

Aus dem Zentrum für veterinärmedizinisch
klinische Services des Tierklinikums
Arbeitsgruppe Ophthalmologie
Fachbereich Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

**Das aerobe Bakterienspektrum der erkrankten Pferdeaugenoberfläche
und seine Resistenzlage**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
eines Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ann-Kathrin Schieder
Tierärztin aus Kassel

Berlin 2023

Journal-Nr.: 4411

Gedruckt mit Genehmigung

des Fachbereichs Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
Erste Gutachterin:	Univ.-Prof. Dr. J. Corinna Eule
Zweite Gutachterin:	Univ.-Prof. Dr. Kerstin E. Müller
Dritte Gutachterin:	Univ.-Prof. Dr. Heidrun Gehlen

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

Horses, eyes, eye diseases, cornea, conjunctiva, bacteria, antibiotics, antibiotic resistance, microbiology

Tag der Promotion: 13.11.2023

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Abbildungsverzeichnis.....	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1. Einleitung.....	1
2. Literaturübersicht.....	3
2.1 Anatomie und Physiologie der Augenoberfläche des Pferdes.....	3
2.1.1 Konjunktiva.....	3
2.1.2 Kornea.....	4
2.1.3 Aufgaben der Augenoberfläche	4
2.2 Mikroorganismen auf der gesunden Augenoberfläche des Pferdes.....	5
2.2.1 Bakterien.....	5
2.2.2 Pilze	5
2.2.3 Einflussfaktoren auf das Keimwachstum	6
2.3 Entzündliche Augenerkrankungen der Augenoberfläche	7
2.3.1 Konjunktivitis	7
2.3.2 Keratitis	8
2.3.3 Mikroorganismen erkrankter Pferdeaugen.....	9
2.4 Die Bedeutung ausgewählter gramnegativer Gattungen in der Literatur.....	11
2.4.1 <i>Pantoea</i>	11
2.4.2 <i>Pseudomonas</i>	11
2.4.3 <i>Acinetobacter</i>	11
2.4.4 <i>Escherichia</i>	12
2.4.5 <i>Moraxella</i>	12
2.5 Antibiotikatherapie	13
2.6 Antibiotikaresistenz.....	15
2.6.1 Definition und Entstehung.....	15
2.6.2 Methoden der Resistenztestung	15
2.6.3 Ergebnisse vorausgegangener Studien	16
3. Eigene Untersuchungen.....	19
3.1 Zusammenstellung der eigenen Publikationen.....	19
3.1.1 Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2021): Studie zur aktuellen Resistenzlage der okulären Mikroflora des Pferdes – Geeignete Antibiotika zur Erstversorgung bei Konjunktivitis und Keratitis des Pferdes.....	19

Inhaltsverzeichnis

3.1.2 Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2023): Die Rolle gramnegativer Keime bei infektiösen Augenerkrankungen des Pferdes	29
3.2 Eigenanteilbeschreibung	40
4. Diskussion	41
4.1 Studiendesign	41
4.2 Keimspektrum	42
4.3 Einordnung ausgewählter gramnegativer Gattungen	45
4.4 Einflussfaktoren auf das Keimwachstum	47
4.4.1 Jahreszeit	47
4.4.2 Pferdealter	47
4.4.3 Antibiotische Vorbehandlung	48
4.5 Antibiotikatherapie	49
4.5.1 Methodik der Resistenztestung	49
4.5.2 Anwendung ausgewählter antibiotischer Wirkstoffe	50
4.5.3 Antibiogrammpflicht	52
4.6 Fazit und Ausblick	53
5. Zusammenfassung	55
6. Summary	57
7. Literaturverzeichnis	59
8. Publikationsverzeichnis	65
9. Danksagung	66
10. Finanzierungsquellen	67
11. Erklärung zu Interessenskonflikten	68
12. Selbständigkeitserklärung	69

Abbildungsverzeichnis

Abb.1 Schematische Darstellung der Augenoberfläche	S. 3
Abb.2 Umwidmungskaskade ab 28.01.2022	S. 50

