (Featherstone und Heinrich, 2021). Die Standardlänge der endodontischen Papierspitze beträgt 28 Millimeter (Featherstone und Heinrich, 2021). Ebenso wie beim PRT ist ein Vorteil des EAPPTs, dass auch sehr kleine Augen damit untersucht werden können (Featherstone und Heinrich, 2021). Die Platzierung der endodontischen Papierspitze erfolgt ebenfalls in dem lateralen, konjunktivalen Fornix des Unterlids (Featherstone und Heinrich, 2021). Nach einer Minute wird die Feuchtigkeit in Millimetern pro Minute gemessen (Featherstone und Heinrich, 2021). Bolzanni et al. (2020) publizierten die Standardwerte des EAPPT für Hunde mit 17,1 ± 2,8 mm/15 s.

2.3.1.5 Meniskometrie

Im Rahmen der Untersuchung des Tränenmeniskus` werden zwei Formen unterschieden. Einerseits findet eine Messung der Höhe des Tränenmeniskus (TMH) Anwendung, beispielsweise mittels des Ocular Surface Analyzer (I.C.P. OSA-Vet®). Hierbei handelt es sich um ein nichtinvasives Messverfahren. Andererseits kann eine Messung des Volumens des Tränenmeniskus mittels der Strip-Meniskometrie (SM) erfolgen. Im Rahmen der Messung der TMH wird mit Hilfe des I.C.P. OSA-Vet® unmittelbar nach einem standardisierten Lidschlag (Peruccio et al., 2021) ein Bild des Auges erstellt. Im Anschluss wird in der Software die Grenze des Tränenmeniskus` manuell markiert und die Software berechnet daraus die TMH in Millimetern (Peruccio et al., 2021). Der Normwert der TMH liegt bei 0,53 ± 0,11 mm (Peruccio et al., 2021). Im Rahmen der SM wird ein Teststreifen in den Tränenmeniskus gehalten und nach einer Zeitspanne von fünf Sekunden wieder entfernt (Iwashita et al., 2023). Dabei ist es von besonderer Bedeutung, die Hornhautoberfläche nicht zu berühren und die Lider in neutraler Position zu belassen, um ein Reflextränen zu vermeiden (Iwashita et al., 2023). Beide Verfahren zählen ebenfalls zu den quantitativen Tränenfilm-Tests und geben Rückschlüsse auf die wässrige Phase des Tränenfilms (Wolffsohn et al., 2017). Die Normwerte der SM liegen zwischen 7,3 ± 2,2 und 10,97 ± 2,93 mm/5 s (Iwashita et al., 2023).

2.3.1.6 Meibometrie

Im Rahmen der Meibometrie erfolgt eine quantitative Erfassung des oberflächlichen Lipidgehalts am Lidrand (Ofri et al., 2007). Zu diesem Zweck wird zunächst eine Meibometriefolie für einen kurzen Zeitraum auf die graue Linie des unteren Lidrands aufgebracht. Im Anschluss erfolgt ein Trocknungsschritt, welcher der Entfernung wässriger Anteile dient. Die photometrische Messung im Meibometer basiert auf der durch das aufgenommene Meibom verursachten Änderung der Lichttransmission. Ein niedriger Meibometriewert ist ein Indikator für eine quantitative Lipidinsuffizienz und geht mit einer verkürzten Tränenfilmaufrisszeit einher, was wiederum eine evaporative Instabilität des Tränenfilms bedingt (Ofri et al., 2007).

2.3.2 Qualitative Tests

2.3.2.1 Interferometrie

Die Interferometrie stellt ein nichtinvasives Verfahren zur qualitativen Beurteilung der präkornealen Lipidschicht dar (Blackie et al., 2009). Diese Technik basiert auf dem physikalischen Prinzip der dünnschichtoptischen Interferenz (Wolffsohn et al., 2017). Das einfallende Licht wird an der Luft-Lipid-Grenzfläche sowie an Grenzfläche zwischen Lipidschicht und wässriger Phase teilreflektiert (Wolffsohn et al., 2017). Die Überlagerung der reflektierten Strahlen resultiert in charakteristischen Interferenzmustern (Wolffsohn et al., 2017). Aus der Farbsequenz und Musterhomogenität sowie der Dynamik nach dem Lidschlag (Spreitung, Ausdünnung, Flussrichtung, Störungen) lassen sich qualitative Rückschlüsse auf die Dicke und Homogenität der Lipidschicht (Lipid Layer Thickness, LLT) und damit auf die Verdunstungsstabilität des Tränenfilms ziehen (Wolffsohn et al., 2017). In der vorliegenden Arbeit wurde die Interferometrie nichtinvasiv mit dem I.C.P. OSA-Vet® erhoben. Das Verfahren ist in der Humanophthalmologie und der Veterinärophthalmologie das gleiche.

2.3.2.2 Tränenfilmaufrisszeit

Für die Messung der Tränenfilmaufrisszeit gibt es eine invasive- und eine nichtinvasive Messmethode.

2.3.2.2.1 Invasive Tränenfilmaufrisszeit

Die invasive Tränenfilmaufrisszeit (tear film break-up time, TBUT) wird nach Applikation des Farbstoffes Fluoreszein bestimmt (Featherstone und Heinrich, 2021). Nach dem Auftragen einer minimalen Menge Farbstoff auf die Hornhaut und dem vollständigen, manuellen Verschließen der Lider erfolgt die Messung der Zeit in Sekunden bis zum ersten Aufriss des Tränenfilms unter Kobalt-Blau-Beleuchtung der Spaltlampe (Featherstone und Heinrich, 2021). Der erste Aufriss manifestiert sich in Form dunkler Areale im Fluoreszeinfilm (Featherstone und Heinrich, 2021). Die TBUT repräsentiert die Stabilität des präkornealen Tränenfilms und lässt Rückschlüsse auf die Lipidschicht und die Muzinschicht zu (Hendrix et al., 2021). Für Hunde werden Normbereiche zwischen 19,7 ± 5,0 und 21,53 ± 7,42 Sekunden dokumentiert (Moore, 1990, Saito und Kotani, 2001). Die Messung ist anfällig für externe Faktoren. Es konnte in diversen Studien nachgewiesen werden, dass die Menge bzw. die Konzentration des Farbstoffs, die Applikationsmethode (Streifen statt Tropfen), die Umgebungstemperatur sowie die Luftfeuchtigkeit einen Einfluss haben können (Iwashita et al., 2023, Korb et al., 2001, Seyer et al., 2021, Willcox et al., 2017, Yokoi et al., 2017).

2.3.2.2.2 Nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit

Die nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit (NIBUT) wird in der Humanophthalmologie und der Veterinärophthalmologie mittels Projektion konzentrischer Placido-Ringe auf die Hornhaut bestimmt (Iwashita et al., 2023). Nach einem vollständigen Lidschlag werden die Lider offengehalten. Gemessen wird die Zeit bis zum ersten Auftreten von Verzerrungen oder Unterbrechungen in den reflektierten Ringmustern als Ausdruck des Tränenfilmaufrisses (Iwashita et al., 2023). Das Verfahren kommt ohne Fluoreszin aus und ist somit auch weniger anfällig für externe Faktoren (Iwashita et al., 2023). Für den Hund liegen derzeit keine validierten Referenzbereiche der NIBUT vor.

2.3.2.3 Vitalfärbungen

Fluoreszein, Lissamingrün und Bengalrosa (rose bengal) sind Vitalfarbstoffe, die sich durch ein unterschiedliches Färbungsmuster auszeichnen. Fluoreszein ist ein hydrophiler, lipophober Farbstoff, der in der Lage ist, lebende Epithelzellen zu färben, deren Integrität eingeschränkt ist (Wolffsohn et al., 2017). Dies kann beispielsweise

durch den Verlust von Tight Junctions oder einer defekten Glycocalyx bedingt sein (Wolffsohn et al., 2017). Es färbt in diesem Fall den Interzellularraum und ist dabei von der Färbung des Hornhautstromas im Falle von Hornhautverletzungen abzugrenzen. Zusätzlich kann „pooling“ auftreten, wenn der Farbstoff sich in Unregelmäßigkeiten der Hornhautoberfläche sammelt (Srinivas und Rao, 2023).

Die Anwendung von Rose Bengal führt zur Färbung von Epithelzellen, die nicht von Mucin oder der Glycocalyx bedeckt sind, sowie von toten Zellen (Wolffsohn et al., 2017). Rose Bengal hat einen zytotoxischen Effekt, fördert Reflextränen und wird als unangenehm empfunden (Wolffsohn et al., 2017). Aus diesem Grund wurde es größtenteils durch Lissamingrün ersetzt. Gemäß der Studie von Smith et al. (2020) korreliert eine größere anfärbbare Fläche mit Lissamingrün mit einem niedrigeren STT und einer kürzeren TBUT. Die Anwendung von Lissamingrün führt zur Färbung von Epithelzellen, deren Zellmembran eine Schädigung aufweist (Wolffsohn et al., 2017).

2.3.2.4 Punktförmiges Fluoreszein-Staining

Punktförmiges Fluoreszein-Staining (PFS) bezeichnet die punktförmige Anfärbung der Korneaoberfläche mit Fluoreszein infolge einer gestörten epithelialen Barriere z. B. Auflockerung von Tight Junctions, Mikrodeffekte der oberflächlichen Zelllagen (Wolffsohn et al., 2017). In der Humanophthalmologie besteht eine Korrelation zwischen dem Umfang des PFS´ und dem Schweregrad der DED, welche mit etablierten Schemata, z. B. Oxford- oder NEI-Grading, quantifiziert wird (Wolffsohn et al., 2017). Vergleichbare Befunde finden sich in der Veterinärophthalmologie. Hunde mit einem quantitativen Tränenmangel zeigen signifikant höhere PFS-Scores als gesunde Kontrollen, was die diagnostische Relevanz einer standardisierten PFS auch beim Hund unterstreicht (Saito et al., 2021). Im Gegensatz zur Humanmedizin existiert jedoch kein validiertes Bewertungsschema für die Tiermedizin. In der Literatur finden teils modifizierte Human-Scores oder studienspezifische Skalen Anwendung (Iwashita et al., 2023).

2.3.3 Weitere Tests

2.3.3.1 Infrarot Meibografie

Die Infrarot-Meibografie stellt ein nichtinvasives, bildgebendes Verfahren zur Darstellung der Morphologie der Meibom-Drüsen dar. Neben der qualitativen Beurteilung (Kontinuität, Dilatationen, Tortuositäten, Atrophie) ermöglicht sie auch eine semiquantitative Erfassung des Drüsenverlusts, etwa über einen Meiboscore oder die prozentuale Drüsenverlustfläche (Iwashita et al., 2023, Wolffsohn et al., 2017). Obwohl die Methode den Tränenfilm nicht direkt misst, erlaubt der Meibografiebefund Rückschlüsse auf die Stabilität des Tränenfilms. Ein prozentual höherer Drüsenverlust geht typischerweise mit einer reduzierten LLT sowie einer verkürzten NIBUT einher (Jeong et al., 2022, Viñas et al., 2019, Wolffsohn et al., 2017). Bei DED finden sich charakteristische morphologische Veränderungen wie verkürzte bzw. atrophe Drüsen, segmentale Ausdünnungen, Dilatationen und unregelmäßige Drüsenverläufe (Iwashita et al., 2023, Wolffsohn et al., 2017).

2.3.3.2 Ästhesiometrie

Die Ästhesiometrie erfasst die korneale Sensibilität als neurosensorische Komponente der Tränenfilmregulation (Featherstone und Heinrich, 2021). In der Kleintierophthalmologie findet in der Regel das Cochet–Bonnet-Ästhesiometer Anwendung (Featherstone und Heinrich, 2021, Iwashita et al., 2023). Die Messung der Reizschwelle (corneal touch threshold/corneal tactile sensation) erfolgt hierbei anhand der Fadenlänge, die in drei von fünf Fällen zum Auslösen eines Blinzelns führt (Featherstone und Heinrich, 2021, Iwashita et al., 2023). Das Ergebnis kann in cm der Fadenlänge oder umgerechnet in g/mm^2 angegeben werden (Featherstone und Heinrich, 2021). Eine Hypästhesie der Hornhaut geht mit einer reduzierten Tränenproduktion einher und begünstigt in der Folge die Instabilität des Tränenfilms (Bolzanni et al., 2020, Rahman et al., 2015). Die Ätiologie einer Hypästhesie kann in verschiedenen Faktoren begründet liegen, darunter Rasse (Blocker und Van Der Woerdt, 2001, Bolzanni et al., 2020), vorangegangenen Operationen (Blocker et al., 2007, Khanal et al., 2008, Sebbag et al., 2020), okulären Erkrankungen (Telle et al., 2019) und Allgemeinerkrankungen (Good et al., 2003).

2.3.3.3 Farnkrauttest

Der Farnkrauttest ist eine Methode zur Bewertung der Kristallisationsmuster getrockneter Tränenproben, die als indirektes Maß für die biochemische Zusammensetzung des Tränenfilms verwendet wird (Featherstone und Heinrich, 2021, Iwashita et al., 2023). Die Bewertung erfolgt mit einem Lichtmikroskop auf der Grundlage der Rolando-(Rolando, 1984) oder Masmalis-Skala (Masmali et al., 2015). Gesunde Tränen erzeugen kompakte, dichte Farnmuster, während diese Muster bei DED Lücken aufweisen oder vollständig fehlen (Donaldson und Hartley, 2021, Wolffsohn et al., 2017). Im Bereich der Humanophthalmologie besteht eine hohe Sensitivität und Spezifität für die Diagnose des Sjögren-Syndroms (Wolffsohn et al., 2017); dies gilt jedoch nicht für andere Formen von DED (Wolffsohn et al., 2017). Derzeit wird der Farnkrauttest nicht als Diagnostikum für DED empfohlen (Wolffsohn et al., 2017).

2.3.3.4 Blinkreflex

Der Blinkreflex spielt eine große Rolle in der Regulation des Tränenfilms (Wolffsohn et al., 2017). Ein vollständiger Lidschlag hat die Funktion, den Tränenfilm zu entfernen und zu erneuern (Wolffsohn et al., 2017). Er ist insbesondere für die Verteilung der Lipidschicht verantwortlich (Wolffsohn et al., 2017). Ein hoher Anteil inkompletter Lidschlüsse ist insbesondere bei brachyzephalen Rassen häufig (Carrington et al., 1989, Rajaei et al., 2024, Sebbag und Sanchez, 2023, Sebbag et al., 2023) und steht mit Tränenfilminstabilität und OSD in Zusammenhang (Iwashita et al., 2023). Zusätzlich fördern inkomplette Lidschlüsse das Ausdünnen des Tränenfilms und Hornhautulzerationen, insbesondere im Bereich der zentralen Kornea (Iwashita et al., 2023).

2.4 Okulares Brachycephalensyndrom

Im Vergleich zu mesozephalen und dolichozephalen Hunden weisen brachyzephale Rassen charakteristische anatomische und physiologische Besonderheiten auf, die gemeinsam zu multiplen okulären und periokulären Veränderungen führen und die Anfälligkeit für Ocular Surface Disease (OSD) erhöhen (Sebbag und Sanchez, 2023). Diese Veränderungen werden unter dem Begriff okulares Brachyzephalensyndrom

(Brachycephalic ocular syndrome, BOS) zusammengefasst (Sebbag und Sanchez, 2023). Darüber hinaus existieren systemische und andere Brachyzephalie assoziierte Veränderungen (De Decker et al., 2024, Ekenstedt et al., 2020, Gruenheid et al., 2018, Krainer und Dupré, 2022).

2.4.1 Anatomische Veränderungen

Charakteristisch sind zunächst knöcherne Schädel- und Orbitaveränderungen (Ekenstedt et al., 2020). Brachyzephale Hunde besitzen typischerweise eine abgeflachte Orbita mit konsekutivem Exophthalmus, was die Exposition der Hornhautoberfläche begünstigt (Sebbag und Sanchez, 2023). Die Palpebralfissur ist häufig vergrößert (Makroblepharon), was in Kombination mit der flachen Orbita und dem Exophthalmus das Risiko einer Proptosis erhöht und die Oberflächenexposition verstärkt (Sebbag und Sanchez, 2023). Entsprechend sind brachyzephale Rassen in Studien zur ulzerativen Keratitis überrepräsentiert (Iwashita et al., 2020, O'Neill et al., 2017, Packer et al., 2015, Sebbag und Sanchez, 2023). Zusätzlich treten gehäuft Lidfehlstellungen (mediales Entropium) und fehlwachsende Haare (Distichen, ektope Zilien) auf (Sebbag und Sanchez, 2023). Nasale Hautfalten können je nach Ausprägung eine zusätzliche Trichiasis verursachen (Sebbag und Sanchez, 2023). Diese Faktoren führen zu mechanischer Reizung und tragen zur oberflächlichen Irritation und Epithelverletzung bei (Ekenstedt et al., 2020, Sebbag und Sanchez, 2023).

Der Ductus nasolacrimalis ist bei brachyzephalen Rassen häufig verkürzt und nimmt einen anderen Verlauf als bei meso- oder dolichozephalen Hunden (Sahr et al., 2021). Aufgrund akzessorischer Ostien kann die klinische Relevanz dieser Variation hinsichtlich der Drainage jedoch gering sein (Sahr et al., 2021). Aufgrund dieser akzessorischer Ostien ist der Jones Test häufig negativ und lässt somit keine Aussage über die Durchgängigkeit des Tränennasenkanals zu (Sahr et al., 2021). Der Jones Test untersucht die Durchgängigkeit des Tränennasenkanals. Dabei wird Fluoreszin Farbstoff in beide Augen gegeben und die Zeit gemessen, bis dieses im Bereich der Nares sichtbar wird (Jones, 1961).

Daten zur kornealen Nervenfaserdichte deuten bei brachyzephalen Hunden auf eine verminderte Innervation im Vergleich zu mesozephalen Tieren hin (Kafarnik et al., 2008). Da Hornhautnerven für Blinzelreflex, Temperaturwahrnehmung, Reflextränen, Korneawundheilung und Tränenfilmregulation bedeutsam sind, kann eine niedrigere

Nervenfaserdichte die Vulnerabilität für Tränenfilmstörungen und Ulzerationen zusätzlich erhöhen (Yu et al., 2022).

2.4.2 Physiologische Veränderungen

Zu den physiologischen Veränderungen gehören zum einen Veränderungen des Lidschlusses (Lagophthalmus, reduzierte Blinzelrate) und zum anderen Störungen des Tränenfilms (Sebbag und Sanchez, 2023).

Die erhöhte Zeit zwischen zwei Lidschlägen sowie der Lagophthalmus begünstigen die Evaporation des Tränenfilms und fördern eine Dysfunktion der Meibom-Drüsen (Rajaei et al., 2024). Der Lidschlag ist maßgeblich an der Entleerung des Meiboms und der Verteilung des Tränenfilms beteiligt. In mehreren Studien wurden signifikante Unterschiede in den Parametern des Tränenfilms zwischen als gesund eingestuften brachycephalen Hunden und mesocephalen sowie dolichocephalen Rassen festgestellt (Bolzanni et al., 2020, Li et al., 2024, Rajaei et al., 2024, Sebbag und Sanchez, 2023, Sebbag et al., 2023). In ihrer Studie belegen Li et al. (2024) eine signifikant niedrigere TBUT, NIBUT und LLT bei brachycephalen Hunden im Vergleich zu nicht brachycephalen Hunden. Ursächlich kommen in diesem Fall, neben einer inhärenten/primären und/oder entzündlich bedingten Dysfunktion der Meibom-Drüsen, die zuvor genannten Gründe in Frage.

III VERÖFFENTLICHUNGEN

3.1 1. Publikation

Der Originalartikel wurde am 08.03.2025 eingereicht, am 14.07.2025 angenommen und am 01.12.2025 im Journal Veterinary Ophthalmology veröffentlicht.

Titel: Intra-Rater Variability and Inter-Rater Reliability in Measuring Tear Osmolarity in Dogs Using the ScoutPro System

Autoren: Joschka Spornberger, Petr Soukup, Andrea Meyer-Lindenberg, Ingrid Allgoewer

Zeitschrift: Veterinary Ophthalmology, Vol. 28, Issue 6, Pages 970 - 976

Copyright & Abdruckgenehmigung:

© 2025 American College of Veterinary Ophthalmologists.

Der Nachdruck erfolgt mit freundlicher Genehmigung von John Wiley & Sons, Inc.

(RightsLink / Copyright Clearance Center Lizenz-Nr. 6317530665868).

Check for updates

Veterinary Ophthalmology

WILEY

BRIEF COMMUNICATION

Intra-Rater Variability and Inter-Rater Reliability in Measuring Tear Osmolarity in Dogs Using the ScoutPro System

Joschka Spornberger[1] | Petr Soukup[1] | Andrea Meyer-Lindenberg[2] | Ingrid Allgoewer[1]

[1]Animal Eye Practice, Berlin, Germany | [2]LMU Munich, Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Munich, Germany

Correspondence: Joschka Spornberger (J.Spornberger@gmail.com)

Received: 8 March 2025 | **Revised:** 15 June 2025 | **Accepted:** 14 July 2025

Funding: The authors received no specific funding for this work.

Keywords: canine | dry eye disease | I-PEN Vet | ocular surface | tear film | TearLab

ABSTRACT

Objective: To evaluate the applicability of the ScoutPro (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA) osmolarity system for tear film osmolarity measurement in healthy dogs.

Animals Studied: Seventeen dogs (34 eyes) of dolichocephalic and mesocephalic breeds were tested.

Procedures: Tear osmolarity was tested with the ScoutPro osmolarity system. Two examiners performed three subsequent measurements of each eye. Intra-rater variability and inter-rater reliability were calculated.

Results: The technique was straightforward; instrument handling was simple. Mean tear osmolarity measured by examiner one was 323.51 ± 9.89 mOsm/L and by examiner two 326.74 ± 9.02 mOsm/L. Mean difference between examiners was 3.2 ± 11.2 mOsm/L. Paired two-tailed *t*-test was $p = 0.1$. The intra-rater variability was acceptable with a Cronbach's Alpha of 0.75 for rater one and 0.80 for rater two. There were no significant differences in the three measurements of the individual examiners. There were no significant differences in the three measurements of the individual examiners (asymptotic significance rater one was 0.56, asymptotic significance rater two was 0.11).

Conclusions: Measurements with the ScoutPro osmolarity system in dogs are easy to perform. Variability and inter-rater reliability seem to be acceptable in the small group of dogs tested. Further studies regarding the reliability of the test results and the evaluation of the tear osmolarity in ocular surface disease are warranted.

1 | Introduction

The tear film fulfills many important functions in the eye, broadly summarized as protecting the ocular surface from environmental factors, supplying nutrients to the cornea, and acting as a medium for the refractive exchange of light [1]. The tear film homeostasis is therefore of great importance for the healthy eye [1]. A disruption of this homeostasis results in the development of dry eye disease [2], a multifactorial disease in which hyperosmolarity has been identified as the underlying pathophysiological core mechanism for its development in humans [3]. Hyperosmolarity is caused either by increased evaporation (evaporative dry eye disease (EDED)) or by insufficient tear production (aqueous-deficient dry eye disease (ADDE)) [3]. The increase in osmolarity results in direct damage to goblet cells and epithelial cells of the ocular surface, as well as indirect damage to these cells through an inflammatory response involving, among other things, inflammatory cytokines, matrix metalloproteinases, and tumor necrosis factor alpha, which ultimately leads to cell loss [3]. These ongoing pathological mechanisms reinforce one another, thereby creating a "vicious cycle" with various entry points [3, 4].

© 2025 American College of Veterinary Ophthalmologists.

While the measurement of osmolarity is common practice in human ophthalmology [5] and is the single best metric parameter for diagnosing dry eye disease [5–7], measurement of osmolarity in veterinary ophthalmology is not common. Osmolarity values below 308 mOsm/L are considered normal for humans, while the threshold of 316 mOsm/L has been proposed as a means of differentiating between a moderate and a severe form of dry eye disease [3].

In veterinary ophthalmology, the first description of the use of an osmometer for the measurement of animal tear fluid occurred in 2009. Korth et al. used the TearLab osmometer for the measurement of tear osmolarity in 70 healthy dogs [8]. Since then, several studies have been conducted (Table 1).

Lamkin et al. described a mean osmolarity of 318.55 ± 20.82 mOsm/L in 22 healthy dogs of various breeds [9]. Similarly, Brito et al. reported a mean osmolarity of 315.27 ± 6.15 mOsm/L in 15 healthy Pugs and 15 healthy Shih Tzus, and 353.02 ± 16.58 mOsm/L in 22 Pugs and 30 Shih Tzus with signs of keratoconjunctivitis sicca [15]. In a separate study on Pugs and Shih Tzus, with five dogs of each breed in each group, Brito et al. reported a mean osmolarity of 320.15 ± 5.55 mOsm/L for their control group and 352.00 ± 8.29 mOsm/L and 348.75 ± 5.10 mOsm/L for their treatment groups of dogs with keratoconjunctivitis sicca [16]. The measurements were taken before the start of treatment. Estanho et al. observed a mean osmolarity of 299.2 ± 13.9 mOsm/L in a control group of 11 healthy dogs. In their two treatment groups of 11 dogs each undergoing treatment for keratoconjunctivitis sicca, a modest increase in osmolarity was measured. The exact values of the osmolarity for the treatment groups and for the breeds included in the study have not been explicitly stated [10]. In another study, Choi et al. reported a mean osmolarity of 305.54 ± 18.67 mOsm/L in 14 healthy dogs [11]. Armor et al. noted a mean osmolarity of 317.5 ± 21.6 mOsm/L in 44 healthy dogs [12] and Ng et al. reported a mean osmolarity of 293.6 ± 14.1 mOsm/L in 32 non-brachycephalic, healthy dogs [13]. All measurements listed above were taken using the I-PEN Vet osmometer.

Another osmometer used in veterinary ophthalmology is the TearLab. The following TearLab data was published. Conceição et al. reported a mean osmolarity of 321.0 ± 9.7 mOsm/L in a control group of 40 eyes and 314.0 ± 22.0 mOsm/L in a group of 31 eyes of dogs with keratoconjunctivitis sicca [19]. Sebbag et al. reported a mean osmolarity of 337.4 ± 16.2 in 6 healthy Beagles and a mean of 306.2 ± 18.0 mOsm/L in 5 Beagles with keratoconjunctivitis sicca [20]. Mohoric et al. measured a mean osmolarity of 337.2 ± 7.3 mOsm/L in 20 healthy dogs [18]. Leonard et al. measured a median osmolarity of 339 mOsm/L in 13 healthy West Highland White Terriers and 346 mOsm/L in 3 West Highland White Terriers with keratoconjunctivitis sicca [21]. Korth et al. reported a median osmolarity of 355.50 mOsm/L in 76 healthy dogs [8] and 356 mOsm/L in 91 healthy dogs [17]. Williams et al. reported a mean osmolarity of 339.2 ± 22.7 mOsm/L in 153 eyes of dogs with no signs of keratoconjunctivitis sicca and a mean osmolarity of 350.5 ± 26.7 mOsm/L in 47 eyes of dogs with signs of keratoconjunctivitis sicca [22]. In a separate study, Delgado et al. reported a mean osmolarity of 320.8 ± 9.6 mOsm/L in a cohort of healthy dogs and a mean osmolarity of 340.3 ± 21.6 mOsm/L in a cohort of atopic dogs with allergic conjunctivitis [23]. In a direct comparison of the two devices in the same patient, Kim et al. recorded a mean osmolarity of 340.42 ± 15.87 mOsm/L for the TearLab and 321.58 ± 17.39 mOsm/L for the I-PEN Vet [14]. The study was conducted on 52 healthy dogs of various breeds [14].

Mean osmolarity of the tear film in healthy canines was found to be within the normal range, with values of 337–339 mOsm/L as determined by the TearLab and 315–319 mOsm/L as measured by the I-PEN Vet [24].

The objective of this study was to investigate the use of the novel ScoutPro osmolarity system and its usability in the veterinary ophthalmological examination, taking into account intra-rater variability and inter-rater reliability.

2 | Materials and Methods

The dogs examined consisted of patients presented to the practice as part of a routine hereditary eye examination. The owners were informed in advance of the additional measurement of the osmolarity of the tear fluid and gave their written consent for this to be done. All examinations were carried out within the framework of the GERVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research and with the approval of the Berlin State Office for Health and Social Affairs under the number StN 017/23.

Only non-brachycephalic dogs that did not have any underlying systemic disease, that had not been treated with any form of eye drops for at least 7 days prior to the examination, and were considered healthy by their owners were included in the study.

Animals were excluded from the study when the ophthalmic examination revealed ocular abnormalities that could have influenced the tear film. Brachycephalic breeds are predisposed to ADDE and EDED [25], these breeds were excluded.

2.1 | Osmometry

Tear film osmolarity was measured using the Trukera Medical ScoutPro (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA) by both examiners, consisting of a board-certified ophthalmologist and a resident in training. The measurement procedure followed the manufacturer's instructions [26]. At the beginning of each examination day, a quality check of the device was carried out by using the electronic check card provided by the manufacturer.

The measurement was performed on the tear meniscus of the lateral canthus in the area of the lower eyelid via the single use osmolarity test cards collecting 50 nanolitres of tear fluid. (Figure 1) The procedure was similar to that previously described for the TearLab [20]. (Figure 1) The device measured the osmolarity of the collected sample through a temperature-corrected impedance measurement [26]. Each

TABLE 1 | Overview of studies regarding tear osmolarity in dogs. Included in this overview are the types of osmometers used, the health status of the patients, and the breeds that have been represented.

Device used	Mean, with standard deviation, or median osmolarity (mOsm/L)	Health status	Breeds	Study
I-PEN Vet	318.55 ± 20.82	Healthy	Mixed breed ($n = 7$), Labrador Retriever ($n = 4$), Boxer ($n = 3$), Borzoi ($n = 2$), Bluetick Coonhound ($n = 1$), Border Collie ($n = 1$), Chihuahua ($n = 1$), Cocker Spaniel ($n = 1$), French Bulldog ($n = 1$), Italian Sighthound ($n = 1$)	Lamkin et al. [9]
I-PEN Vet	299.2 ± 13.9	Healthy	Breeds not specified ($n = 11$)	Estanho et al. [10]
I-PEN Vet	305.54 ± 18.67	Healthy	English Springer Spaniel ($n = 4$), Labrador Retriever ($n = 10$)	Choi et al. [11]
I-PEN Vet	317.5 ± 21.6	Healthy	Breeds not specified ($n = 44$)	Armor et al. [12]
I-PEN Vet	293.6 ± 14.1	Healthy	Mixed breed ($n = 16$), Labrador Retriever ($n = 6$), Golden Retriever ($n = 1$), Weimaraner ($n = 1$), Coonhound ($n = 1$), Blue Heeler ($n = 1$), German Sheperd ($n = 1$), Great Dane ($n = 1$), Miniature Schnauzer ($n = 1$), Beagle ($n = 1$), Siberian Husky ($n = 1$), Portuguese Water Dog ($n = 1$)	Ng et al. [13]
I-PEN Vet	321.58 ± 17.39	Healthy	Shih Tzu ($n = 6$), Maltese ($n = 9$), Bichon Frisé ($n = 4$), Poodle ($n = 17$), Yorkshire Terrier ($n = 2$), Maltipoo ($n = 2$), mixed breed ($n = 6$), Italian Sighthound ($n = 1$), French Bulldog ($n = 1$), Shetland Sheepdog ($n = 1$), German Spitz ($n = 2$), Border Collie ($n = 1$)	Kim et al. [14]
I-PEN Vet	315.27 ± 6.15	Healthy	Pug ($n = 15$), Shih Tzu ($n = 15$)	Brito et al. [15]
I-PEN Vet	353.02 ± 16.58	Keratoconjunctivitis sicca	Pug ($n = 22$), Shih Tzu ($n = 30$)	
I-PEN Vet	320.15 ± 5.55	Healthy	Pug ($n = 5$), Shih Tzu ($n = 5$)	Brito et al. [16]
I-PEN Vet	352.00 ± 8.29	Keratoconjunctivitis sicca	Pug ($n = 5$), Shih Tzu ($n = 5$)	
I-PEN Vet	348.75 ± 5.10	Keratoconjunctivitis sicca	Pug ($n = 5$), Shih Tzu ($n = 5$)	
TearLab	340.42 ± 15.87	Healthy	Shih Tzu ($n = 6$), Maltese ($n = 9$), Bichon Frisé ($n = 4$), Poodle ($n = 17$), Yorkshire Terrier ($n = 2$), Maltipoo ($n = 2$), mixed breed ($n = 6$), Italian Sighthound ($n = 1$), French Bulldog ($n = 1$), Shetland Sheepdog ($n = 1$), Pomeranian ($n = 2$), Border Collie ($n = 1$)	Kim et al. [14]
TearLab	355.50	Healthy	Breeds not specified ($n = 70$)	Korth et al. [8]
TearLab	356	Healthy	Breeds not specified ($n = 91$)	Korth et al. [17]
TearLab	337.2 ± 7.3	Healthy	Breeds not specified ($n = 20$)	Mohoric et al. [18]

(Continues)

TABLE 1 | (Continued)

Device used	Mean, with standard deviation, or median osmolarity (mOsm/L)	Health status	Breeds	Study
TearLab	321.0 ± 9.7	Healthy	Breeds and number of dogs not specified ($n = 40$ eyes)	Conceição et al. [19]
TearLab	314.0 ± 22.0	Keratoconjunctivitis sicca	Breeds and number of dogs not specified ($n = 31$ eyes)	
TearLab	337.4 ± 16.2	Healthy	Beagle ($n = 6$)	Sebbag et al. [20]
TearLab	306.2 ± 18.0	Keratoconjunctivitis sicca	Beagle ($n = 5$)	
TearLab	339	Healthy	West Highland White Terrier ($n = 13$)	Leonard et al. [21]
TearLab	346	Keratoconjunctivitis sicca	West Highland White Terrier ($n = 3$)	
TearLab	339.2 ± 22.7	Healthy	Breeds and number of dogs not specified ($n = 153$ eyes)	Williams et al. [22]
TearLab	350.5 ± 26.7	Keratoconjunctivitis sicca	Breeds and number of dogs not specified ($n = 47$ eyes)	
TearLab	320.8 ± 9.6	Healthy	Breeds not specified ($n = 20$)	Delgado et al. [23]
TearLab	340.3 ± 21.6	Atopic dogs with allergic conjunctivitis	Breeds not specified ($n = 20$)	

examiner performed three consecutive measurements on the left eye followed by three consecutive measurements on the right eye with a pause in-between measurements of around 40 s to exchange the test card. The examiners then alternated. The ophthalmic examination consisted of the following procedures, depending on the requirement of each patient: slit-lamp biomicroscopy (Kowa SL-17; Kowa, Tokyo, Japan), gonioscopy (Koeppe Small Diagnostic Lens; Ocular Instruments Inc., Bellevue, USA), indirect ophthalmoscopy (Video Omega 2C; HEINE Optotechnik GmbH & Co. KG, Gilching, Germany) and Schirmer tear test 1 (Tear Touch Blu, Madhu Instruments Pvt. Ltd., New Delhi, India). The ophthalmic examination was only performed after both examiners had completed their osmolarity measurements.

All examinations were performed in the same room at a room temperature ranging from 20°C to 25°C. Humidity was not determined.

2.2 | Statistical Analysis

The statistical analysis of the data was carried out by Novustat GmbH (Wollerau, Switzerland). Intra-rater variability was assessed using both the Friedman test and Cronbach's Alpha. The Friedman test was applied to detect any systematic differences across the three repeated measurements performed by the same rater. In parallel, Cronbach's Alpha was calculated to evaluate the internal consistency of these repeated measurements, indicating how closely they varied together. A high alpha suggests that the rater produced stable and consistent results across all measurements. The coefficient ranges from 0 to 1, with higher values indicating greater agreement. An alpha value of ≥ 0.70 is considered acceptable. For the inter-rater reliability, the average of all osmolarity measurements of rater one and rater two was compared using a paired-t test.

3 | Results

Seventeen dogs (34 eyes) of various dolichocephalic and mesocephalic breeds [Golden Retriever ($n = 6$), Australian Shepherd ($n = 3$), Labrador Retriever ($n = 2$), Dachshund ($n = 2$), Elo ($n = 1$), Siberian Husky ($n = 1$), Greater Swiss Mountain Dog ($n = 1$), mixed breed ($n = 1$)] with an age range of 0.5–10 years (mean 4 ± 3.04) were included.

The technique was straightforward and the instrument was easy to use and well tolerated by the patients.

Mean tear osmolarity measured by examiner one was 323.51 ± 9.89 mOsm/L and by examiner two 326.74 ± 9.02 mOsm/L. Mean difference between examiners was 3.2 ± 11.2 mOsm/L. The paired *t*-test showed no significant difference between the two means with a $p = 0.1$. There were no significant differences ($p = 0.4$) between the mean measurements between the left and the right eye. (Figure 2).

The intra-rater variability was acceptable with a Cronbach's Alpha of 0.75 for rater one and 0.80 for rater two. There were no significant differences in the three measurements of the

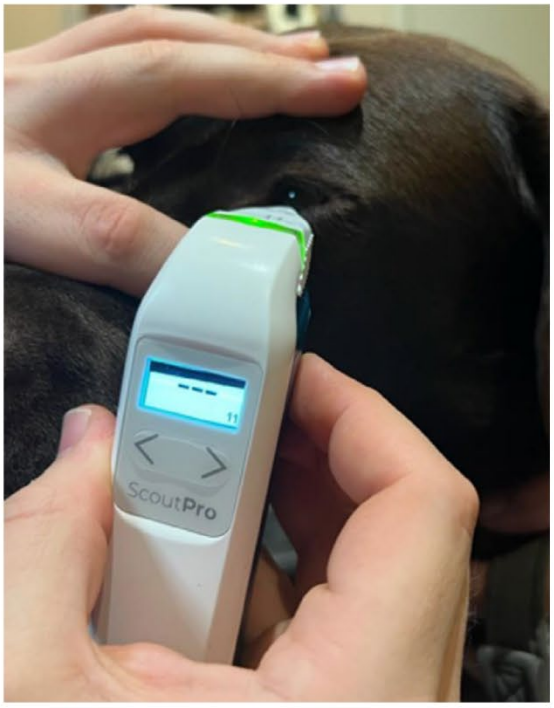


FIGURE 1 | Handling of the ScoutPro.

individual examiners (asymptotic significance rater one was 0.56, asymptotic significance rater two was 0.11) (Figure 3).

4 | Discussion

The current veterinary literature contains descriptions of two osmometer devices used in ophthalmic examinations. These include the TearLab and I-PEN Vet, which have been used in a variety of studies [8–23]. Both devices measure tear film osmolarity through electronic impedance measurement. The TearLab uses a temperature-corrected impedance measurement, while the I-PEN Vet uses a non-temperature-corrected impedance measurement. The TearLab collects the measurement sample from the tear meniscus in the temporal area of the lower eyelid, while the I-PEN Vet measures by contact with the conjunctiva on the inner side of the lower eyelid. Consequently, a temperature correction is not necessary for the I-PEN Vet, as the assumed stable temperature of the palpebral conjunctiva negates the need for correction [27].

The ScoutPro device is similar to the sample collection unit of the TearLab. It has an integrated measurement system without the need for a separate measurement station and uses the same temperature-corrected impedance measurement method as the TearLab [26]. Unlike the TearLab, the test cards for the ScoutPro do not require storage in the test card tray for 25 min prior to use [26, 28], allowing for immediate osmolarity measurement during ophthalmic examinations throughout the day and eliminating the need for temperature equalization between the device and the test cards. This reduces potential sources of error due to incorrect handling.