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
EAV	equines Arteritisvirus
et al.	und andere
etc.	et cetera
ggf.	gegebenenfalls
IBK	Infektiöse Bovine Keratokonjunktivitis
i.d.R.	in der Regel
IMMK	immunmedierte Keratitis
MALDI-TOF	Matrix assisted laser desorption/ionization – Time of flight
MHK	minimale Hemmkonzentration
o.g.	oben genannt/en
PCR	polymerase chain reaction (Polymerase-Kettenreaktion)
sp.	species (Singular)
spp.	species (Plural)
u.a.	unter anderem
u.U.	unter Umständen
UV-Strahlung	Ultraviolettstrahlung
VETIDATA	Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung, Toxikologie und Arzneimittelrecht
VO	Verordnung
z.B.	zum Beispiel

1. Einleitung

Das Mikrobiom der Augenoberfläche des Pferdes setzt sich aus Bakterien und Pilzen zusammen (Andrew et al. 2003). Vorausgehende Studien beschäftigten sich sowohl mit der bakteriellen Besiedlung gesunder als auch erkrankter Pferdeaugen. Allerdings stammten diese aus Ländern, deren Klima nicht mit den klimatischen Bedingungen in Deutschland vergleichbar ist. Weiterhin wurden dabei verschiedene Einflussfaktoren auf das Keimwachstum diskutiert, wie beispielsweise antibiotische Vorbehandlung, Alter des Tieres und Jahreszeit – teilweise mit widersprüchlichen Ergebnissen.

Pferde sind häufig von entzündlichen Augenerkrankungen wie Konjunktivitis und Keratitis betroffen. Primär bakteriell bedingte Infektionen sind zwar selten, jedoch treten nach Vorschädigung durch Noxen bakterielle Sekundärinfektionen auf. Hierbei kommt es zur Infiltration von Mikroorganismen der Standortflora oder von eingebrachten Erregern. (Eule und Schmidt 2017a; Eule und Schmidt 2017b; Gemensky-Metzler et al. 2005)

Für den praktischen Tierarzt ist daher vor allem von Interesse, welche Mikroorganismen an Infektionen beteiligt sind.

So war es ein Ziel der vorliegenden Studie, das Keimspektrum entzündlich erkrankter Pferdeaugen in Deutschland, als Vertreter der kühlgemäßigten Klimazone, zu bestimmen und die vorgenannten Einflussfaktoren noch einmal unter anderen Bedingungen zu betrachten.

Sind Bakterien am Krankheitsprozess beteiligt, wird eine lokale Antibiotikatherapie notwendig. Um den Patienten einerseits eine optimale Therapie und damit den größtmöglichen Behandlungserfolg zu ermöglichen und andererseits auch zur Resistenzvermeidung im Sinne der Antibiotikaleitlinien, sollte die Auswahl des antibiotischen Augenpräparats sorgfältig erfolgen. Hierfür sind neben den ophthalmologischen Fertigkeiten und der Erfahrung des Behandlers, um das Krankheitsgeschehen einordnen zu können, auch Kenntnisse über das Keimspektrum und seiner Resistenzlage erforderlich. Um Komplikationen zu vermeiden, kann das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung jedoch oftmals nicht abgewartet werden, bevor mit der Antibiotikatherapie begonnen wird.

Die Abbildung des Resistenzspektrums der detektierten Keime gegenüber in der Praxis gebräuchlichen antibiotischen Wirkstoffen war daher in dieser Studie von weiterem Interesse.

2. Literaturübersicht

2.1 Anatomie und Physiologie der Augenoberfläche des Pferdes

2.1.1 Konjunktiva

Das Pferdeauge hat eine besonders große Oberfläche, die von Konjunktiva (Bindehaut) und Kornea (Hornhaut) gebildet wird.

Die Konjunktiva setzt sich aus einem mehrschichtigen, unverhornten Plattenepithel und einer lockeren Bindegewebsschicht zusammen. Anatomisch lässt sich die Konjunktiva in drei Regionen unterteilen: Die Lidbindehaut, die Augenbindehaut und den Fornix.