In the review paper by Iwashita et al. the authors reported a range from 337 to 339 mOsm/L for the TearLab and 315–319 mOsm/L for the I-Pen Vet in healthy dogs [24]. In the present study, the mean tear osmolarity measured using the ScoutPro was 323.51 ± 9.89 mOsm/L and 326.74 ± 9.02 mOsm/L for examiners one and two, respectively. These values fall within the expected physiological range and lie between those previously reported for the I-PEN Vet and the TearLab [24] (Table 1). The mean tear osmolarity values measured by the ScoutPro system are methodologically similar to the TearLab [26, 28], yet numerically closer to those reported for the I-PEN Vet. This discrepancy may be indicative of subtle variations in sensor calibration, unique measurement characteristics of the device, or differences attributable to the heterogeneous patient populations studied across different studies. The

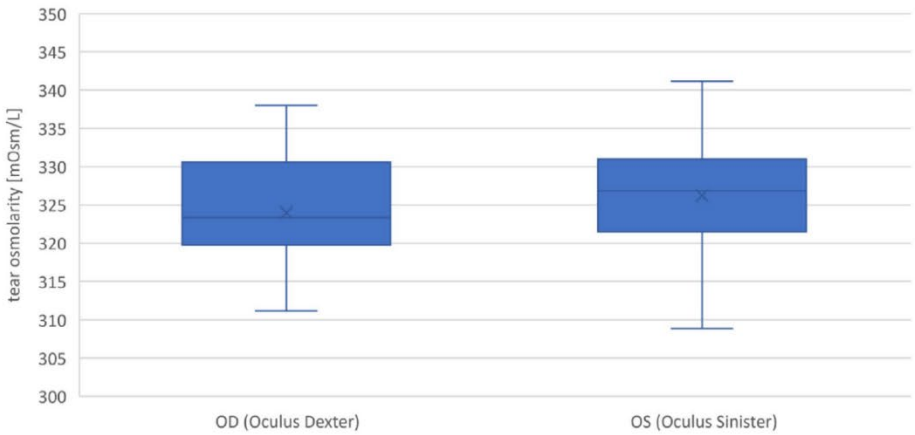


FIGURE 2 | Box and whisker plots of tear osmolarity (mOsm/L) for the right (OD) and left (OS) eye. Boxes represent the interquartile range, horizontal lines indicate the median, × symbols indicate the mean, and whiskers extend to the minimum and maximum values. Data include all measurements from both investigators. No significant difference was found between eyes (paired *t*-test, $p = 0.398$).

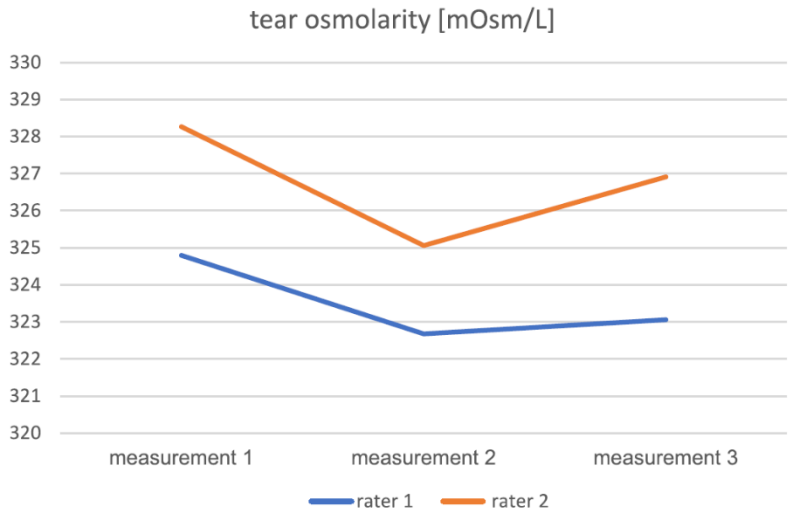


FIGURE 3 | Line graph showing the mean tear osmolarity (mOsm/L) across three measurements for rater 1 and rater 2. Differences in mean values between raters at each time point were assessed using the paired *t*-test and were not statistically significant at any time point.

intra-rater variability was acceptable, with Cronbach's Alpha values of 0.75 and 0.80 being attained by the two examiners. These values suggest moderate to good internal consistency, thus supporting the use of the ScoutPro in clinical settings. The Friedman test also confirmed that no significant differences occurred among repeated measurements from the same rater, indicating measurement stability.

The average results of the tear film osmolarity measurements vary greatly between the different devices [24] (Table 1) and potentially between different breeds. Brachycephalic breeds are predisposed to ADDE and EDED [25], thus the osmolarity measurements taken in healthy dogs of these breeds might not be comparable to normative values measured in dolichocephalic and mesocephalic breeds.

Comparison of I-PEN Vet and TearLab results shows that the I-PEN Vet almost always measures a lower osmolarity than the TearLab in healthy dogs [8–22]. With the exception of the studies conducted by Sebbag et al. [20] and Conceição et al. [19], all studies demonstrated an increase in osmolarity, though not always statistically significant, in dogs with keratoconjunctivitis sicca (ADDE) when compared to healthy dogs [15, 16, 21, 22]. From a physiological point of view, this is to be expected, as osmolarity should increase with a decrease in lacrimal fluid [20]. Sebbag et al. discussed their contrary results as being probably due to errors in the sampling process, leading to involuntary prolonged ocular contact and the introduction of air bubbles into the microchip [20]. The difference in osmolarity measured between healthy dogs and those affected by keratoconjunctivitis sicca in the study conducted by Conceição et al. was not statistically significant, and the contrary result was not discussed. However, it was noticeable that the procedure of osmolarity measurement performed poorly, especially in severe cases of keratoconjunctivitis sicca [19]. It can be assumed that the reasons given by Sebbag et al. [20] also apply to the results of Conceição et al. [19]. Comparable studies for the ScoutPro are lacking.

To the authors knowledge, this is the first study using the ScoutPro system for the measurement of canine tear osmolarity.

Limitation of this study includes the small number of dogs examined.

Further studies are needed to confirm osmolarity as an accepted part of dry eye disease assessment in dogs, taking into account not only the differences in the measurements using different osmometers, but also possible variations observed across breeds.

In conclusion, the results of this study demonstrate that the ScoutPro can be easily used to measure tear osmolarity in dogs and that it provides comparable readings in both repeated measurements and between different examiners.

Author Contributions

Joschka Spornberger: conceptualization, investigation, writing – original draft, writing – review and editing, methodology, validation, visualization, formal analysis, data curation. **Petr Soukup:** conceptualization, writing – original draft, writing – review and editing, methodology, visualization. **Andrea Meyer-Lindenberg:** writing – original draft, writing – review and editing, methodology, supervision. **Ingrid Allgoewer:** conceptualization, investigation, funding acquisition, writing – original draft, methodology, validation, writing – review and editing, formal analysis, data curation, supervision, resources, project administration.

Ethics Statement

This study was approved by the Berlin State Office for Health and Social Affairs under the number StN 017/23. Animal owners or owners' representatives provided written informed consent for enrollment in the study, procedure(s) and therapy undertaken, and publication of data and images.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

1. M. D. P. Willcox, P. Argüeso, G. A. Georgiev, et al., "TFOS DEWS II Tear Film Report," *Ocular Surface* 15 (2017): 366–403.

2. J. P. Craig, K. K. Nichols, E. K. Akpek, et al., "TFOS DEWS II Definition and Classification Report," *Ocular Surface* 15 (2017): 276–283.

3. A. J. Bron, C. S. de Paiva, S. K. Chauhan, et al., "TFOS DEWS II Pathophysiology Report," *Ocular Surface* 15 (2017): 438–510.

4. S. Yeh, X. J. Song, W. Farley, D. Q. Li, M. E. Stern, and S. C. Pflugfelder, "Apoptosis of Ocular Surface Cells in Experimentally Induced Dry Eye," *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 44 (2003): 124–129.

5. J. S. Wolffsohn, R. Arita, R. Chalmers, et al., "TFOS DEWS II Diagnostic Methodology Report," *Ocular Surface* 15 (2017): 539–574.

6. M. A. Lemp, A. J. Bron, C. Baudouin, et al., "Tear Osmolarity in the Diagnosis and Management of Dry Eye Disease," *American Journal of Ophthalmology* 151 (2011): 792–798.e791.

7. H. Pena-Verdeal, C. Garcia-Resua, J. Garcia-Queiruga, B. Sabucedo-Villamarin, E. Yebra-Pimentel, and M. J. Giraldez, "Diurnal Variations of Tear Film Osmolarity on the Ocular Surface," *Clinical & Experimental Optometry* 106 (2023): 351–361.

8. R. M. E. Korth AMB, G. Arndt, and C. Eule, "Tear Film Osmolarity in Healthy Dogs Abstracts: Annual Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists/European Society of Veterinary Ophthalmologists, Copenhagen, Denmark, June 3–7, 2009," *Veterinary Ophthalmology* 12 (2009): 379–385.

9. I. D. Lamkin, K. L. Zimmerman, K. M. Smith Fleming, and B. C. Martins, "Osmolarity of Basal and Reflex Tears of Normal Dogs," *Veterinary Ophthalmology* 23 (2020): 747–753.

10. G. J. G. Estanho, J. Passareli, L. D. S. Pando, et al., "Comparison of Topical 0.03% Tacrolimus and Homologous Injectable Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs," *Veterinary World* 16 (2023): 134–143.

11. J.-S. K. Choi, J. Y. Kim, and S. W. Jeong, "Evaluation of Tear Quantity and Quality Treated With Gintonin Eye Drops in Labrador Retrievers and English Springer Spaniels," *Thai Journal of Veterinary Medicine* 51 (2021): 15.

12. M. D. Armour and M. E. Gibson, "Evaluation of Tear Osmolarity in Healthy Canines Using a Novel Osmolarity System Abstracts: 46th Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists, Coeur D'alene," *Veterinary Ophthalmology* 18 (2015): E17–E34.

13. A. T. J. Ng, P. A. Moore, and S. D. Boveland, "Assessment of Meibomian Gland Morphology and Tear-Film Lipid Layer Using Noncontact Infrared Meibography and Meibometry, Respectively, and Tear-Film Osmolarity in Healthy Dogs," *Veterinary Ophthalmology* 1, no. 9 (2024).

14. H.-w. Kim and J.-Y. Kim, "Randomized Comparison of In Vivo Performance of TearLab and I-PEN Osmometry in Normal Dogs," *Veterinary Ophthalmology* 26 (2023): 440–445.

15. F. L. C. Brito, J. N. Voitena, T. O. C. Marinho, B. A. Moore, and F. Montiani-Ferreira, "Assessment of Tear Film Osmolarity Using the IPenVet Osmometer in Pug and Shih-Tzu Dogs With and Without Keratoconjunctivitis Sicca," *Veterinary Ophthalmology* 25 (2022): 219–224.

16. F. L. C. Brito, A. Kuner, J. N. Voitena, and T. O. C. Marinho, "Oral Mucosa Transplantation May Improve Tear Film Osmolarity in Dogs With Keratoconjunctivitis Sicca - a Preliminary Study," *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 73 (2021): 1278–1286.

17. R. M. E. R. G. Korth and J. C. Eule, "Tear Film Osmolarity as a Diagnostic Tool in Small Animal and Equine Medicine?," *Veterinary Ophthalmology* 13 (2010): 348–351.

18. P. J. M. PG, S. G. Sisler, and B. K. Collins, "Use of the Tearlab Osmolarity System to Evaluate Tear Osmolarity in Normal Adult Dogs Abstracts: 42nd Annual Meeting of the American College of Veterinary Ophthalmologists, Hilton Head, SC, USA," *Veterinary Ophthalmology* 14 (2011): 406–422.

19. D. C. TN, M. A. Basso, and E. Delgado, "Abstracts: European Society of Veterinary Ophthalmologists, Lisbon, Portugal," *Veterinary Ophthalmology* 19 (2016): E1–E7.

20. L. Sebbag, S. A. Park, P. H. Kass, D. J. Maggs, M. Attar, and C. J. Murphy, "Assessment of Tear Film Osmolarity Using the TearLab Osmometer in Normal Dogs and Dogs With Keratoconjunctivitis Sicca," *Veterinary Ophthalmology* 20 (2017): 357–364.

21. B. C. Leonard, K. A. Stewart, G. C. Shaw, et al., "Comprehensive Clinical, Diagnostic, and Advanced Imaging Characterization of the Ocular Surface in Spontaneous Aqueous Deficient Dry Eye Disease in Dogs," *Cornea* 38 (2019): 1568–1575.

22. D. Williams and A. Buckingham, "Measurement of Tear Osmolarity in the Canine Eye: A New Diagnostic Tool for Canine Keratoconjunctivitis Sicca," *Research Reviews Journal of Veterinary Sciences* 3 (2017): 8–12.

23. E. D. GM and A. Lourenço, "Tear Film Osmolarity in Atopic Dogs With Alergic Conjunctivitis European Society of Veterinary Ophthalmologists, Bucharest, Romania, October 17–20, 2013," *Veterinary Ophthalmology* 17 (2014): E1–E3.

24. H. Iwashita, L. Sebbag, B. C. Leonard, and A. Saito, "A Review of Diagnostic Tests for Qualitative and Quantitative Tear Film Deficiency in Dogs," *Veterinary Ophthalmology* 26 (2023): 5–15.

25. E. A. Hisey, A. Galor, and B. C. Leonard, "A Comparative Review of Evaporative Dry Eye Disease and Meibomian Gland Dysfunction in Dogs and Humans," *Veterinary Ophthalmology* 26 (2023): 16–30.

26. "Medical T. ScoutPro Osmolarity System – User Manual," (2022).

27. C. C. Chan, A. Borovik, I. Hofmann, E. Gulliver, and G. Rocha, "Validity and Reliability of a Novel Handheld Osmolarity System for Measurement of a National Institute of Standards Traceable Solution," *Cornea* 37 (2018): 1169–1174.

28. TearLab, "Tear Lab Osmolarity System—User Manual," (2017).

3.2 2. Publikation

Der Originalartikel wurde am 25.10.2025 eingereicht, am 25.11.2025 angenommen und am 10.12.2025 im Journal Frontiers in Veterinary Science veröffentlicht.

Titel: Tear film characteristics in French Bulldogs vs non-brachycephalic dogs

Autoren: Joschka Spornberger, Petr Soukup, Andrea Meyer-Lindenberg, Ingrid Allgoewer

Zeitschrift: Frontiers in Veterinary Science, Volume 12 - 2025

Copyright & Abdruckgenehmigung:

© 2025 Die Autoren.

Der Nachdruck erfolgt als Open-Access-Beitrag unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution Lizenz (CC BY).

frontiers | Frontiers in Veterinary Science

TYPE Original Research
PUBLISHED 10 December 2025
DOI 10.3389/fvets.2025.1732237

Check for updates

OPEN ACCESS

EDITED BY
Alberto Muñoz,
University of Murcia, Spain

REVIEWED BY
Nirajkumar Makadiya,
Santa Rita Animal Care Clinic, United States
Jéssica Voitena,
Universidade Federal do Paraná, Brazil

*CORRESPONDENCE
Joschka Spornberger
J.Spornberger@gmail.com

RECEIVED 25 October 2025
REVISED 22 November 2025
ACCEPTED 25 November 2025
PUBLISHED 10 December 2025

CITATION
Spornberger J, Soukup P, Meyer-Lindenberg A and Allgoewer I (2025) Tear film characteristics in French bulldogs vs. non-brachycephalic dogs.
Front. Vet. Sci. 12:1732237.
doi: 10.3389/fvets.2025.1732237

COPYRIGHT
© 2025 Spornberger, Soukup, Meyer-Lindenberg and Allgoewer. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

Tear film characteristics in French bulldogs vs. non-brachycephalic dogs

Joschka Spornberger[1]*, Petr Soukup[1], Andrea Meyer-Lindenberg[2] and Ingrid Allgoewer[1]

[1]Animal Eye Practice, Berlin, Germany, [2]Clinic for Small Animal Surgery and Reproduction, Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Munich, Germany

Purpose: To investigate the tear film characteristics of healthy French Bulldogs and compare them with healthy dogs of mesocephalic and dolichocephalic breeds.

Methods: French Bulldogs and non-brachycephalic dogs considered healthy underwent a complete ophthalmic examination. Tear osmolarity was tested with the ScoutPro® osmolarity system and a tear film analysis, including interferometry, non-invasive tear film break-up time (NIBUT), tear meniscus height measurement (TMH) and meibography using the I.C.P. OSA-Vet® was performed.

Results: French Bulldogs had a significantly higher Schirmer Tear Test I (19.05 ± 4.00 vs. 16.88 ± 3.54, $p = 0.017$), a higher TMH (0.64 ± 0.20 vs. 0.31 ± 0.22, $p = 9\times10^{-10}$), a lower interferometry grading and a reduced NIBUT (7.39 ± 3.32 vs. 14.74 ± 5.92, $p = 3.5\times10^{-9}$) compared to the control group. Differences in tear osmolarity were not statistically significant between the groups (296.6 ± 13.6 vs. 299.8 ± 16.1, $p = 0.40$).

Conclusion: The tear film in healthy French Bulldogs shows signs of a qualitative tear film deficiency/evaporative dry eye disease (EDED) compared to non-brachycephalic dogs. The influence of the altered tear film on diseases of the ocular surface in French Bulldogs needs to be further investigated.

KEYWORDS

brachycephalic dogs, evaporative dry eye disease, ocular surface health, tearfilm, tear film diagnostics

1 Introduction

Brachycephalic dogs are disproportionately affected by ocular surface diseases (1–5). D. G. O'Neill et al. showed that brachycephalic dogs have a 3.63 times higher risk of developing keratoconjunctivitis sicca (KCS) than mesocephalic breeds (4). This, along with their overrepresentation in veterinary ophthalmology (6), is due to anatomic and physiologic changes that are collectively referred to as brachycephalic ocular syndrome (BOS) (1, 3, 7). However, there is discrepancy regarding the most common ocular surface disease in the various brachycephalic breeds (5–13) (Table 1).

One of the brachycephalic breeds most commonly seen in specialist eye clinics is the French Bulldog. In 2024, 15.2% of all patients in a specialist eye clinic were French Bulldogs (14). Not only has their popularity increased in recent years, with registrations at the British Kennel Club rising by about 5.5 times between 2014 and 2021 (15), but they were the most popular dog breed in the United States in 2022 (16). In a retrospective study of 809 French

TABLE 1 Breed specific prevalence of ocular surface disease in brachycephalic dogs: summary of published studies.

Breed	Number of animals/eyes	Health status	Most prevalent ocular surface disease	Study
Shih Tzu	1,012 eyes	ophthalmic disorders	KCS (12.5%)	Palmer et al. (6)
			Ulcer (11.1%)	
			Corneal pigmentation (10.1%)	
Pug	558 eyes	ophthalmic disorders	Corneal pigmentation (22.9%)	
			KCS (9.1%)	
Boston Terrier	567 eyes	ophthalmic disorders	Ulcer (14.8%)	
English Bulldog	320 eyes	ophthalmic disorders	Ulcer (13.4%)	
Lhasa Apso	201 eyes	ophthalmic disorders	KCS (16.9%)	
			Ulcer (11.9%)	
			Corneal pigmentation (7.5%)	
Pekingese	131 eyes	ophthalmic disorders	Corneal Pigmentation (17.6%)	
			Ulcer (17.6%)	
			KCS (15.3%)	
French Bulldog	84 eyes	ophthalmic disorders	Ulcer (20.2%)	
			KCS (4.8%)	
Pug	17 animals	ophthalmic disorders	Corneal pigmentation (53%)	Costa et al. (7)
Shih Tzu	22 animals	ophthalmic disorders	Corneal pigmentation (36%)	
Shih Tzu	22 animals	ophthalmic disorders	Fibrosis (36%)	
French Bulldog	38 animals	ophthalmic disorders	Fibrosis (29%)	
Shih Tzu	1,000 eyes	ophthalmic disorders	reduced tear film breakup time (17.6%)	Rajaei et al. (8)
			KCS (7.8%)	
			Corneal Pigmentation (7.8%)	
Shih Tzu	50 animals	healthy	Corneal Pigmentation (27%)	Sebbag et al. (9)
			Fibrosis (20%)	
			reduced tear film breakup time	
Shih Tzu	11 animals	KCS	Ulcer (36%)	Sanchez RF. et al. (13)
			Fibrosis (72%)	
Cavalier King Charles Spaniel	40 animals	KCS	Ulcer (30%)	
			Fibrosis (52.5%)	
Pug	295	ophthalmic disorders	Corneal pigmentation (82.4%)	
Pug	1,015 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (5.42%)	O'Neill et al. (5)
Boxer	1,386 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (4.98%)	
Shih Tzu	2031 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (3.45%)	
Cavalier King Charles Spaniel	2,332 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (2.49%)	
Bulldog	787 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (2.41%)	
French Bulldog	642 animals	ophthalmic and general disorders	Ulcer (1.87%)	

Overview of studies on diseases of ocular surface diseases in brachycephalic dog breeds. For each breed, the number of animals or eyes examined, the general health status (e.g., presence of ocular diseases or healthy) and the most commonly reported ocular surface diseases are summarized. The data show breed-specific patterns in disease prevalence, particularly with regard to keratoconjunctivitis sicca (KCS), corneal ulcers, corneal pigmentation, and stromal fibrosis. The references refer to the original sources for each data set.

Bulldogs, 76.6% showed keratitis (spontaneous chronic corneal epithelial defects (SCEED), 31%; melting ulcers, 19%; stromal keratitis, 16.3%; pigmentary keratitis, 5.3%; granulomatous keratitis, 5.2%) and 45% showed tear film disorders (quantitative KCS, 16.2%; qualitative KCS, 28.8%), underscoring the severity and frequency of ocular surface disease in this breed (17). Quantitative changes (aqueous deficient dry eye, ADDE) and qualitative changes in the tear film (evaporative dry eye disease, EDED) directly contribute to the development of ocular surface diseases (1). We hypothesized that French Bulldogs suffer disproportionately from qualitative tear film disorders.

The main objective of this study was to collect normative data on the characteristics of the ocular surface of French Bulldogs in order to advance research in the field of breed differences. The focus was on the

examination of the tear film, which was evaluated using the I.C.P. OSA-Vet® and a series of additional tear film tests. These data were compared with those of non-brachycephalic breeds. Another objective was to investigate the usefulness of measuring osmolarity as an additional parameter for distinguishing between ADDE and EDED in veterinary medicine.

2 Materials and methods

The study population of this prospective study consisted of a group of healthy French Bulldogs and a control group of healthy non-brachycephalic breeds. French Bulldogs were included in the study if at least one eye was free of ocular disease and no topical eye medications had been administered within 5 days prior to the examination. The dogs were recruited either as inpatients with unilateral eye disease (with examination of the unaffected eye) or as clinically healthy pets from the same household. The control group consisted of mesocephalic and dolichocephalic dogs recruited from routine hereditary eye examinations, patients with unilateral eye disease, or healthy pets of the same household. In all cases, only eyes without clinical abnormalities and without recent topical treatment were included.

The owner's consent for the evaluation of the anonymized data of their dog(s) and the photos taken for research purposes and publication was obtained prior to the examination. All examinations were carried out in accordance with the GERVO Declaration on the Use of Animals in Eye and Vision Research and with the approval of the Berlin State Secretariat for Health and Social Affairs under the number StN 024/22.

All dogs underwent a complete ophthalmic examination, including menace response, dazzle reflex, pupillary light reflex, palpebral reflex, slit lamp biomicroscopy (Kowa SL-17; Kowa, Japan), rebound tonometry (TonoVet, iCare, Finland), indirect ophthalmoscopy (Video Omega 2C; HEINE Optotechnik GmbH & Co. KG, Germany), a complete tear film analysis with the I.C.P. OSA-Vet® (SBM Sistemi, Italy), and a series of diagnostic tests for tear film deficiency, including osmolarity measurement, punctate fluorescein staining, lissamine green staining, Schirmer tear test I and Schirmer tear test II (all strips Madhu Instruments Pvt., Ltd., India). In 36 French Bulldogs and all non-brachycephalic dogs, tear film osmolarity was measured using the ScoutPro® osmolarity system (Trukera Medical, Southlake, USA). The tear film analysis with the I.C.P. OSA-Vet® was conducted first, followed by a 10 min rest period before the remaining examination.

2.1 Examination procedure

All examinations were performed by the same examiner (JS) in the same room. At the start of each examination, room temperature and humidity were recorded.

2.1.1 Lipid layer thickness (LLT)/ interferometry (IF) grading

The interferometry measurement was performed using a short video clip of the eye surface after a blink, which was compared with the supplied video rating scale, taking into account the thickness of the lipid layer and thermodynamics (18). The rating scale comprised the following categories, as defined in I.C.P. OSA-Vet®: 0 = no lipid layer (lipid layer thickness < 15 nm), A = open meshwork (lipid layer thickness ≈ 15 nm), B = closed meshwork (lipid layer thickness ≈ 30 nm), C = wave pattern (lipid layer thickness ≈30–80 nm), D = amorphous pattern (lipid layer thickness ≈80 nm), E = color fringe (lipid layer thickness ≈80–120 nm) and F = abnormal color (lipid layer thickness ≈120–160 nm).

2.1.2 Tear meniscus height (TMH)

The TMH was measured using the I.C.P. OSA-Vet® based on a photo taken after blinking to rule out inaccuracies due to evaporation of the tear film or trichiasis. The upper and lower limits of the tear meniscus were then marked manually on the photo and the TMH was calculated using the software provided. TMH was measured once at the central tear meniscus of the lower eyelid.

2.1.3 Non-invasive breakup time (NIBUT)

The non-invasive tear film break-up time was measured using the I.C.P. OSA-Vet® based on projected Placido rings on the corneal surface. After manually blinking, the eye was kept open to record the video. The software measured the time until the rings deformed (18). In cases where automatic measurement was not possible (e.g., due to slight movements of the patient), the time was measured manually in the I.C.P. OSA-Vet® by marking the starting point after blinking and the end point when the first rings were deformed.

2.1.4 Non-contact infrared meibography

The loss of Meibomian glands was measured using the I.C.P. OSA-Vet® by manually everting the tarsal plates of the upper and lower eyelids. Several images were taken and the area of the Meibomian glands was either marked by the software with manual control or marked manually. The software calculated the percentage loss of Meibomian glands (MGL) in relation to the tarsal plate (18).

2.1.5 Osmolarity

The measurement was performed using the ScoutPro® osmolarity system on the tear meniscus of the lateral canthus in the lower eyelid area using disposable osmolarity test cards. The device collects 50 nanoliters of tear fluid and measures the osmolarity using a temperature-corrected impedance measurement (19). At the beginning of each day of testing, a quality control check was performed using the control card provided by the manufacturer.

2.1.6 Schirmer tear test I (STT-I)

The Schirmer tear test I (Tear Touch Blu®, Madhu Instruments Pvt. Ltd., India) was performed by placing the strip in the lower lateral fornix of the eye. After one minute, the result was measured in mm/min.

2.1.7 Schirmer tear test II (STT-II)

A drop of a topical anesthetic (proxymetacaine hydrochloride; Proparakain-POS 0.5%®, Ursapharm, Germany) was applied to the eye. After one minute, the excess liquid was carefully wiped off with a swab and the Schirmer tear test II was performed as described above for the Schirmer tear test I.

2.1.8 Punctate fluorescein staining (PFS)

Fluorescein staining was performed by instilling a drop of a topical anesthetic (proxymetacaine hydrochloride; Proparakain-POS 0.5%®,

Ursapharm, Germany) onto the eye via a fluorescein strip (Fluoro Touch®, Madhu Instruments Pvt., Ltd., India). The fluorescein was distributed by blinking several times manually. Excess fluorescein was washed out with sterile saline solution. The corneal surface was examined with a blue filter and 10x magnification using the Kowa SL 17 slit lamp. Classification was based on the evaluation system for surface area specified by Saito et al. (20) whereby grade 0 corresponds to no fluorescein uptake, grade 1 to uptake of less than 50% of the corneal surface, and grade 2 to uptake of more than 50% of the cornea.

2.1.9 Lissamine green staining (LGS)

A lissamine green strip (Green Touch®, Madhu Instruments Pvt., Ltd., India) was moistened with a drop of topical anesthetic and applied once to the dorsal conjunctiva of the eyeball. The dye was distributed by manual blinking. The temporal conjunctival surface was examined using 10x magnification with the Kowa SL-17. Staining was graded as 0 = absent and 1 = positive. The severity of LGS is associated with reduced STT-I values (21) and the diagnostic options for evaporative dry eye are unclear (22). Since we did not expect low STT-I values and hypothesized qualitative tear film diosorders in the French Bulldog breed, no further differentiation was made.

2.2 Statistical analysis

The statistical analysis of the data was performed by Novustat GmbH (Wollerau, Switzerland). When both eyes of a dog were examined, the results were averaged (23). Bilateral differences were negligible and would not have been obscured by averaging. QQ plots indicate that the assumption of normally distributed data was not met. Therefore, the Wilcoxon test was used and $p < 0.05$ was considered statistically significant. Due to the presence of ties, the implementation of Hothorn et al. was used. In the case of ties, average ranks were calculated (24). Besides the uneven sample size, the loss of statistical power due to the unbalanced design is negligible (25). Since IF Grade and PFS are measured on an ordinal scale, Spearman's rank correlation coefficient was used. The strength of the correlation was assessed using the following scheme: very weak (0–0.19), weak (0.2–0.39), moderate (0.40–0.59), strong (0.6–0.79), very strong (0.8–1.0) (26).

3 Results

3.1 Animals

Fifty client-owned French bulldogs (90 eyes) with an average age of 4.96 (0.5–12 years) and thirty client-owned non-brachycephalic breeds (58 eyes) were included in this study. Among the non-brachycephalic breeds were mixed breeds (n = 7), Shetland Sheepdog (n = 5), Golden Retriever (n = 4), Greyhound (n = 3), English Cocker Spaniel (n = 2), Polish Lowland Sheepdog (n = 2), Siberian Husky (n = 1), Saluki (n = 1), Greater Swiss Mountain Dog (n = 1), Whippet (n = 1), Flat-Coated Retriever (n = 1), Rough Collie (n = 1), Terrier (n = 1) and Australian Cattle Dog (n = 1). The average age of the non-brachycephalic dogs was 4.88 years (0.6–10 years). The French Bulldogs consisted of 17 females, 10 spayed females, 19 males, and 4 neutered males. The control group consisted of 13 females, 6 spayed females, 6 males, and 5 neutered males.

3.2 Ophthalmic examination

Based on the results of the ophthalmological examination, eight eyes (SCCED n = 2; ulceration n = 3, eyelid margin mass n = 1, dermoid n = 1, keratoconjunctivitis sicca n = 1) from the French Bulldog group and two eyes (reactive conjunctivitis n = 1, eyelid margin mass n = 1) from the control group were excluded from the study. Two French Bulldogs were presented after a previous unilateral enucleation.

3.3 Age

Age showed a weak negative correlation with STT-I ($r = -0.32$; $p = 0.026$) and osmolarity ($r = -0.38$; $p = 0.021$).

3.4 STT-I and STT-II

The STT-I values were 19.05 ± 4.00 mm/min in French Bulldogs and 16.88 ± 3.54 mm/min in the control group. French Bulldogs had a significantly higher STT-I value ($p = 0.01$) than non-brachycephalic breeds. The STT-II values were 10.16 ± 2.86 mm/min in French Bulldogs and 11.28 ± 2.60 mm/min in the control group (Figure 1). The difference was not significant ($p = 0.06$). STT-I showed a weak negative correlation ($r = -0.24$) with PFS.

3.5 Lipid layer thickness (LLT)/ interferometry (IF) grading

No dog from either group achieved an IF score of F. French Bulldogs showed a significantly lower ($p = 9^{*}10^{-8}$) IF score than non-brachycephalic dogs. A comparison between the left and right eyes of both groups is shown in Figure 2. The IF grade showed a moderate positive correlation (r = 0.49) with NIBUT and a moderate negative correlation with the MGL of the upper eyelid (r = −0.42) and the lower eyelid (r = −0.46) (Figure 3).

3.6 Tear meniscus height (TMH)

The TMH values were 0.64 ± 0.20 mm in French Bulldogs and 0.31 ± 0.22 mm in the control group. French Bulldogs had a significantly ($p = 9^{*}10^{-10}$) higher TMH value than the control group (Figures 1, 3).

3.7 Non-invasive breakup time (NIBUT)

The mean NIBUT values were 7.39 ± 3.32 s in French Bulldogs and 14.74 ± 5.92 s in the non-brachycephalic group. French Bulldogs had a significantly ($p = 3.5 \times 10^{-9}$) lower NIBUT than the non-brachycephalic group. NIBUT showed a strong negative

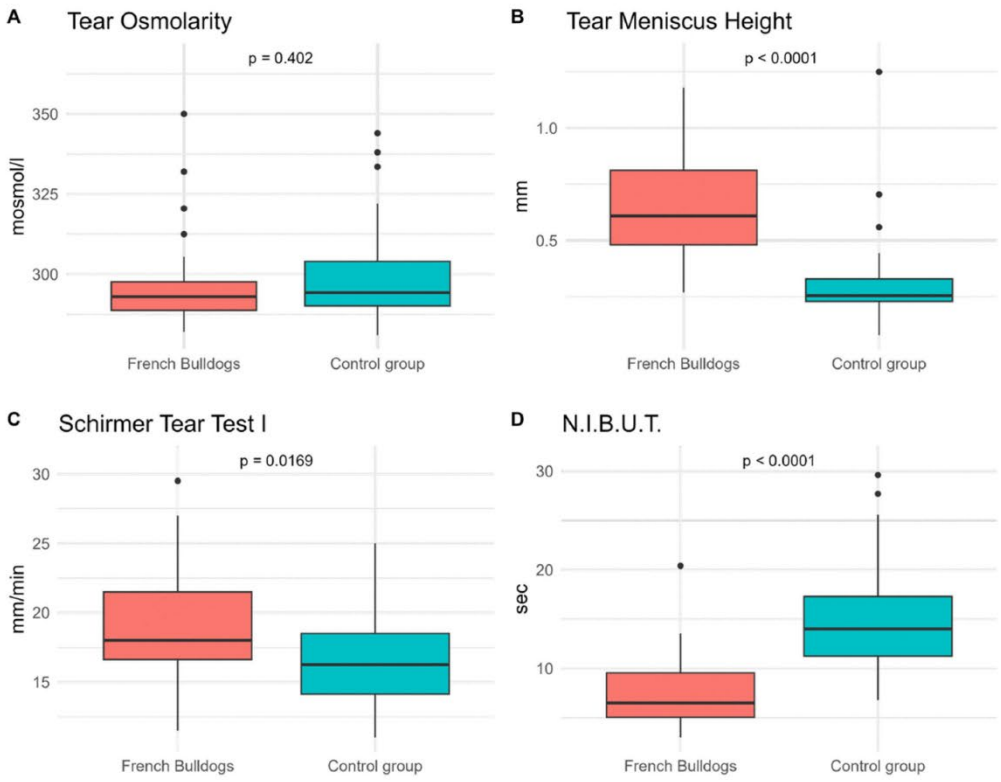


FIGURE 1
Box plots illustrating the distribution of tear film parameters in French Bulldogs (FB) and non-brachycephalic control dogs. The variables shown include: **(A)** tear osmolarity (mOsm/L); **(B)** tear meniscus height (mm); **(C)** Schirmer tear test I (mm/min); **(D)** non-invasive tear film breakup time (NIBUT; sec.). Each box represents the interquartile range between the 25th and 75th percentiles, with the horizontal line within the box indicating the median. The whiskers extend to the most extreme data points within 1.5 times the IQR, and individual points represent outliers outside this range.

correlation with the MGL ($r = -0.65$) (Figure 1). In some French Bulldogs, mucous secretions or reduced patient compliance interfered with automatic NIBUT measurement, requiring manual assessment.

3.8 Non-contact infrared meibography

The Meibomian gland loss was measured for the upper eyelids. The mean MGL was 25.32 ± 19.11% in French Bulldogs and 14.57 ± 9.32% in the control group, showing a significant ($p = 0.027$) difference between the two groups. Minor difficulties were encountered with meibography. The presence of conjunctival pigmentation in some French Bulldogs (Figure 4) led to partial coverage of the Meibomian glands, which impaired image sharpness and subsequent analysis.

3.9 Osmolarity

The osmolarity was 296.6 ± 13.6 mOsm/L in the French Bulldogs and 299.8 ± 16.1 mOsm/L in the control group. The difference was not significant ($p = 0.4$) (Figure 1).

3.10 Punctate fluorescein staining (PFS)

The PFS showed no significant ($p = 0.1$) differences between the French Bulldogs and the control group (Figure 2). A weak negative correlation ($r = -0.38$; $p = 0.0075$) was found between the PFS and the IF score.

3.11 Lissamine green staining (LGS)

No LGS uptake was detected in the French bulldog group or in the control group.

A tabular overview of the most important parameters is provided in Table 2.

3.12 Room temperature and humidity

Room temperature for the French Bulldogs was 22.09 ± 1.93 °C and 21.54 ± 1.03 for the control group. There was no statistical difference between the two groups ($p = 0.42$). Humidity was

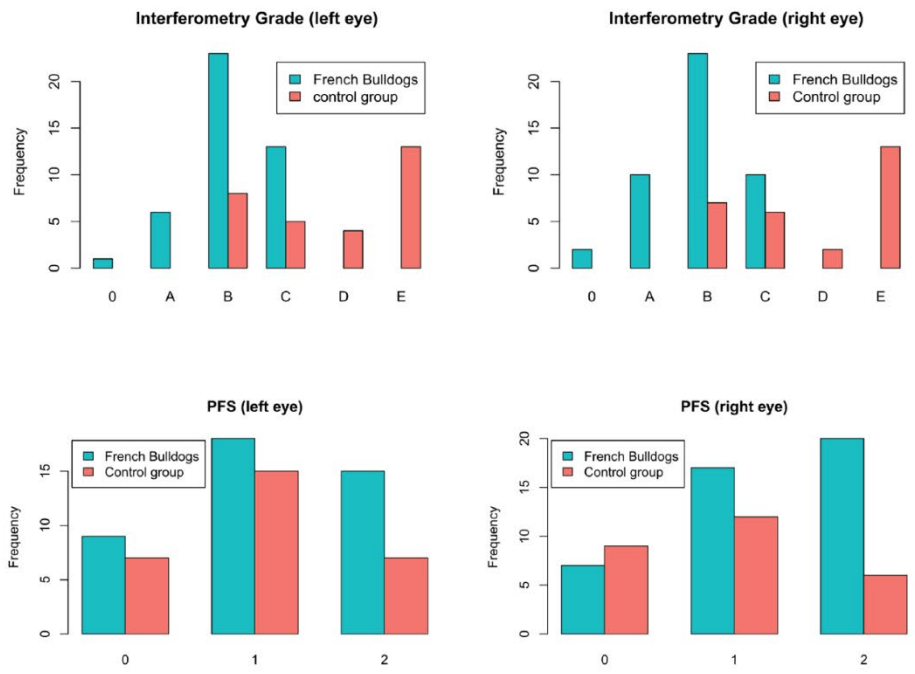


FIGURE 2
Distribution of interferometry grades (top row) and punctate fluorescein staining (PFS; bottom row) in the right and left eyes of French Bulldogs and non-brachycephalic control dogs. The interferometry grades represent lipid layer patterns from 0 (absent) to E (color fringe), based on OSA-Vet® classification; grade F (abnormal color pattern) is not displayed as it was not observed in any animal. PFS values are categorized as 0 (no staining), 1 (<50% of the corneal surface), and 2 (>50% of the corneal surface affected). Each parameter is reported separately for the left and right eye to account for possible unilateral deviations.