Der Konjunktivalsack (Saccus conjunctivae) ist der Hohlraum, der von der Konjunktiva umschlossen wird. Die Lidbindehaut bedeckt oberes und unteres Augenlid.

Die Augenbindehaut bedeckt den vorderen Teil des Augapfels bis zum Limbus corneae.

Der Limbus corneae bezeichnet den Grenzbereich zwischen Kornea und Sklera. Der Fornix ist der Übergang, an dem sich Lidbindehaut und Augenbindehaut treffen. Die Fornices sind mit einem mehrschichtigen hochprismatischen Epithel ausgekleidet. Durch eine Duplikatur der Konjunktiva bildet sich im inneren Augenwinkel eine Falte, die Nickhaut (Plica semilunaris conjunctivae), die auch als „drittes Augenlid“ bezeichnet wird. In die Nickhaut eingelagert ist der Blinzknorpel (Cartilago palpebrae III), der als Schutz vor mechanischen Noxen dient. Nachdem sich die Bindehaut an den Fornices umgeschlagen hat, bedeckt sie einen kleinen Abschnitt der Sklera, bevor das Bindehautepithel in das Epithel der Kornea übergeht. (Smith und Giuliano 2017)

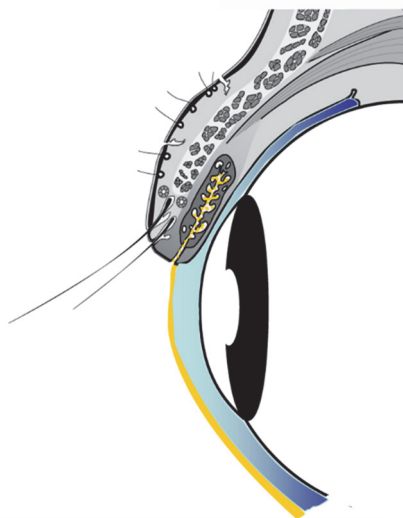


Abb. 1 Schematische Darstellung der Augenoberfläche © J. C. Eule

2.1.2 Kornea

Die äußere Augenhaut (Tunica fibrosa), die den Augapfel umgibt, wird im hinteren großen Abschnitt durch die undurchsichtig weiße Sklera und im vorderen Abschnitt durch die transparente Kornea gebildet. Die Hornhaut weist - von außen nach innen - folgende Schichtung auf:

- vorderes Hornhautepithel (Epithelium anterius)
- Bowman-Membran (vordere Grenzmembran, Lamina limitans anterior)
- Stroma (Substantia propria corneae)
- Descemet-Membran (hintere Grenzmembran, Lamina limitans posterior)
- hinteres Hornhautepithel (Epithelium posterius)

Die äußere Epithelschicht besteht aus einem mehrschichtigen unverhorntem Plattenepithel. Oberflächlich ist das Epithel von einem Tränenfilm überzogen. Die basale Zellschicht des Epithels liegt auf der Bowman-Membran, die als Diffusionsbarriere einen Wassereinstrom in das Stroma verhindert. Die Eigenschicht der Hornhaut besteht aus Kollagenfaserbündeln und wässriger Grundsubstanz. Daneben finden sich auch unlösliches Kollagen, Proteoglykane, Glykosaminoglykane und Ionen. Das Stroma enthält Nervenfasern, aber keine Blut- oder Lymphgefäße. Die Descemet-Membran ist eine breite Basalmembran und liegt dem Stroma an. Das hintere Hornhautepithel ist die innerste Schicht der Kornea und kleidet als einschichtiges Plattenepithel gleichzeitig die vordere Augenkammer aus. Als semipermeable Grenzschicht regelt sie die Diffusion von Wasser, um die Transparenz der Hornhaut aufrechtzuerhalten. (Liebich 2010)

2.1.3 Aufgaben der Augenoberfläche

Die Konjunktiva verbindet den Augapfel (Bulbus oculi) mit den Augenlidern und ermöglicht die reibungsfreie Bewegung des Auges, sowie der Lider. Sie ist von vielen kleinen Blutgefäßen durchsetzt, die das Auge mit Nährstoffen versorgen. Weiterhin enthält sie Becherzellen, deren schleimige Sekrete Bestandteil des präokularen Tränenfilms sind. Ein dichtes Nervengeflecht ermöglicht eine schnelle Schmerzwahrnehmung.