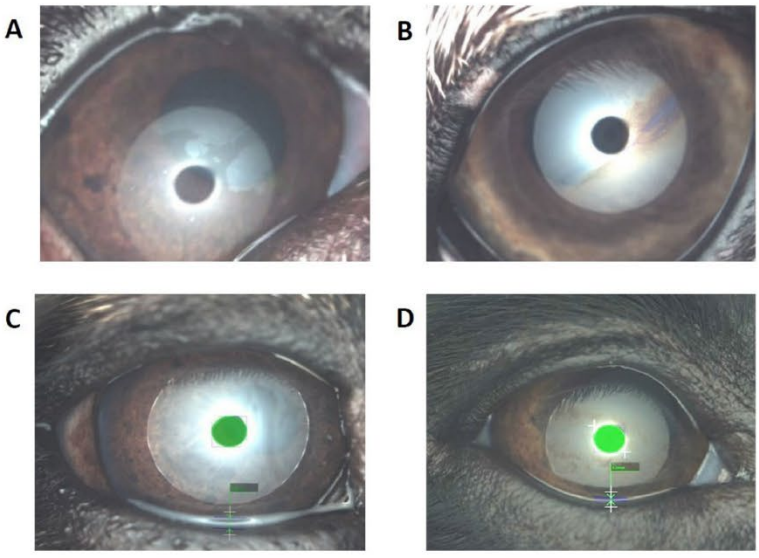


FIGURE 3
Representative I.C.P. OSA-Vet® images. **(A,B)** Interferometry of the precorneal tear film; **(C,D)** tear meniscus height (TMH) at the inferior central meniscus. **A** French Bulldog, 8 years old, open meshwork lipid-layer pattern (grade A). **B** Saluki, 7 years old, color fringe pattern (grade E). **C** French Bulldog, 9 years old, TMH 0.85 mm. **D** Greater Swiss Mountain Dog, 8 years old, TMH 0.26 mm.

45.44 ± 8.79% for the French Bulldogs and 52.66 ± 5.56 for the control group. The difference was statistically significant with $p = 0.0002$. Room temperature and humidity showed a moderate positive correlation with NIBUT ($r = 0.45$; $p = 0.001$ and $r = 0.54$; $p = 0.0001$).

4 Discussion

To our knowledge, this is the first study to perform a comprehensive tear film analysis exclusively in French Bulldogs. While previous studies have examined certain brachycephalic breeds such as the Shih Tzu (8, 9) in great detail, the French Bulldog, despite being one of the most popular breeds in many countries (15, 16), has not been the subject of systematic tear film investigation to date. A number of studies (2, 4, 6, 7, 27) have included individual French Bulldogs in larger, heterogeneous cohorts. However, these data do not allow conclusions to be drawn about specific breeds. In contrast, the present study provides the first targeted insight into the tear film characteristics of this breed and highlights the clinical relevance of qualitative tear film abnormalities in otherwise ophthalmologically healthy dogs.



FIGURE 4
Infrared meibography images taken during examination with the I.C.P. OSA-Vet®. Top: Complete view of the Meibomian glands in the upper eyelid. Bottom: Partial obstruction of gland visualization due to pigmentation of the conjunctiva, as is often seen in French Bulldogs.

In this study, French Bulldogs showed a significantly higher STT-I value ($p = 0.01$) compared to non-brachycephalic breeds. The average STT-I values were 19.05 ± 4.00 mm/min in French Bulldogs and 16.88 ± 3.54 mm/min in the control group. This result contrasts with previous studies, which found STT-I values to be approximately 14% lower in brachycephalic dogs without clinical eye disease compared to non-brachycephalic dogs (1, 28). This discrepancy in these studies was primarily attributed to reduced corneal sensitivity and its negative effect on the afferent part of the tear reflex in brachycephalic breeds (1, 28). However, the results of this study suggest that this trend is not transferable to French Bulldogs. The increased STT-I in this breed is more likely related to increased reflex tear flow than to increased basal tear production. This assumption is supported by simultaneous evidence of a shortened NIBUT, reduced interferometry values, and a significantly increased TMH, all of which indicate EDED (1). It has been demonstrated that the process of increased tear evaporation leads to local dehydration of the cornea, activating both nociceptors and cold thermoreceptors in the cornea. This in turn stimulates the tear reflex (29, 30). The STT-I values observed in this study in French Bulldogs were similar to those reported by Li et al. for brachycephalic dogs (19.05 ± 4.00 mm/min vs. 18.2 ± 3.9 mm/min) (27), but lower than previously described for Shih Tzus (22.0 ± 5.5 mm/min) (9) and other brachycephalic dogs (20.1 ± 3.4 mm/min) (28). In contrast, STT-I values in the non-brachycephalic group showed a high correlation with data from the dolichocephalic subgroup (16.88 ± 3.54 mm/min vs. 16.8 ± 3.4 mm/min) from Li et al. (27).

A significant increase in TMH was observed in French Bulldogs compared to the control group (0.64 ± 0.20 mm vs. 0.31 ± 0.22 mm, $p = 9 \times 10^{-10}$), resulting in more than a twofold increase in TMH compared to control values. These results confirm the report by Li et al. on higher TMH in brachycephalic breeds (27). An increase in TMH could be a result of an impairment in the tear drainage system (31). However, although the tear drainage system of brachycephalic dogs is anatomically different, they consistently have an additional drainage into the oral cavity (32), thus supporting a normal tear drainage. The suggested normal range for TMH, measured with the I.C.P. OSA-Vet® in healthy dogs with normal STT-I, normal eyelid shape, and normal tear drainage system, is 0.53 ± 0.11 mm (18). This value is higher than the data reported by Li et al. of 0.27 ± 0.12 mm for mesocephalic breeds and 0.26 ± 0.09 mm for dolichocephalic breeds (27), 0.41 ± 0.21 mm by Kim et al. for Beagles, 0.32 ± 0.14 mm (33) and

TABLE 2 Tear film parameters: French Bulldogs vs Controls.

Variable	French Bulldogs ($n = 50$)	Control group ($n = 30$)	p-Value between the groups
STT-I (mm/min)	19.05 ± 4.00	16.88 ± 3.54	0.01
STT-II (mm/min)	10.16 ± 2.86	11.28 ± 2.60	0.06
TMH (mm)	0.64 ± 0.20	0.31 ± 0.22	9×10^{-10}
NIBUT (sec)	7.39 ± 3.32	14.74 ± 5.92	3.5×10^{-9}
Osmolarity (mOsm/L)	296.6 ± 13.6*	299.8 ± 16.1	0.4
MGL upper eyelid (%)	25.32 ± 19.11	14.56 ± 9.32	0.027

Comparison of tear film parameters between French Bulldogs ($n = 50$) and non-brachycephalic control dogs ($n = 30$). Values are given as mean ± standard deviation. Statistically significant differences between groups were determined using the Wilcoxon test. *$n = 36$. STT-I, Schirmer tear test I; STT-II, Schirmer tear test II; TMH, tear meniscus height; NIBUT, non-invasive tear film breakup time; MGL, meibomian gland loss.

0.36 ± 0.18 mm by Sonego et al. in their groups of non-brachycephalic breeds (34), the median values measured by Yoon et al. using optical coherence tomography of the anterior segment of the eye (0.32 mm and <0.32 mm) (35) and 0.31 ± 0.22 mm in this study. A study by Silva et al. found a TMH of 0.59 ± 0.29 mm in the right eye and 0.88 ± 0.27 mm in the left eye of healthy Shih Tzus (36). In a study on qualitative and quantitative tear tests in various brachycephalic breeds, Voitena et al. reported a TMH of 0.51 ± 0.17 (37). Zwiauer-Wolfbeisser et al. reported a TMH of 0.5 ± 0.2 mm, with the study population consisting of 58.3% brachycephalic breeds treated for distichiasis, making the population incomparable to the other studies (38). Peruccio et al. did not disclose the number of dogs and breeds examined (18). The available data on TMH shows that TMH is increased in brachycephalic breeds compared to non-brachycephalic breeds (27, 33–38). Our results suggest that the significant increase in TMH observed in French Bulldogs, combined with the significant decrease in NIBUT and lower interferometry values, provides convincing evidence of underlying EDED in this breed. A substantial variation in reported TMH is observed among studies involving a brachycephalic cohort. This variations includes lower (27, 37) and higher (36) values compared to the values reported in our study. This heterogeneity is likely attributable to variations in cohort composition. These findings underscore the importance of establishing breed-specific reference values for tear film diagnostics, particularly in brachycephalic dogs. The NIBUT was significantly lower in French Bulldogs than in the control group (7.39 ± 3.32 s. vs. 14.74 ± 5.92 s., $p = 3.5^{*}10^{-9}$). This result is consistent with other studies comparing brachycephalic breeds with non-brachycephalic breeds (27, 39). The shorter NIBUT could contribute to the higher STT-I, as reported by Faghihi et al. (39). The value for the control group was at the lower end of the reported normal range for tear film breakup time (TBUT) in healthy dogs (19.7 ± 5 to 21.53 ± 7.42 s.) (40). It was lower than the NIBUT in healthy beagles (33). Li et al. (27) and Voitena et al. (37) reported lower than previously described NIBUT values as well. Li et al. discussed that their lower NIBUT values may be due to environmental influences that contribute to a shorter break-up time, especially in the summer months (27). As reported in the results section, relative humidity was higher in the control group, whereas room temperature did not differ between groups. Because higher humidity reduces evaporative loss (41), this would be expected to prolong NIBUT in the control group and thereby exaggerate the observed between group difference. Although temperature can influence the tear film, temperature-related bias is unlikely in in this study due to comparable temperatures. Since all ambient values were within the typical indoor range (42), the influence is likely to be minor and probably not responsible for the general pattern of significantly shorter NIBUT in French Bulldogs. Nevertheless, residual bias cannot be completely ruled out.

The IF grade was significantly lower in French Bulldogs ($p = 9^{*}10^{-8}$) than in the control group, with the majority of French Bulldogs achieving an IF grade of B and the control group achieving a grade of E. The IF grade allows a direct estimation of the lipid layer thickness. The lipid layer is the outermost layer of the tear film, which prevents evaporation of the aqueous phase and stabilizes the tear film (43). It is produced by the Meibomian glands (43). Increased loss of the Meibomian glands or Meibomian gland dysfunction (MGD) leads to a reduction in the lipid layer (22) and thus to a low IF grade. This explains the correlation between a higher MGL and a lower NIBUT. A possible change in the composition of meibum due to MGD may also increase evaporative stress and provoke reflex tearing, which contributes to the higher STT-I and TMH, respectively (44). Another factor that must be taken into account is allergies, which are common in brachycephalic breeds (45). Studies in human medicine have shown that seasonal allergies alter the morphology of the Meibomian glands, promoting a change in lipid secretion and instability of the tear film (46, 47). In accordance with the previously mentioned findings, preliminary data reported by Marques et al. (ESVO 2025) revealed that atopic dogs suffering from allergic conjunctivitis exhibited lower IF grades in comparison with healthy controls. This observation supports to the hypothesis that ocular allergies are related to impairment of the lipid layer.

We have documented a higher MGL value in French Bulldogs, which could partly explain the lower IF grade. However, some patients had both a low IF grade and a low MGL percentage. Consequently, the MGL percentage is not the only factor influencing the IF grade. MGD is a multifactorial disease in which not only the end stage of glandular loss must be considered, but also qualitative and quantitative changes in the secreted lipid content. This may be due to hyposecretory, obstructive, or hypersecretory mechanisms (48, 49). As Ofri et al. have shown, there are differences in the amount of meibum secreted in different dog breeds (50). This also explains the prevalence of low IF grades in French Bulldogs. Another possible cause is incomplete closure of the eyelids during blinking, and the lower blink rate often observed in brachycephalic breeds (22). The reduced nerve fiber density of the cornea in brachycephalic dogs (51) is thought to be the cause of the reduced blink rate in these breeds (1). This leads to meibum not being distributed evenly across the cornea, which promotes destabilization of the tear film. Possible MGD in the French Bulldogs requires further investigation.

There are conflicting statements in the human literature as to whether only the upper eyelid (52), the lower eyelid (53), or both eyelids (54, 55) need to be measured for the correct diagnosis of Meibomian gland disease. Also, in the veterinary literature there is no consensus on which eyelid should be examined using meibography. Kim et al. performed meibography on both eyelids of Beagles and found it difficult to adequately expose the Meibomian gland area of the lower eyelid (33). Kitamura et al. did not examine the lower eyelid because this was found to be uncomfortable for their cohort of Shih Tzus (56). Li et al. examined the lower eyelids only because the patients showed discomfort during the examination of the upper eyelid (27). In our study, we selected the upper eyelid for meibography during the ophthalmological examination, as most dogs were more comfortable with it.

In this study, tear osmolarity was measured using the ScoutPro®. Veterinary clinical validation data for this device are limited (57). The osmolarity values of both groups were lower than previously reported normal values of TearLab® and I-PEN® Vet (58) and the ScoutPro® (57). Although reduced NIBUT and LLT values are typically associated with increased evaporation and

increased osmolarity (29), the lower osmolarity of the French Bulldogs is presumably a consequence of the significantly increased STT-I and TMH values. This interpretation is supported by García-Resúa et al., who demonstrated a negative correlation between TMH and osmolarity (59). Given the lower osmolarity values in the control group, it can be concluded that a tear reflex triggered by handling can be ruled out, as no significant difference was found between the osmolarity of basal tears and reflex tears (60).

The clinical interpretability of osmolarity values remains unclear due to a lack of more published data for the ScoutPro® in dogs. After considering the above factors, it was determined that osmolarity within our specific cohort did not exhibit sensitivity to evaporation-related instability. Our observation shows that there was no difference in osmolarity between French Bulldogs and the control group. Consequently, osmolarity is considered an inadequate single marker for qualitative tear film deficiency in dogs. Further validation of the device and standardization of protocols are deemed necessary.

There were no differences between French Bulldogs and the control group regarding PFS and lissamine green staining. This is to be expected as STT-I was not decreased in animals included in this study. High PFS scores correlate with a lower STT-I (20). The weak negative correlation between PFS and IF grade aligns with the general findings, as PFS is regarded as a parameter for ocular health (22). Smith et al. reported higher lissamine green staining scores in dogs with lower STT-I values and shorter TBUT (21).

When interpreting the results, the limitations of the study must be taken into account. The assessment of the Meibomian glands was limited to non-contact infrared meibography. Image quality was partially limited by anatomical conditions or pigmentation. Although allergies are an important factor in MGD in humans, allergy testing was not performed in French Bulldogs, as this was beyond the scope of this study. All examinations and image analyses were performed by a single examiner without formal assessments of intra- or interobserver variability, which may limit reproducibility and introduce potential observer bias.

5 Conclusion

This study provides strong evidence that all clinically normal French Bulldogs in this cohort showed consistent indicators of EDED. Despite the absence of obvious clinical symptoms, the dogs showed a combination of shortened NIBUT, reduced LLT, increased TMH, and increased STT-I - characteristic features of a qualitative tear film disease. These findings suggest that EDED is not an isolated occurrence but rather a widespread condition within this breed. It is essential that routine ophthalmic examinations of French Bulldogs consider this underlying pathology.

Data availability statement

The original contributions presented in the study are included in the article/supplementary material, further inquiries can be directed to the corresponding author.

Ethics statement

The animal studies were approved by Berlin State Secretariat for Health and Social Affairs. The studies were conducted in accordance with the local legislation and institutional requirements. Written informed consent was obtained from the owners for the participation of their animals in this study.

Author contributions

JS: Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft. PS: Formal analysis, Visualization, Writing – review & editing. AM-L: Methodology, Supervision, Writing – review & editing. IA: Conceptualization, Formal analysis, Funding acquisition, Resources, Supervision, Writing – review & editing, Methodology.

Funding

The author(s) declare that financial support was received for the research and/or publication of this article. The study was funded by the DOK Dortmunder Kreis, Germany.

Acknowledgments

We would like to express our gratitude to the DOK for their support in conducting this study.

Conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Generative AI statement

The authors declare that no Gen AI was used in the creation of this manuscript.

Any alternative text (alt text) provided alongside figures in this article has been generated by Frontiers with the support of artificial intelligence and reasonable efforts have been made to ensure accuracy, including review by the authors wherever possible. If you identify any issues, please contact us.

Publisher's note

All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

References

1. Sebbag, L, and Sanchez, RF. The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: the brachycephalic ocular syndrome. *Vet Ophthalmol.* (2023) 26:31–46. doi: 10.1111/vop.13054

2. Iwashita, H, Wakaiki, S, Kazama, Y, and Saito, A. Breed prevalence of canine ulcerative keratitis according to depth of corneal involvement. *Vet Ophthalmol.* (2020) 23:849–55. doi: 10.1111/vop.12808

3. Packer, RMA, Hendricks, A, and Burn, CC. Impact of facial conformation on canine health: corneal ulceration. *PLoS One.* (2015) 10:e0123827. doi: 10.1371/journal.pone.0123827

4. O'Neill, DG, Brodbelt, DC, Keddy, A, Church, DB, and Sanchez, RF. Keratoconjunctivitis sicca in dogs under primary veterinary care in the UK: an epidemiological study. *J Small Anim Pract.* (2021) 62:636–45. doi: 10.1111/jsap.13382

5. O'Neill, DG, Lee, MM, Brodbelt, DC, Church, DB, and Sanchez, RF. Corneal ulcerative disease in dogs under primary veterinary care in England: epidemiology and clinical management. *Canine Genet Epidemiol.* (2017) 4:5. doi: 10.1186/s40575-017-0045-5

6. Palmer, SV, Espinheira Gomes, F, and McArt, JAA. Ophthalmic disorders in a referral population of seven breeds of brachycephalic dogs: 970 cases (2008–2017). *J Am Vet Med Assoc.* (2021) 259:1318–24. doi: 10.2460/javma.20.07.0388

7. Costa, J, Steinmetz, A, and Delgado, E. Clinical signs of brachycephalic ocular syndrome in 93 dogs. *Ir Vet J.* (2021) 74:3. doi: 10.1186/s13620-021-00183-5

8. Rajaei, SM, Faghihi, H, and Zahirinia, F. The Shih Tzu eye: ophthalmic findings of 1000 eyes. *Vet Ophthalmol.* (2024) 27:447–51. doi: 10.1111/vop.13182

9. Sebbag, L, Silva, A, Santos, APB, Raposo, ACS, and Oria, AP. An eye on the Shih Tzu dog: ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Vet Ophthalmol.* (2023) 26:59–71. doi: 10.1111/vop.13022

10. Carrington, SD, Bedford, PG, Guillon, JP, and Woodward, EG. Biomicroscopy of the tear film: the tear film of the pekingese dog. *Vet Rec.* (1989) 124:323–8. doi: 10.1136/vr.124.13.323

11. Krecny, M, Witter, K, Tichy, A, and Nell, B. Tear film examinations and eyelid histology of pugs. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere.* (2018) 46:380–5. doi: 10.1055/s-0038-1677390

12. Kim, J-Y, Kim, K-h, Williams, DL, Lee, W-c, and Jeong, S-w. Epidemiological and clinical features of canine ophthalmic diseases in Seoul from 2009 to 2013. *J Vet Clin.* (2015) 32:235–8. doi: 10.17555/jvc.2015.06.32.3.235

13. Sanchez, RF, Innocent, G, Mould, J, and Billson, FM. Canine keratoconjunctivitis sicca: disease trends in a review of 229 cases. *J Small Anim Pract.* (2007) 48:211–7. doi: 10.1111/j.1748-5827.2006.00185.x

14. Allgoewer, I, Soukup, P, Dietrich, U, Erhard, M, Finneisen, M, Lettmann, S, et al. Annual scientific meeting of the european college of veterinary ophthalmologists, Amsterdam, The Netherlands, May 30 - June 2, 2024. *Vet Ophthalmol.* (2024) 22:E1–E27. doi: 10.1111/vop.13253

15. Club UK. (2024) Breed registration statistics 2024. Available onlin at: https://www.thekennelclub.org.uk/media/tm3bsfgn/10-yearly-breeds-stats-utility.pdf [Accessed September 6, 2024].

16. Club AK. (2024) Most popular dog breeds 2024 Available onlin at: https://www.akc.org/expert-advice/news/most-popular-dog-breeds-2024/ [Accessed June 19, 2024].

17. Allgoewer, I. Abstracts: annual scientific meeting of the european college of veterinary ophthalmologists, Antwerp, Belgium May 23–26. *Vet Ophthalmol.* (2019) 22:E1–E27. doi: 10.1111/vop.12702

18. Peruccio, C, Caruso, K, and Reynolds, B Clinical atlas: Ocular surface analyser, veterinary setting, for the diagnosis of dry eye with OSA-vet Torino SBM Sistemi 2021 7–11

19. Trukera Medical. ScoutPro Osmolarity system - user manual. Trukera Medical (2022).

20. Saito, A, Iwashita, H, Kitamura, Y, Miwa, Y, and Arita, R. Punctate fluorescein staining scores in dogs with or without aqueous tear deficiency. *Vet Ophthalmol.* (2021) 24:28–36. doi: 10.1111/vop.12829

21. Smith, SM, Holt, E, and Aguirre, GD. Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of tear film deficiency in dogs. *Vet Ophthalmol.* (2020) 23:624–31. doi: 10.1111/vop.12762

22. Hisey, EA, Galor, A, and Leonard, BC. A comparative review of evaporative dry eye disease and meibomian gland dysfunction in dogs and humans. *Vet Ophthalmol.* (2023) 26:16–30. doi: 10.1111/vop.13066

23. Glynn, RJ, and Rosner, B. Accounting for the correlation between fellow eyes in regression analysis. *Arch Ophthalmol.* (1992) 110:381–7. doi: 10.1001/archopht.1992.01080150079033

24. Hothorn, T, Hornik, K, Van de Wiel, M, and Zeileis, A. A lego system for conditional inference. *Am Stat.* (2006) 60:257–63. doi: 10.1198/000313006X118430

25. Bürkner, PC, Doebler, P, and Holling, H. Optimal design of the Wilcoxon-Mann-Whitney-test. *Biom J.* (2017) 59:25–40. doi: 10.1002/bimj.201600022

26. Swinscow, TDV, and Campbell, MJ. Statistics at square one. London: BMJ Books (2002).

27. Li, Y-H, Martins, B, and Lin, C-T. Investigation of ocular surface parameters in dogs with different cephalic conformations using veterinary ocular surface analyzer (OSA-VET). *Vet Ophthalmol.* (2024) 28:605–18. doi: 10.1111/vop.13256

28. Bolzanni, H, Oriá, AP, Raposo, ACS, and Sebbag, L. Aqueous tear assessment in dogs: impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. *Vet Ophthalmol.* (2020) 23:534–43. doi: 10.1111/vop.12751

29. Bron, AJ, de Paiva, CS, Chauhan, SK, Bonini, S, Gabison, EE, Jain, S, et al. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf.* (2017) 15:438–510. doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.011

30. Belmonte, C, Nichols, JJ, Cox, SM, Brock, JA, Begley, CG, Bereiter, DA, et al. TFOS DEWS II pain and sensation report. *Ocul Surf.* (2017) 15:404–37. doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.002

31. Burkat, CN, and Lucarelli, MJ. Tear meniscus level as an indicator of nasolacrimal obstruction. *Ophthalmology.* (2005) 112:344–8. doi: 10.1016/j.ophtha.2004.07.030

32. Sahr, S, Dietrich, A, and Oechtering, G. Evaluating malformations of the lacrimal drainage system in brachycephalic dog breeds: a comparative computed tomography analysis. *PLoS One.* (2021) 16:e0257020. doi: 10.1371/journal.pone.0257020

33. Kim, Y, Kang, S, Kim, S, Shim, J, Go, S, and Seo, K. Reference values for selected dry eye tests in normal beagle dogs: a pilot study. *J Vet Sci.* (2022) 23:e10. doi: 10.4142/jvs.21169

34. Sonego, DA, Ribeiro, AP, Dower, NMB, Rodrigues, BE, França Lemes, SA, Oliveira Souza, A, et al. Effects of topical ketorolac tromethamine on tear parameters, meibography, goblet cell density, and conjunctival oxidative stress in healthy dogs. *Vet Ophthalmol.* (2024) 27:214–27. doi: 10.1111/vop.13177

35. Yoon, HJ, Park, S, and Kim, JY. Tear clearance rate in dogs: measurement using anterior segment optical coherence tomography. *Vet Med Sci.* (2024) 10:e1334. doi: 10.1002/vms3.1334

36. Silva, PHS, Cruz, LKS, Ferreira, BM, Falcão, MSA, Barreto-Vianna, ARC, and Lima, EMM. Evaluating the aqueous portion of tears in shih tzu dogs: comparing Schirmer tear test 1 with tear meniscus height. *Arq Bras Med Vet Zootec.* (2024) 76:76. doi: 10.1590/1678-4162-12965

37. Voitena, JN, Brito, FLC, Marinho, TOC, Montiani-Ferreira, F, Cremonini, DN, Chiurciu, JLV, et al. Application of OSA-VET® and qualiquantitative tear tests in brachycephalic dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. *Vet Res Commun.* (2024) 49:40. doi: 10.1007/s11259-024-10610-x

38. Zwiauer-Wolfbeisser, V, Tichy, A, and Nell, B. Evaluation of ocular surface parameters before and after cryo- and laser therapy for distichiasis in dogs: a pilot study. *Vet Ophthalmol.* (2025) 28:630–9. doi: 10.1111/vop.13275

39. Faghihi, H, and Rajaei, SM. Tear film breakup time and Schirmer tear test in normal dogs: effects of age, sex, reproductive status, skull type, and nasolacrimal duct patency. *Vet Ophthalmol.* (2023) 26:72–80. doi: 10.1111/vop.13021

40. Gelatt, KN, Ben-Shlomo, G, Gilger, BC, Hendrix, DV, Kern, TJ, and Plummer, CE. Veterinary ophthalmology. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons (2021).

41. Abusharha, AA, and Pearce, EI. The effect of low humidity on the human tear film. *Cornea.* (2013) 32:429–34. doi: 10.1097/ICO.0b013e31826671ab

42. Yoon, A, Liu, CC, Carter, RT, and Lewin, AC. Environmental relative humidity affects Schirmer tear test results in normal dogs. *Vet Ophthalmol.* (2020) 23:923–6. doi: 10.1111/vop.12797

43. Willcox, MDP, Argüeso, P, Georgiev, GA, Holopainen, JM, Laurie, GW, Millar, TJ, et al. TFOS DEWS II tear film report. *Ocul Surf.* (2017) 15:366–403. doi: 10.1016/j.jtos.2017.03.006

44. Jeong, D, Kang, S, Shim, J, Lee, E, Jeong, Y, and Seo, K. Evaluation of ocular surface parameters in dogs with and without meibomian gland dysfunction. *Vet Rec.* (2022) 191:e1682. doi: 10.1002/vetr.1682

45. Hobi, S, Barrs, VR, and Bęczkowski, PM. Dermatological problems of brachycephalic dogs. *Animals.* (2023) 13:16. doi: 10.3390/ani13122016

46. Wei, J, Xiao, K, Cai, Q, Lin, S, Lin, X, Wang, Y, et al. Meibomian gland alterations in allergic conjunctivitis: insights from a novel quantitative analysis algorithm. *Front Cell Dev Biol.* (2025) 12:12. doi: 10.3389/fcell.2024.1518154

47. Liu, L, Yang, J, Ji, W, and Wang, C. Assessment of Meibomian gland (MD) impairment among seasonal allergic conjunctivitis (SAC) patients. *Med Sci Monit.* (2022) 28:e935359. doi: 10.12659/MSM.935359

48. Wolffsohn, JS, Arita, R, Chalmers, R, Djalilian, A, Dogru, M, Dumbleton, K, et al. TFOS DEWS II diagnostic methodology report. *Ocul Surf.* (2017) 15:539–74. doi: 10.1016/j.jtos.2017.05.001

49. Viñas, M, Maggio, F, D'Anna, N, Rabozzi, R, and Peruccio, C. Meibomian gland dysfunction (MGD), as diagnosed by non-contact infrared meibography, in dogs with ocular surface disorders (OSD): a retrospective study. *BMC Vet Res.* (2019) 15:443. doi: 10.1186/s12917-019-2203-3

50. Ofri, R, Orgad, K, Kass, PH, and Dikstein, S. Canine meibometry: establishing baseline values for meibomian gland secretions in dogs. *Vet J.* (2007) 174:536–40. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.10.008

51. Kafarnik, C, Fritsche, J, and Reese, S. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. *Vet Ophthalmol.* (2008) 11:363–7. doi: 10.1111/j.1463-5224.2008.00659.x

52. Dogan, AS, Kosker, M, Arslan, N, and Gurdal, C. Interexaminer reliability of meibography: upper or lower eyelid? *Eye Contact Lens*. (2018) 44:113–7. doi: 10.1097/ICL.0000000000000307

53. Eom, Y, Lee, J-S, Kang, S-Y, Kim, HM, and Song, J-S. Correlation between quantitative measurements of tear film lipid layer thickness and Meibomian gland loss in patients with obstructive Meibomian gland dysfunction and Normal controls. *Am J Ophthalmol*. (2013) 155:1104–10.e2. doi: 10.1016/j.ajo.2013.01.008

54. Shirakawa, R, Arita, R, Morishige, N, Fukuoka, S, and Aihara, M. Necessity of the evaluation of both upper and lower eyelids in patients with meibomian gland dysfunction -a multicenter study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. (2016) 57:5666.

55. Pult, H, Riede-Pult, BH, and Nichols, JJ. Relation between upper and lower lids' meibomian gland morphology, tear film, and dry eye. *Optom Vis Sci*. (2012) 89:E310–5. doi: 10.1097/OPX.0b013e318244e487

56. Kitamura, Y, Maehara, S, Nakade, T, Miwa, Y, Arita, R, Iwashita, H, et al. Assessment of meibomian gland morphology by noncontact infrared meibography in Shih Tzu dogs with or without keratoconjunctivitis sicca. *Vet Ophthalmol*. (2019) 22:744–50. doi: 10.1111/vop.12645

57. Spornberger, J, Soukup, P, Meyer-Lindenberg, A, and Allgoewer, I. Intra-rater variability and inter-rater reliability in measuring tear osmolarity in dogs using the ScoutPro system. *Vet Ophthalmol*. (2025) 6:1–7. doi: 10.1111/vop.70053

58. Kim, H-w, and Kim, J-Y. Randomized comparison of in vivo performance of TearLab® and I-PEN® osmometry in normal dogs. *Vet Ophthalmol*. (2023) 26:440–5. doi: 10.1111/vop.13140

59. García-Resúa, C, Pena-Verdeal, H, Remeseiro, B, Giráldez, MJ, and Yebra-Pimentel, E. Correlation between tear osmolarity and tear meniscus. *Optom Vis Sci*. (2014) 91:1419–29. doi: 10.1097/OPX.0000000000000412

60. Lamkin, ID, Zimmerman, KL, Smith Fleming, KM, Martins, BC. Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology*. (2020) 23:747–53.

IV DISKUSSION

Ziel der ersten Studie war es, die intra- und interindividuelle Reproduzierbarkeit der Messung der Osmolarität mit dem ScoutPro®-System zu untersuchen. Da dieses Osmometer zuvor noch nicht in der Tiermedizin eingesetzt wurde, sollten so Daten erhoben werden, um einen validierten Einsatz im Rahmen der zweiten Studie zu ermöglichen. Die Intrarater Variabilität war akzeptabel und die Interrater Reliabilität zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Untersuchern (Spornberger et al., 2025a). Dies ist von besonderer Bedeutung da die Hyperosmolarität als zentraler Pathomechanismus des trockenen Auges angesehen wird (Bron et al., 2017).

Ziel der zweiten Studie war die Analyse der Tränenfilm-Charakteristika klinisch gesunder Französischer Bulldoggen im Vergleich zu nicht-brachyzephalen Hunden sowie die Bewertung der diagnostischen Relevanz der Osmolarität zur Identifikation einer Tränenfilminstabilität (Spornberger et al., 2025b).

Die eigene Studie zeigte einen signifikant ($p = 0,01$) höheren STT-1 der Französischen Bulldoggen (19,05 ± 4,00 mm/min) im Vergleich zu der Kontrollgruppe (16,88 ± 3,54 mm/min) (Spornberger et al., 2025b). Dieses Resultat stimmt mit Li et al. (2024) überein, steht jedoch im Gegensatz zu anderen Studien, in denen brachycephale Hunde einen niedrigeren STT-1 aufwiesen (Bolzanni et al., 2020, Sebbag und Sanchez, 2023). Der erhöhte STT-1 der Französischen Bulldogge ist dabei auf eine erhöhte Reflextränenproduktion zurückzuführen. Parallel wurden eine verkürzte NIBUT im Vergleich zu der Kontrollgruppe sowie ein erhöhter Verlust von Meibom-Drüsen, eine erniedrigte Lipidschichtdicke und ein erhöhter Tränenmeniskus befundet (Spornberger et al., 2025b). All diese Faktoren sprechen für eine generalisiertes qualitatives Tränenfilmproblem der in der eigenen Studie untersuchten Population Französischer Bulldoggen. Pathophysiologisch begünstigt eine ausgedünnte Lipidschicht ein schnelleres Aufreißen des Tränenfilms, welches sich wiederum quantitativ in der verkürzten nichtinvasiven Tränenfilmaufrisszeit messen lässt (Bron et al., 2017). Dem Pathomechanismus folgend wird durch das schnelle Aufreißen des Tränenfilms eine Evaporation der Tränenflüssigkeit begünstigt (Bron et al., 2017). Die Evaporation wiederum führt zum einen zur Bildung von „Dry Spots“ auf der Hornhaut und damit zu lokaler Hyperosmolarität und zum anderen werden durch die verstärkte Evaporation selbst die Kälterezeptoren der Hornhaut stimuliert (Belmonte et al., 2017, Bron et al.,

2017). Beide Wege führen zu einer Stimulation der Lakrimalen Funktionseinheit und in Folge dessen, zu einem Anstieg reflektorischen Tränens (Bron et al., 2017).

Im Kontext des BOS weisen Sebbag und Sanchez (2023) darauf hin, dass brachyzephale Rassen im Allgemeinen eine um 50 % bis 93 % verminderte korneale Sensibilität besitzen. In theoretischer Hinsicht sollte dies den afferenten Arm des Tränenreflexes schwächen und zu niedrigeren STT-1 Werten führen. Die eigenen Ergebnisse deuten jedoch daraufhin, dass der Reiz durch die massive Evaporation bei der Französischen Bulldogge ausreichend stark ist, um dennoch ein kompensatorisches Reflextränen auszulösen (Spornberger et al., 2025b). Diese Interpretation wird durch den nicht signifikanten Unterschied im STT-2 zwischen den Gruppen (10,16 ± 2,86 vs. 11,28 ± 2,60; p = 0,06) gestützt, der eine vergleichbare Basaltränenproduktion nahelegt (Spornberger et al., 2025b). Das BOS begünstigt zusätzlich die erhöhte Evaporation und eine Störung des Tränenfilms. Exophthalmus und Makroblepharon führen zu einer verstärkten Exposition der Augenoberfläche und damit zu einer verstärkten Evaporation und einer unzureichenden Verteilung des Tränenfilms (Stades et al., 1992). Irritationen des Tränenfilms und der Augenoberfläche durch ektope Zilien, nasales Entropium und Distichien verstärken diesen Prozess (Sebbag und Sanchez, 2023).

Die Höhe des Tränenmeniskus der Französischen Bulldogge war ebenfalls signifikant höher als die Höhe des Tränenmeniskus der Kontrollgruppe (Spornberger et al., 2025b). Dies kann ebenfalls auf den erhöhten STT-1 zurückzuführen sein, da der Tränenmeniskus das Reservoir der Tränenflüssigkeit bildet, und eine positive Korrelation zwischen STT-1 und Höhe des Tränenmeniskus besteht (Nguyen et al., 2012). Eine erhöhter Tränenmeniskus kann auch auf eine Obstruktion in den Tränen ableitenden Wege zurückzuführen sein (Burkat und Lucarelli, 2005). Anatomisch bedingt kommt es, zum Beispiel bei brachycephalen Katzen, zu einem veränderten Verlauf des Tränennasengangs und damit zu einem gestörten Abfluss der Tränenflüssigkeit (Oksa-Minaļto et al., 2023). Auch wenn dies im Einzelfall in der eigenen Studienpopulation nicht vollständig ausgeschlossen werden kann, so ist es doch sehr unwahrscheinlich. Brachycephale Hunde haben meist akzessorische Ostien des Tränennasengangs, die in den Rachen münden und so einen normalen Abfluss der Tränenflüssigkeit ermöglichen (Sahr et al., 2021). Die gemessenen Werte der Höhe des Tränenmeniskus in der eigenen Studie (0,64 ± 0,20 mm Französische Bulldogge; 0,31 ± 0,22 mm Kontrollgruppe) zeigen, dass brachycephale Hunde einen signifikant ($p = 9 \times 10^{-10}$) höheren Tränenmeniskus haben als nicht brachycephale Hunde (Spornberger et

al., 2025b). Dieser Trend lässt sich auch in der Literatur nachvollziehen (Kim et al., 2022, Silva et al., 2024, Sonego et al., 2024, Voitena et al., 2024, Yoon et al., 2024, Zwiauer-Wolfbeisser et al., 2025), wobei es auch Unterschiede zwischen den einzelnen Rassen gibt (Li et al., 2024). Dies beinhaltet brachycephale Rassen, die eine niedrigere Höhe des Tränenmeniskus (Li et al., 2024, Voitena et al., 2024) oder eine höhere Höhe des Tränenmeniskus (Silva et al., 2024) als die von uns untersuchten Französischen Bulldoggen haben. Diese Ergebnisse betonen die Relevanz von rassenspezifischen Referenzwerten für die Tränenfilmdiagnostik, insbesondere bei brachyzephalen Hunden.

Die dünnere Lipidschicht der Französischen Bulldoggen begünstigt die kurze nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit. Ursächlich kommen hier sowohl eine verminderte Sekretion durch erhöhten Verlust von Meibom-Drüsen als auch ein qualitativer Mangel des sekretierten Meiboms in Frage (Viñas et al., 2019).

Ein weiterer signifikanter Faktor ist der Einfluss von Allergien auf die Konformation der Meibom-Drüsen und die Qualität des sekretierten Meiboms. Es konnte in humanmedizinischen Studien nachgewiesen werden, dass Patienten, die an einer saisonalen Allergie leiden, eine erhöhte Anzahl an Verformungen und Verlust von Meibom-Drüsen aufweisen (Liu et al., 2022, Wei et al., 2025). Zusätzlich wiesen diese Patienten eine verkürzte invasive- und nichtinvasive Tränenfilmaufrisszeit auf (Liu et al., 2022, Wei et al., 2025). Diese Ergebnisse werden veterinärmedizinisch durch die vorläufigen Daten von Marques et al. (2025) bestätigt. Bei atopischen Hunden, die an allergischer Konjunktivitis leiden, konnten im Vergleich zu gesunden Kontrolltieren niedrigere Interferometrie-Werte (eine dünnere Lipidschicht) beobachtet werden. Obwohl im Rahmen der eigenen Studien keine Untersuchung des Allergiestatus` der Hunde vorgenommen wurde, ist die Hypothese zu vertreten, dass ein großer Anteil der französischen Bulldoggen Allergiker ist. Diese Annahme fußt auf der Tatsache, dass brachycephale Hunde überproportional häufig von Allergien betroffen sind (Hobi et al., 2023).