Als Teil der äußersten Schicht schützt die Kornea das Auge vor äußeren Einwirkungen, wie beispielsweise Fremdkörpern, Staub und Rauch, aber auch vor Krankheitserregern wie Bakterien, Pilzen oder Viren. Das Licht fällt durch die Kornea ins Auge. Durch ihre gewölbte Form übernimmt sie zusammen mit der Linse einen Großteil der Lichtbrechung und ist für die scharfe Abbildung von Gegenständen auf der Netzhaut enorm wichtig. (Brooks und Plummer 2022; Smith und Giuliano 2017)

2.2 Mikroorganismen auf der gesunden Augenoberfläche des Pferdes

2.2.1 Bakterien

Die Augenoberfläche von Pferden ist nicht steril. Auf der Schleimhautoberfläche lebt eine Mikroflora, die sich aus Bakterien und Pilzen zusammensetzt (Andrew et al. 2003). Das aerobe Keimspektrum der Augenoberfläche von augengesunden Pferden und Pferden mit Augenerkrankungen ist in verschiedenen Ländern untersucht worden: Die Bakterienflora einer gesunden Augenoberfläche wird überwiegend von grampositiven Keimen gebildet, wobei auch gramnegative Keime in geringerer Anzahl vorkommen können (Hampson et al. 2018; Zak et al. 2018; Araghi-Sooreh et al. 2014; Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; McLaughlin et al. 1983; Cattabiani et al. 1976). Dabei kam die Gattung *Staphylococcus* in jeder der o.g. Studien häufig vor. Weitere Gattungen, die häufig isoliert werden konnten: *Corynebacterium* (Hampson et al. 2018; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Bacillus* (Hampson et al. 2018; Araghi-Sooreh et al. 2014; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Micrococcus* (Johns et al. 2011; Cattabiani et al. 1976), *Streptomyces* (Gemensky-Metzler et al. 2005; Moore et al. 1988) und *Streptococcus* (Gemensky-Metzler et al. 2005; Cattabiani et al. 1976). Konnten gramnegative Mikroorganismen aus gesunden Pferdeaugen isoliert werden, gehörten diese bevorzugt zu den Gattungen *Moraxella* (Zak et al. 2018; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Acinetobacter* (Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976) und *Neisseria* (Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976).

2.2.2 Pilze

Pilze sind physiologische Mikroorganismen auf der Augenoberfläche des Pferdes (Moore et al. 1988; Samuelson et al. 1984). Anders als Bakterien scheinen Pilze die Augenoberfläche nicht dauerhaft, sondern nur vorübergehend zu besiedeln (Andrew et al. 2003). In einer Studie aus Brasilien, konnten keine jahreszeitlich bedingten Unterschiede festgestellt werden. Jedoch konnten bei niedrigeren Temperaturen und verstärktem Windaufkommen mehr Pilzisolat angezüchtet werden. Vermutet wurde ein Zusammenhang mit Pollenflug (Rosa et al. 2003). Da Pilze ubiquitär vorkommen, scheinen der Kontakt zu pflanzlichem Material (Heu, Stroh u.a. Einstreumaterialien) und die Exposition zu Dreck / Staub eine Rolle zu spielen (Andrew et al. 1998). So war bei Pferden in reiner Stallhaltung die Besiedlungsdichte der Augenoberfläche mit Pilzen erhöht (Rosa et al. 2003). Am häufigsten konnten *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* und *Cladosporium* von der gesunden Augenoberfläche des Pferdes isoliert werden (Rosa et al. 2003; Andrew et al. 1998; Samuelson et al. 1984; McLaughlin et al. 1983).