Die gemessene Osmolarität wies keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,4$) zwischen den beiden Gruppen (296 ± 13,6 Französische Bulldogge; 299,8 ± 16,1 Kontrollgruppe) auf (Spornberger et al., 2025b). Die ermittelten Werte lagen folglich unterhalb der Referenzbereiche des TearLab® (337–339 mOsm/L) und des I-Pen® Vet (315–319 mOsm/L), die in der Veterinärmedizin zum Einsatz kommen (Iwashita et al., 2023). Das Ergebnis der Kontrollgruppe wich dabei zusätzlich von den eigenen gemessenen Werten

aus der ersten Studie ab (Spornberger et al., 2025a). In Anbetracht der Tatsache, dass keine Referenzwerte für Messungen mit dem ScoutPro® zur Verfügung stehen, ist es unumgänglich, die Hypothese aufzustellen, dass die in der eigenen ersten Studie beschriebenen Messwerte nicht den exakten Referenzbereich des ScoutPro® abbilden. Um die exakten Referenzbereiche der Osmometer zu ermitteln, sind weitere Studien mit einer größeren Patientenpopulation sowie der gleichzeitige Einbezug des TearLab® und des I-Pen® Vet erforderlich. Die Messergebnisse der Französischen Bulldogge zeigen, dass die Osmolarität kein geeigneter Parameter ist, um zwischen gesunden Tieren und solchen mit qualitativen Tränenfilmproblemen zu differenzieren. Einerseits wird die tatsächliche Osmolarität auf der Augenoberfläche durch die Messung der Osmolarität im Tränenmeniskus nicht adäquat abgebildet (Bron et al., 2017). Andererseits kann eine potenzielle Erhöhung der Osmolarität durch die übermäßige Reflextränenproduktion maskiert werden. Es konnte sowohl in der Humanophthalmologie (Abusharha et al., 2018) als auch in der veterinärmedizinischen Ophthalmologie (Lamkin et al., 2020) der Nachweis erbracht werden, dass Reflextränen die gleiche Osmolarität wie Basaltränen aufweisen. Zusätzlich konnte in humanmedizinischen Studien eine negative Korrelation zwischen der Osmolarität und der Tränenmeniskushöhe nachgewiesen werden (García-Resúa et al., 2014, Lee et al., 2025). Diese Erkenntnis liefert eine Erklärung für die in der eigenen Studie gemessenen niedrigen Osmolaritätswerte der Französischen Bulldogge (Spornberger et al., 2025b). Zwar konnte die methodische Reliabilität des Messverfahrens etabliert werden, doch ist dessen klinische Relevanz zum aktuellen Zeitpunkt nicht gegeben.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass alle klinisch gesunden Französischen Bulldoggen, die untersucht wurden, Anzeichen einer qualitativen Tränenfilmproblematik aufwiesen (Spornberger et al., 2025b). Dies erklärt zum einen die überproportionale Repräsentation dieser Rasse in der ophthalmologischen Praxis und sollte zum anderen bei jeder ophthalmologischen Untersuchung berücksichtigt werden. Um eine belastbare Aussage darüber treffen zu können, ob die Messung der Osmolarität in die klinische Untersuchung einbezogen werden sollte und um Referenzwerte zu etablieren, sind weitere Studien unter Einbeziehung einer größeren Patientenpopulation sowie der gleichzeitigen Messung mit den drei Osmometern erforderlich.

V ZUSAMMENFASSUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zum einen den Tränenfilm klinisch gesunder Französischer Bulldoggen zu untersuchen und zum anderen die Aussagekraft der Messung der Tränenosmolarität als Parameter einer Tränenfilminstabilität zu prüfen.

Zur Messung der Osmolarität wurde zunächst die Anwendbarkeit und Reproduzierbarkeit des bislang in der Veterinärmedizin nicht eingesetzten Osmometers ScoutPro® in einer Pilotstudie untersucht. Unter Ausschluss von brachycephalen Rassen wurde die Osmolaritätsmessung an 17 gesunden, dolichocephalen und mesocephalen Hunden durchgeführt. Zwei Untersucher führten dafür jeweils drei aufeinander folgende Osmolaritätsmessungen beider Augen durch. Die Intrarater Variabilität wurde mittels Friedman Test und Cronbachs Alpha bewertet, die Interrater Reliabilität mittels eines gepaarten t-Tests. Der gepaarte t-Test ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Mittelwerten der Untersucher mit einem $p = 0,1$ und die Interrater Reliabilität war akzeptabel mit Cronbachs Alpha von 0,75 für Untersucher eins und 0,80 für Untersucher zwei. Die durchschnittliche Tränenosmolarität betrug bei Untersucher eins 323,51 ± 9,89 mOsm/l und bei Untersucher zwei 326,74 ± 9,02 mOsm/l.

In der zweiten Studie wurde der Tränenfilm von gesunden französischen Bulldoggen untersucht und mit dem Tränenfilm von gesunden dolichocephalen und mesocephalen Hunden verglichen. Bei 50 Französischen Bulldoggen und 30 Hunden verschiedener Rassen wurde eine vollständige ophthalmologische Untersuchung sowie eine umfangreiche Tränenfilmdiagnostik mittels des I.C.P. OSA-Vet® und zusätzlich eine Messung der Osmolarität des Tränenfilms mittels des ScoutPro® durchgeführt. Die Tränenfilmdiagnostik bestand aus: Interferometrie, Messung der Höhe des Tränenmeniskus`, nicht invasiver Tränenfilmaufrisszeit, infrarot Meibographie, Schirmer Tränen Test eins und zwei, Punktförmiges Fluoreszein-Staining und Vitalfärbung mit Lissamingrün. Zusätzlich wurden zum Ausschluss von äußeren Einflüssen auf die Tränenfilmdiagnostik die Luftfeuchtigkeit und die Raumtemperatur bei jeder Untersuchung mitgemessen.

Der STT-1 der Französischen Bulldoggen war mit 19,05 ± 4,00 mm/min im Vergleich zu 16,88 ± 3,54 mm/min der Kontrollgruppe signifikant erhöht ($p = 0,01$). Der STT-2 zeigte mit 10,16 ± 2,86 mm/min bei Französischen Bulldoggen und 11,28 ± 2,60 mm/min in der Kontrollgruppe keinen signifikanten Unterschied ($p = 0,06$). Die

Französischen Bulldoggen zeigten eine signifikant niedrigere Interferometrie ($p = 9*10^{-8}$) als die Kontrollgruppe. Die Tränenmeniskusshöhe betrug 0,64 ± 0,20 mm bei Französischen Bulldoggen und 0,31 ± 0,22 mm in der Kontrollgruppe. Französische Bulldoggen hatten einen signifikant (p = 9 x 10−10) höhere TMH als die Kontrollgruppe. Die NIBUT war mit 7,39 ± 3,32 s bei Französischen Bulldoggen und 14,74 ± 5,92 s in der Kontrollgruppe, bei den Französische Bulldoggen signifikant ($p = 3,5 \times 10^{-9}$) verkürzt. Der Verlust an Meibomschen Drüsen war bei den Französischen Bulldoggen signifikant (p = 0,027) höher mit 25,32 ± 19,11 % im Vergleich zu 14,57 ± 9,32 %. Die Osmolarität zeigte mit 296.6 ± 13.6 mOsm/L und 299.8 ± 16.1 mOsm/L keinen signifikanten (p = 0,4) Unterschied zwischen den Französischen Bulldoggen und der Kontrollgruppe. In beiden Gruppen wurde keine positive Lissamingrün-Färbung befundet und für das punktförmige Fluoreszein-Staining wurde kein signifikanter (p = 0,1) Unterschied zwischen den Gruppen gefunden.

Die Raumtemperatur zeigte keinen signifikanten (p = 0,42) Unterschied zwischen den beiden Gruppen, die Luftfeuchtigkeit jedoch schon (p = 0,0002). Sowohl Luftfeuchtigkeit (45,44 ± 8,79 % für die Französischen Bulldoggen und 52,66 ± 5,56 für die Kontrollgruppe) als auch Temperatur (22,09 ± 1,93 °C und 21,54 ± 1,03) lagen im Normalbereich, ein maßgeblicher Einfluss auf die Untersuchungsergebnisse erscheint dadurch unwahrscheinlich.

Die Untersuchungsergebnisse zeigten, dass das ScoutPro® (Trukera Medical, Southlake, Texas, USA) zur Messung der Tränenosmolarität bei Hunden eingesetzt werden kann und verlässliche Messergebnisse liefert, auch bei wiederholter Messung und unterschiedlichen Untersuchern. In der Untersuchung des Tränenfilms zeigten die gesunden Französischen Bulldoggen typische Anzeichen einer EDED (verkürzte NIBUT, niedrige LLT, erhöhte TMH, hoher STT-1). Dieses Ergebnis ist von besonderer Relevanz, da die Französische Bulldogge weltweit zu den beliebtesten Hunderassen zählt und überproportional häufig unter ophthalmologischen Erkrankungen leidet. Die Osmolarität als Indikator einer Tränenfilmproblematik ließ sich in diesen Studien nicht etablieren. Weitere Studien mit einer größeren Patientenanzahl sind anzuraten.

VI SUMMARY

The objective of this study was to examine the tear film of healthy French Bulldogs and to investigate the significance of measuring tear film osmolarity as a parameter for tear film instability.

The ScoutPro® osmometer, which had not previously been utilized in veterinary medicine, was used to measure osmolarity. In a preliminary study, the reproducibility of measurements with the ScoutPro® was initially examined. With the exception of brachycephalic breeds, osmolarity measurements were conducted on a total of 17 healthy canines of both dolichocephalic and mesocephalic breeds. Two examiners performed three consecutive osmolarity measurements on both eyes. The intra-rater variability was determined using the Friedman test and Cronbach's alpha, and the inter-rater reliability was determined using a paired t-test. The paired t-test revealed no statistically significant discrepancy between the two mean values of the examiners, with a p-value of 0.1. Additionally, the inter-rater reliability was deemed to be satisfactory, with Cronbach's alpha values of 0.75 for examiner one and 0.80 for examiner two. The mean osmolarity of tears was determined to be 323.51 ± 9.89 mOsm/L for examiner one and 326.74 ± 9.02 mOsm/L for examiner two.

In the second study, the tear film of healthy French Bulldogs was examined and compared with the tear film of healthy dolichocephalic and mesocephalic dogs. A total of 50 French Bulldogs and 30 dogs of various breeds underwent a comprehensive ophthalmological examination, which included a thorough tear film evaluation utilizing the I.C.P. OSA-Vet® and the measurement of tear film osmolarity with the ScoutPro®. The tear film diagnostics entailed the following procedures: interferometry, measurement of the height of the tear meniscus, non-invasive tear film break-up time, infrared meibography, Schirmer tear tests one and two, punctate fluorescein staining, and vital staining with lissamine green. Furthermore, the examination was conducted under controlled conditions, with humidity and room temperature measurements recorded during each procedure to eliminate the potential impact of external factors on the diagnostic accuracy of the tear film analysis.

This study aimed to assess tear film characteristics in healthy French Bulldogs and to evaluate tear osmolarity as an indicator of tear film instability. Tear osmolarity was

measured using the ScoutPro® osmometer, which has not previously been used in veterinary medicine.

In a preliminary reproducibility study, tear osmolarity was measured in 17 healthy dolichocephalic and mesocephalic dogs. Two examiners performed three consecutive measurements in both eyes. Intra-rater variability was analyzed using the Friedman test and Cronbach's alpha, and inter-rater reliability was assessed using a paired t-test. No significant difference was found between examiners ($p = 0.1$). Inter-rater reliability was acceptable, with Cronbach's alpha values of 0.75 and 0.80. Mean tear osmolarity was 323.51 ± 9.89 mOsm/L and 326.74 ± 9.02 mOsm/L for examiners one and two, respectively.

In the main study, 50 healthy French Bulldogs and 30 healthy dolichocephalic and mesocephalic dogs underwent comprehensive ophthalmological and tear film examinations, including interferometry, tear meniscus height (TMH), non-invasive tear film break-up time (NIBUT), infrared meibography, Schirmer tear tests I and II (STT-1, STT-2), fluorescein staining, lissamine green staining, and tear osmolarity measurement using the ScoutPro®. All examinations were performed under controlled environmental conditions, with room temperature and humidity recorded.

French Bulldogs showed significantly higher STT-1 values (19.05 ± 4.00 mm/min) than controls (16.88 ± 3.54 mm/min; $p = 0.01$), while STT-2 did not differ significantly ($p = 0.06$). Interferometry values were significantly reduced in French Bulldogs ($p = 9.1 \times 10^{-8}$). TMH was significantly increased in French Bulldogs (0.64 ± 0.20 mm) compared with controls (0.31 ± 0.22 mm; $p = 9 \times 10^{-10}$). NIBUT was significantly shorter in French Bulldogs (7.39 ± 3.32 s) than in controls (14.74 ± 5.92 s; $p = 3.5 \times 10^{-9}$). Meibomian gland loss was significantly greater in French Bulldogs (25.32 ± 19.11%) than in controls (14.57 ± 9.32%; $p = 0.027$).

No significant difference in tear osmolarity was detected between French Bulldogs (296.6 ± 13.6 mOsm/L) and controls (299.8 ± 16.1 mOsm/L; $p = 0.4$). Lissamine green staining was absent in all dogs, and fluorescein staining did not differ significantly between groups ($p = 0.1$).

Although humidity differed significantly between groups ($p = 0.0002$), both humidity and temperature remained within physiological ranges, making a relevant influence of environmental factors unlikely.

In conclusion, the ScoutPro® provides reliable tear osmolarity measurements in dogs. Healthy French Bulldogs display tear film alterations consistent with evaporative dry eye disease, but tear osmolarity did not correlate with tear film instability. Larger studies are required to clarify the diagnostic value of tear osmolarity in canine ophthalmology.

VII LITERATURVERZEICHNIS

Abusharha, A. A., AlShehri, T. M., Hakami, A. Y., Alsaqr, A. M., Fagehi, R. A., Alanazi, S. A. & Masmali, A. M. 2018. Analysis of basal and reflex human tear osmolarity in normal subjects: assessment of tear osmolarity. *Therapeutic Advances in Ophthalmology,* 10**,** 2515841418794886.

Ahmad, B., Gurnani, B. & Patel, B. C. 2025. Herpes Simplex Keratitis. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2025, StatPearls Publishing LLC.

Belmonte, C., Nichols, J. J., Cox, S. M., Brock, J. A., Begley, C. G., Bereiter, D. A., Dartt, D. A., Galor, A., Hamrah, P., Ivanusic, J. J., Jacobs, D. S., McNamara, N. A., Rosenblatt, M. I., Stapleton, F. & Wolffsohn, J. S. 2017. TFOS DEWS II pain and sensation report. *The Ocular Surface,* 15**,** 404-437.

Berger, S. L., Scagliotti, R. H. & Lund, E. M. 1995. A quantitative study of the effects of Tribrissen on canine tear production. *Journal of the American Animal Hospital Association,* 31**,** 236-41.

Blackie, C. A., Solomon, J. D., Scaffidi, R. C., Greiner, J. V., Lemp, M. A. & Korb, D. R. 2009. The relationship between dry eye symptoms and lipid layer thickness. *Cornea,* 28**,** 789-94.

Blocker, T., Hoffman, A., Schaeffer, D. J. & Wallin, J. A. 2007. Corneal sensitivity and aqueous tear production in dogs undergoing evisceration with intraocular prosthesis placement. *Veterinary Ophthalmology,* 10**,** 147-154.

Blocker, T. & Van Der Woerdt, A. 2001. A comparison of corneal sensitivity between brachycephalic and Domestic Short-haired cats. *Veterinary Ophthalmology,* 4**,** 127-130.

Bolzanni, H., Oriá, A. P., Raposo, A. C. S. & Sebbag, L. 2020. Aqueous tear assessment in dogs: Impact of cephalic conformation, inter-test correlations, and test-retest repeatability. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 534-543.

Bron, A. J., de Paiva, C. S., Chauhan, S. K., Bonini, S., Gabison, E. E., Jain, S., Knop, E., Markoulli, M., Ogawa, Y., Perez, V., Uchino, Y., Yokoi, N., Zoukhri, D. & Sullivan, D. A. 2017. TFOS DEWS II pathophysiology report. *The Ocular Surface,* 15**,** 438-510.

Bron, A. J. & Willshire, C. 2021. Tear Osmolarity in the Diagnosis of Systemic Dehydration and Dry Eye Disease. *Diagnostics (Basel),* 11.

Brown, M., Galland, J., Davidson, H. & Brithman, A. 1996. The phenol red threat tear test in dogs. *Veterinary & Comparative Ophthalmology,* 6**,** 274-277.

Burkat, C. N. & Lucarelli, M. J. 2005. Tear meniscus level as an indicator of nasolacrimal obstruction. *Ophthalmology,* 112**,** 344-8.

Butovich, I. A., Borowiak, A. M. & Eule, J. C. 2011. Comparative HPLC-MSn analysis of canine and human meibomian lipidomes: many similarities, a few differences. *Scientific Reports,* 1**,** 24.

Carrington, S. D., Bedford, P. G., Guillon, J. P. & Woodward, E. G. 1989. Biomicroscopy of the tear film: the tear film of the pekingese dog. *Veterinary Record,* 124**,** 323-8.

Craig, J. P., Nichols, K. K., Akpek, E. K., Caffery, B., Dua, H. S., Joo, C.-K., Liu, Z., Nelson, J. D., Nichols, J. J., Tsubota, K. & Stapleton, F. 2017. TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *The Ocular Surface,* 15**,** 276-283.

Cullen, C. L., Ihle, S. L., Webb, A. A. & McCarville, C. 2005. Keratoconjunctival effects of diabetes mellitus in dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 8**,** 215-224.

Davidson, H. J. & Kuonen, V. J. 2004. The tear film and ocular mucins. *Veterinary Ophthalmology,* 7**,** 71-7.

De Decker, S., Rohdin, C. & Gutierrez-Quintana, R. 2024. Vertebral and spinal malformations in small brachycephalic dog breeds: Current knowledge and remaining questions. *The Veterinary Journal,* 304**,** 106095.

Donaldson, D. & Hartley, C. 2021. 10.2. Ophthalmic Examination and Diagnostics Part 2: Ocular Imaging. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 662-732. John Wiley & Sons.

Ekenstedt, K. J., Crosse, K. R. & Risselada, M. 2020. Canine Brachycephaly: Anatomy, Pathology, Genetics and Welfare. *Journal of Comparative Pathology,* 176**,** 109-115.

Featherstone, H. J. & Heinrich, C. L. 2021. 10.1. Ophthalmic Examination and Diagnostics Part 1: The Eye Examination and Diagnostic Procedures. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 567-661. John Wiley & Sons.

Fish, S. K., Pflugfelder, S. C. & Paiva, C. S. d. 2004. The Effect of Tear Film Composition on Refraction. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 45**,** 3887-3887.

García-Resúa, C., Pena-Verdeal, H., Remeseiro, B., Giráldez, M. J. & Yebra-Pimentel, E. 2014. Correlation between tear osmolarity and tear meniscus. *Optometry and Vision Science,* 91**,** 1419-29.

Gelatt, K. N., Peiffer, R. L., Jr., Erickson, J. L. & Gum, G. G. 1975. Evaluation of tear formation in the dog, using a modification of the Schirmer tear test. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 166**,** 368-70.

Gipson, I. K. & Argüeso, P. 2003. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia. *International Review of Cytology,* 231**,** 1-49.

Giuliano, E. A. 2021. 17. Diseases and Surgery of the Canine Lacrimal Secretory System. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 1008-1044. John Wiley & Sons.

Good, K. L., Maggs, D. J., Hollingsworth, S. R., Scagliotti, R. H. & Nelson, R. W. 2003. Corneal sensitivity in dogs with diabetes mellitus. *American Journal of Veterinary Research,* 64**,** 7-11.

Gruenheid, M., Aarnes, T. K., McLoughlin, M. A., Simpson, E. M., Mathys, D. A., Mollenkopf, D. F. & Wittum, T. E. 2018. Risk of anesthesia-related complications in brachycephalic dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 253**,** 301-306.

Hartley, C., Williams, D. L. & Adams, V. J. 2006. Effect of age, gender, weight, and time of day on tear production in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 9**,** 53-57.

Hawkins, E. C. & Murphy, C. J. 1986. Inconsistencies in the absorptive capacities of Schirmer tear test strips. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 188**,** 511-3.