2. Literaturübersicht

2.2.3 Einflussfaktoren auf das Keimwachstum

Die Standortflora der Augenoberfläche verursacht ohne vorausgegangene Schädigung keine Erkrankung. Vielmehr verhindert die physiologische Bakterienflora durch das Prinzip der Konkurrenz um Nährstoffe und die Absonderung von Stoffwechselprodukten, die antimykotische Eigenschaften haben können, dass sich pathogene Mikroorganismen, insbesondere Pilze, ansiedeln können (Matthews 1994).

Vorausgegangene Studien haben gezeigt, dass das okulare Keimspektrum gesunder Pferdeaugen nicht bei allen Pferden gleich ist. Es variiert nicht nur zwischen unterschiedlichen äußeren Bedingungen wie geographischer Lage und Klima, sondern wird zudem durch individuelle Faktoren wie beispielsweise Alter und Geschlecht beeinflusst (Johns et al. 2011; Tolar und Hendrix 2005; Andrew et al. 2003). Unterschiedliche Ergebnisse gibt es jedoch zu der Frage, wie signifikant der Einfluss der genannten Faktoren ist. Teilweise sind die Unterschiede nur gering, teilweise sind die Studienergebnisse konträr. So zeigte sich bei einer Studie in Großbritannien, dass die Pferde, die gramnegative Bakterienisolate aufwiesen, signifikant älter waren als die Tiere mit einer ausschließlich grampositiven Bakterienflora (Johns et al. 2011). Im Gegensatz dazu stehen die Ergebnisse einer Studie aus Florida, bei der sich die okularen Bakterienisolate nicht signifikant zwischen den Jahreszeiten unterschieden, dafür aber ein vermehrtes Vorkommen von gramnegativen Keimen und Pilzen bei jüngeren Tieren beobachtet worden ist (Andrew et al. 2003).

2.3 Entzündliche Augenerkrankungen der Augenoberfläche

2.3.1 Konjunktivitis

Die häufigste Erkrankung der Konjunktiva ist die Entzündung (Konjunktivitis). Konjunktividen können beim Pferd sowohl einseitig als auch häufig beidseitig auftreten.

Da das Bindehautepithel in das Epithel der Hornhaut übergeht, greift der Erkrankungsprozess häufig auf die Hornhaut über, und es entwickelt sich eine Keratokonjunktivitis. (Eule und Schmidt 2017a)

Unterscheiden lassen sich primäre und sekundäre Konjunktividen. Erkrankungen des Auges wie Hornhauterkrankungen, Keratokonjunktivitis sicca („trockenes Auge“), Dakryozystitis (Entzündung des Tränensacks), Uveitis (Entzündung der mittleren Augenhaut) oder Glaukom (Erkrankungen, bei denen der Sehnerv geschädigt wird) sind als Ätiologien sekundärer Konjunktividen beschrieben (Smith und Giuliano 2017).

Die Ursachen für primäre Konjunktividen sind vielfältig. Sehr häufig sind allergische Reaktionen und irritative Prozesse, etwa infolge von Pollenflug, Staubexposition oder Fremdkörpereinwirkungen (Einstreu, Raufutter, Insekten u.a.). Neben Traumen und UV-Strahlung spielen Krankheitserreger eine Rolle. Die equinen Herpesviren 1, 2 und 5, das equine Influenzavirus Typ A2, das equine Adenovirus, sowie das equine Arteritis-Virus (EAV) zählen zu den viralen Erregern. Pilzinfektionen, beispielsweise durch *Aspergillus* spp., treten insbesondere bei feucht-warmem Klima auf. Auch Parasiten wie *Thelazia lacrymalis* oder *Onchocerca* spp. können ursächlich sein. Primär bakteriell bedingte Konjunktividen, etwa durch *Moraxella equi*, *Streptococcus equi*, *Listeria monocytogenes*, *Leptospira* sp., Chlamydien, Mycoplasmen u.a., sind beim Pferd eher selten, jedoch können bakterielle Sekundärinfektionen auftreten. (Eule und Schmidt 2017a; Smith und Giuliano 2017; Brooks 2010)

Auch im Rahmen systemischer Erkrankungen können Konjunktividen auftreten.