Helper, L. C., Magrane, W. G., Koehm, J. & Johnson, R. 1974. Surgical induction of keratoconjunctivitis sicca in the dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 165**,** 172-4.

Hendrix, D. V. H., Thomasy, S. M. & Gum, G. G. 2021. 3. Physiology of the Eye. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 124-167. John Wiley & Sons.

Hobi, S., Barrs, V. R. & Bęczkowski, P. M. 2023. Dermatological Problems of Brachycephalic Dogs. *Animals (Basel),* 13.

Hollingsworth, S. R., Canton, D. D., Buyukmihci, N. C. & Farver, T. B. 1992. Effect of topically administered atropine on tear production in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 200**,** 1481-4.

Iwashita, H., Sebbag, L., Leonard, B. C. & Saito, A. 2023. A review of diagnostic tests for qualitative and quantitative tear film deficiency in dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 26**,** 5-15.

Iwashita, H., Wakaiki, S., Kazama, Y. & Saito, A. 2020. Breed prevalence of canine ulcerative keratitis according to depth of corneal involvement. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 849-855.

Jeong, D., Kang, S., Shim, J., Lee, E., Jeong, Y. & Seo, K. 2022. Evaluation of ocular surface parameters in dogs with and without meibomian gland dysfunction. *Veterinary Record,* 191**,** e1682.

Jones, L. T. 1961. An anatomical approach to problems of the eyelids and lacrimal apparatus. *Archives of Ophthalmology,* 66**,** 111-24.

Kafarnik, C., Fritsche, J. & Reese, S. 2008. Corneal innervation in mesocephalic and brachycephalic dogs and cats: assessment using in vivo confocal microscopy. *Veterinary Ophthalmology,* 11**,** 363-367.

Kaswan, R. L., Martin, C. L. & Dawe, D. L. 1985. Keratoconjunctivitis sicca: immunological evaluation of 62 canine cases. *American Journal of Veterinary Research,* 46**,** 376-83.

Khanal, S., Tomlinson, A., Esakowitz, L., Bhatt, P., Jones, D., Nabili, S. & Mukerji, S. 2008. Changes in corneal sensitivity and tear physiology after phacoemulsification. *Ophthalmic and Physiological Optics,* 28**,** 127-134.

Kim, Y., Kang, S., Kim, S., Shim, J., Go, S. & Seo, K. 2022. Reference values for selected dry eye tests in normal Beagle dogs: a pilot study. *Journal of Veterinary Science,* 23.

Klenkler, B., Sheardown, H. & Jones, L. 2007. Growth factors in the tear film: role in tissue maintenance, wound healing, and ocular pathology. *Ocular Surface,* 5**,** 228-39.

Korb, D. R., Greiner, J. V. & Herman, J. 2001. Comparison of Fluorescein Break-Up Time Measurement Reproducibility Using Standard Fluorescein Strips Versus the Dry Eye Test (DET) Method. *Cornea,* 20**,** 811-815.

Krainer, D. & Dupré, G. 2022. Brachycephalic Obstructive Airway Syndrome. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice,* 52**,** 749-780.

Lamkin, I. D., Zimmerman, K. L., Smith Fleming, K. M. & Martins, B. C. 2020. Osmolarity of basal and reflex tears of normal dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 747-753.

Lee, J., Bang, S. P., Kim, J. G. & Jun, J. H. 2025. Impact of temporal tear meniscus height on the tear osmolarity measurements. *Scientific Reports,* 15**,** 27459.

Li, D.-Q., Chen, Z., Song, X. J., Luo, L. & Pflugfelder, S. C. 2004. Stimulation of Matrix Metalloproteinases by Hyperosmolarity via a JNK Pathway in Human Corneal Epithelial Cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 45**,** 4302-4311.

Li, Y.-H., Martins, B. & Lin, C.-T. 2024. Investigation of ocular surface parameters in dogs with different cephalic conformations using veterinary ocular surface analyzer (OSA-VET). *Veterinary Ophthalmology,* 28**,** 605-618.

Liu, L., Yang, J., Ji, W. & Wang, C. 2022. Assessment of Meibomian Gland (MD) Impairment Among Seasonal Allergic Conjunctivitis (SAC) Patients. *Medical Science Monitor,* 28**,** e935359.

Ludders, J. W. & Heavner, J. E. 1979. Effect of atropine on tear formation in anesthetized dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association,* 175**,** 585-586.

Marques, R., Silva, B., Amorim, A. M. & Delgado, E. 2025. Evaluation of tear film quality in atopic dogs using the ocular surface analyzer (OSA-Vet). 2025 ESVO Meeting, 02.10. - 05.10. 2025 Ghent, Belgium. 117.

Masmali, A. M., Al-Qhtani, S., Al-Gasham, T. M., El-Hiti, G. A., Purslow, C. & Murphy, P. J. 2015. Application of a new grading scale for tear ferning in non-dry eye and dry eye subjects. *Contact Lens and Anterior Eye,* 38**,** 39-43.

Meekins, J. M., Rankin, A. J. & Samuelson, D. A. 2021. 2. Ophthalmic Anatomy. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 41-123. John Wiley & Sons.

Miller, P. E. & Panciera, D. L. 1994. Effects of experimentally induced hypothyroidism on the eye and ocular adnexa of dogs. *American Journal of Veterinary Research,* 55**,** 692-7.

Montés-Micó, R., Alió, J. L., Muñoz, G., Pérez-Santonja, J. J. & Charman, W. N. 2004. Postblink changes in total and corneal ocular aberrations. *Ophthalmology,* 111**,** 758-67.

Montés-Micó, R., Cervino, A., Ferrer-Blasco, T., García-Lázaro, S. & Madrid-Costa, D. 2010. The Tear Film and the optical Quality of the Eye. *The Ocular Surface,* 8**,** 185-192.

Moore, C. P. 1990. Qualitative Tear Film Disease. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice,* 20**,** 565-581.

Ng, A. T. J., Moore, P. A. & Boveland, S. D. 2026. Assessment of meibomian gland morphology and tear-film lipid layer using noncontact infrared meibography and meibometry, respectively, and tear-film osmolarity in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 29**,** e13294.

Nguyen, P., Huang, D., Li, Y., Sadda, S., Ramos, S., Pappuru, R. K. & Yiu, S. 2012. Correlation Between Optical Coherence Tomography–Derived Assessments of Lower Tear Meniscus Parameters and Clinical Features of Dry Eye Disease. *Cornea,* 31**,** 680-5.

O'Neill, D. G., Lee, M. M., Brodbelt, D. C., Church, D. B. & Sanchez, R. F. 2017. Corneal ulcerative disease in dogs under primary veterinary care in England: epidemiology and clinical management. *Canine Genetics and Epidemiology,* 4**,** 5.

Ofri, R. & Ekesten, B. 2021. 4. Optics and Physiology of Vision. *In:* GELATT, K. N. (ed.) *Veterinary ophthalmology.* 6th ed. 1. 168-224. John Wiley & Sons.

Ofri, R., Orgad, K., Kass, P. H. & Dikstein, S. 2007. Canine meibometry: Establishing baseline values for meibomian gland secretions in dogs. *The Veterinary Journal,* 174**,** 536-540.

Oksa-Minaļto, J., Maggs, D. J., Akimova, J., Ilgaža, A. & Sebbag, L. 2023. Ocular surface physiology and aqueous tear secretion in cats of diverse cephalic conformations. *Veterinary Ophthalmology,* 26**,** 109-118.

Packer, R. M. A., Hendricks, A. & Burn, C. C. 2015. Impact of Facial Conformation on Canine Health: Corneal Ulceration. *PLOS ONE,* 10**,** e0123827.

Pe'er, O., Ofri, R. & Sebbag, L. 2025. Schirmer tear test-1 with open or closed eyelids: An evaluation in brachycephalic and nonbrachycephalic dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 28**,** 21-27.

Peng, C. C., Cerretani, C., Braun, R. J. & Radke, C. J. 2014. Evaporation-driven instability of the precorneal tear film. *Advances in Colloid and Interface Science,* 206**,** 250-64.

Peruccio, C., Caruso, K. & Reynolds, B. 2021. Clinical atlas: ocular surface analyser, veterinary setting, for the diagnosis of dry eye with OSA-Vet. *Torino: SBM Sistemi***,** 7-11.

Rahman, E. Z., Lam, P. K., Chu, C. K., Moore, Q. & Pflugfelder, S. C. 2015. Corneal Sensitivity in Tear Dysfunction and its Correlation With Clinical

Parameters and Blink Rate. *American Journal of Ophthalmology,* 160**,** 858-866.e5.

Rajaei, S. M., Faghihi, H. & Zahirinia, F. 2024. The Shih Tzu eye: Ophthalmic findings of 1000 eyes. *Veterinary Ophthalmology,* 27**,** 447-451.

Rolando, M. 1984. Tear mucus ferning test in normal and keratoconjunctivitis sicca eyes. *Chibret International Journal of Ophthalmology,* 2**,** 32-41.

Sahr, S., Dietrich, A. & Oechtering, G. 2021. Evaluating malformations of the lacrimal drainage system in brachycephalic dog breeds: A comparative computed tomography analysis. *PLOS ONE,* 16**,** e0257020.

Saito, A., Iwashita, H., Kitamura, Y., Miwa, Y. & Arita, R. 2021. Punctate fluorescein staining scores in dogs with or without aqueous tear deficiency. *Veterinary Ophthalmology,* 24**,** 28-36.

Saito, A. & Kotani, T. 2001. Estimation of lacrimal level and testing methods on normal beagles. *Veterinary Ophthalmology,* 4**,** 7-11.

Sebbag, L., Crabtree, E. E., Sapienza, J. S., Kim, K. & Rodriguez, E. 2020. Corneal hypoesthesia, aqueous tear deficiency, and neurotrophic keratopathy following micropulse transscleral cyclophotocoagulation in dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 171-180.

Sebbag, L. & Sanchez, R. F. 2023. The pandemic of ocular surface disease in brachycephalic dogs: The brachycephalic ocular syndrome. *Veterinary Ophthalmology,* 26 Suppl 1**,** 31-46.

Sebbag, L., Silva, A., Santos, A. P. B., Raposo, A. C. S. & Oria, A. P. 2023. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Veterinary Ophthalmology,* 26 Suppl 1**,** 59-71.

Seyer, L. D., Wills, R. W. & Betbeze, C. M. 2021. Investigation of fluorescein stain–based tear film breakup time test reliability in dogs in a clinical setting. *American Journal of Veterinary Research,* 82**,** 1019-1025.

Silva, P. H. S., Cruz, L. K. S., Ferreira, B. M., Falcão, M. S. A., Barreto-Vianna, A. R. C. & Lima, E. M. M. 2024. Evaluating the aqueous portion of tears in shih tzu dogs: comparing Schirmer tear test 1 with tear meniscus height. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia,* 76.

Slatter, D. H. & Blogg, J. R. 1978. Keratoconjunctivitis sicca in dogs associated with sulphonamide administration. *Australian Veterinary Journal,* 54**,** 444-6.

Smith, S. M., Holt, E. & Aguirre, G. D. 2020. Conjunctival staining with lissamine green as a predictor of tear film deficiency in dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 624-631.

Sonego, D. A., Ribeiro, A. P., Dower, N. M. B., Rodrigues, B. E., de França Lemes, S. A., de Oliveira Souza, A., de Lara Spada, E. C., Furlan, F. H., Lisboa, D. R. & Rondon e Silva, J. 2024. Effects of topical ketorolac tromethamine on tear parameters, meibography, goblet cell density, and conjunctival oxidative stress in healthy dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 27**,** 214-227.

Spornberger, J., Soukup, P., Meyer-Lindenberg, A. & Allgoewer, I. 2025a. Intra-rater Variability and Inter-Rater Reliability in Measuring Tear Osmolarity in Dogs Using the ScoutPro System. *Veterinary Ophthalmology,* 28**,** 970-976.

Spornberger, J., Soukup, P., Meyer-Lindenberg, A. & Allgoewer, I. 2025b. Tear film characteristics in French bulldogs vs. non-brachycephalic dogs. *Frontiers in Veterinary Science,* Volume 12 - 2025.

Srinivas, S. P. & Rao, S. K. 2023. Ocular surface staining: Current concepts and techniques. *Indian Journal of Ophthalmology,* 71**,** 1080-1089.

Stades, F., Boeve, M. & Van der Woerdt, A. 1992. Palpebral fissure length in the dog and cat. *Progress in Veterinary and Comparative Ophthalmology,* 2**,** 155-161.

Stern, M. E., Gao, J., Siemasko, K. F., Beuerman, R. W. & Pflugfelder, S. C. 2004. The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Experimental Eye Research,* 78**,** 409-16.

Telle, M. R., Chen, N., Shinsako, D., Kiland, J. A., Oikawa, K., Møller Trane, R. & McLellan, G. J. 2019. Relationship between corneal sensitivity, corneal thickness, corneal diameter, and intraocular pressure in normal cats and cats with congenital glaucoma. *Veterinary Ophthalmology,* 22**,** 4-12.

Tiffany, J. M. 2008. The normal tear film. *Developments in Ophthalmology,* 41**,** 1-20.

Tomlinson, A., Bron, A. J., Korb, D. R., Amano, S., Paugh, J. R., Pearce, E. I., Yee, R., Yokoi, N., Arita, R. & Dogru, M. 2011. The International Workshop on Meibomian Gland Dysfunction: Report of the Diagnosis Subcommittee. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 52**,** 2006-2049.

Tomlinson, A., Khanal, S., Ramaesh, K., Diaper, C. & McFadyen, A. 2006. Tear Film Osmolarity: Determination of a Referent for Dry Eye Diagnosis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 47**,** 4309-4315.

Tomlinson, A., McCann, L. C. & Pearce, E. I. 2010. Comparison of human tear film osmolarity measured by electrical impedance and freezing point depression techniques. *Cornea,* 29**,** 1036-41.

Utine, C. A., Bıçakçıgil, M., Yavuz, Ş. & Çiftçi, F. 2011. Tear Osmolarity Measurements in Dry Eye Related to Primary Sjögren's Syndrome. *Current Eye Research,* 36**,** 683-690.

Viñas, M., Maggio, F., D'Anna, N., Rabozzi, R. & Peruccio, C. 2019. Meibomian gland dysfunction (MGD), as diagnosed by non-contact infrared Meibography, in dogs with ocular surface disorders (OSD): a retrospective study. *BMC Veterinary Research,* 15**,** 443.

Visser, H. E., Tofflemire, K. L., Love-Myers, K. R., Allbaugh, R. A., Ellinwood, N. M., Dees, D. D., Ben-Shlomo, G. & Whitley, R. D. 2017. Schirmer tear test I in dogs: results comparing placement in the ventral vs. dorsal conjunctival fornix. *Veterinary Ophthalmology,* 20**,** 522-525.

Voitena, J. N., Brito, F. L. C., Marinho, T. O. C., Montiani-Ferreira, F., Cremonini, D. N., Chiurciu, J. L. V., Jesus, N. S., Leonard, B. C. & da Cunha, O. 2024. Application of OSA-VET® and qualiquantitative tear tests in brachycephalic dogs with and without keratoconjunctivitis sicca. *Veterinary Research Communications,* 49**,** 40.

Wei, J., Xiao, K., Cai, Q., Lin, S., Lin, X., Wang, Y., Lin, J., Lai, K., Ye, Y., Liu, Y. & Li, L. 2025. Meibomian gland alterations in allergic conjunctivitis: insights from a novel quantitative analysis algorithm. *Frontiers in Cell and Developmental Biology,* 12.

Whitley, R., Visser, H., Tofflemire, K., Whitley, E., Allbaugh, R. & Ben-Shlomo, G. 2013. Decreased Tear Production in Dogs Following Phacoemulsification. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 54**,** 4346-4346.

Willcox, M. D. P., Argüeso, P., Georgiev, G. A., Holopainen, J. M., Laurie, G. W., Millar, T. J., Papas, E. B., Rolland, J. P., Schmidt, T. A., Stahl, U., Suarez, T., Subbaraman, L. N., Uçakhan, O. Ö. & Jones, L. 2017. TFOS DEWS II Tear Film Report. *The Ocular Surface,* 15**,** 366-403.

Wolff, E. 1946. The mucocutaneous junction of the lidmargin and the distribution of the tear fluid. *Transactions of the Ophthalmological Societies of the United Kingdom,* 66**,** 291-308.

Wolffsohn, J. S., Arita, R., Chalmers, R., Djalilian, A., Dogru, M., Dumbleton, K., Gupta, P. K., Karpecki, P., Lazreg, S., Pult, H., Sullivan, B. D., Tomlinson, A., Tong, L., Villani, E., Yoon, K. C., Jones, L. & Craig, J. P. 2017. TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report. *The Ocular Surface,* 15**,** 539-574.

Yeh, S., Song, X. J., Farley, W., Li, D. Q., Stern, M. E. & Pflugfelder, S. C. 2003. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science,* 44**,** 124-9.

Yokoi, N., Georgiev, G. A., Kato, H., Komuro, A., Sonomura, Y., Sotozono, C., Tsubota, K. & Kinoshita, S. 2017. Classification of Fluorescein Breakup Patterns: A Novel Method of Differential Diagnosis for Dry Eye. *American Journal of Ophthalmology,* 180**,** 72-85.

Yoon, A., Liu, C. C., Carter, R. T. & Lewin, A. C. 2020. Environmental relative humidity affects Schirmer tear test results in normal dogs. *Veterinary Ophthalmology,* 23**,** 923-926.

Yoon, H. J., Park, S. & Kim, J. Y. 2024. Tear clearance rate in dogs: Measurement using anterior segment optical coherence tomography. *Veterinary Medicine and Science,* 10**,** e1334.

Yu, F. X., Lee, P. S. Y., Yang, L., Gao, N., Zhang, Y., Ljubimov, A. V., Yang, E., Zhou, Q. & Xie, L. 2022. The impact of sensory neuropathy and inflammation on epithelial wound healing in diabetic corneas. *Progress in Retinal and Eye Research,* 89**,** 101039.

Zwiauer-Wolfbeisser, V., Tichy, A. & Nell, B. 2025. Evaluation of ocular surface parameters before and after cryo- and laser therapy for distichiasis in dogs: A pilot study. *Veterinary Ophthalmology,* 28**,** 630-639.

VIII DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. vet. Andrea Meyer-Lindenberg für die wissenschaftliche Betreuung dieser Arbeit. Ich danke ihr herzlich für das entgegengebrachte Vertrauen, ihre wertvolle Hilfe in allen Phasen der Promotion sowie für das sorgfältige Korrekturlesen des Manuskripts.

Ein ebenso wesentlicher Dank gebührt Frau Dr. med. vet. Ingrid Allgoewer. Sie hat nicht nur das Thema dieser Arbeit angeregt und vorgeschlagen, sondern mir auch die Möglichkeit geboten, die notwendigen Untersuchungen im Rahmen meiner täglichen Tätigkeit in ihrer Praxis durchzuführen. Für die Bereitstellung der Infrastruktur, die fachliche Expertise vor Ort und die stete Unterstützung bin ich ihr sehr dankbar.

Des Weiteren möchte ich dem Dortmunder Kreis (DOK) danken, dessen finanzielle Förderung meiner zweiten Studie diese Arbeit unterstützt und so einen wichtigen Beitrag zur Realisierung des Projekts geleistet hat.

Ein herzliches Dankeschön gilt zudem den vielen Patientenbesitzern, die sich freundlicherweise bereit erklärt haben, ihre Tiere für die Untersuchungen zur Verfügung zu stellen. Ohne ihre Kooperation und ihr Vertrauen wäre die Durchführung dieser klinischen Studien nicht möglich gewesen.

Ein besonderer Dank gebührt meiner Mutter und meiner Patentante. Dass sie sich die Zeit genommen haben, mein Deutsch so akribisch zu prüfen und insbesondere die Zeichensetzung bis ins Detail zu korrigieren, war eine enorme Entlastung und hat wesentlich zur sprachlichen Qualität dieser Arbeit beigetragen.

Abschließend danke ich allen, die mich während der Promotionszeit motiviert und auf diesem Weg begleitet haben.