Da die Bindehaut lymphatisches Gewebe enthält, kann sie sich leicht entzünden. Die Schwere des klinischen Bildes kann erheblich variieren. Zu den Symptomen zählen die „Abwehrtrias“: Lidkrampf (Blepharospasmus), Tränenfluss (Epiphora) und Lichtscheue (Photophobie), sowie Rötung (Hyperämie), Ödematisierung der Bindehaut (Chemosis) und Exsudation (serös, mukös, fibrinös, membranös oder purulent). (Smith und Giuliano 2017; Brooks 2010)

Zur Diagnosefindung sollte eine gründliche Augenuntersuchung erfolgen. Hierzu gehören der Schirmer Tränentest, der Fluoreszeintest und die Messung des Augeninnendrucks, sowie auch die Untersuchung mit der Spaltlampe und die Funduskopie (Untersuchung des Augenhintergrundes). Bei chronischen Geschehen, bei mukopurulentem Augenausfluss, sowie bei jedem Verdacht auf bakterielle Sekundärinfektionen sollten außerdem

2. Literaturübersicht

mykologische, bzw. bakteriologische Kulturen inklusive Empfindlichkeitstestung angelegt und zytologische Ausstriche beurteilt werden. (Smith und Giuliano 2017)

Nach Spülungen zur Entfernung der Exsudate richtet sich die Therapie nach der zugrundeliegenden Ursache. Vorsicht geboten ist bei der lokalen Anwendung von Steroiden, da diese Pilzinfektionen begünstigen können (Smith und Giuliano 2017).

Bei Primärinfektionen ist die Prognose gut, da die Infektionen meist innerhalb einer Woche auf die topische Therapie ansprechen. Viral bedingte Infektionen können allerdings rezidivierend sein. Die Prognose sekundärer Konjunktividen ist abhängig von der zugrunde liegenden Erkrankung. (Smith und Giuliano 2017; Brooks 2010)

2.3.2 Keratitis

Die Keratitis ist eine Entzündung der Hornhaut des Auges. Auch bei Keratitiden ist eine bakterielle Beteiligung meist sekundär. Häufig kommt es beim Pferd zu traumatischen Hornhautverletzungen (Brooks und Plummer 2022). Neben Mikroorganismen wie Bakterien, Pilzen, Viren und ganz selten Parasiten, können auch Funktionsstörungen ursächlich sein, wie beispielsweise ein Mangel an Tränenflüssigkeit bei Keratokonjunktivitis sicca oder Fazialisparese oder eine ungenügende Verteilung des Tränenfilms durch Lidfehlstellungen. Bei der immunmedierten Keratitis (IMMK) kommt es durch eine Fehlregulation des Immunsystems zu einer Entzündung der Hornhaut. (Eule und Schmidt 2017b)

Keratitiden lassen sich nach dem Ausdehnungsgrad der Entzündung einteilen. Bei der Keratitis superficialis ist nur das äußere Hornhautepithel, bei der interstitiellen Form auch die mittlere Schicht der Hornhaut, das Stroma betroffen. Die ulzerative Keratitis ist charakterisiert durch umschriebenen Substanzverlust des Korneagewebes, wobei Tiefe und Ausdehnung unterschiedlich sein können (Eule und Schmidt 2017b).

Die ulzerative Keratitis kommt beim Pferd häufig vor. Häufigste Ursachen beim Pferd sind Traumen oder Fremdkörpereinwirkungen. Die prominente Lage der Augen seitlich am Kopf, sowie die große Augenoberfläche begünstigen dies. Die Lebensweise des Fluchttiers Pferd birgt ein großes Verletzungsrisiko. Werden okuläre Strukturen durch Noxen vorgeschädigt, kann es zu einer Infiltration von Mikroorganismen der Standortflora oder von eingebrachten Bakterien oder Pilzen kommen. Eine zunächst unkomplizierte Verletzung kann durch diese Sekundärinfektion erheblich verkompliziert werden (Gemensky-Metzler et al. 2005; McClellan 1997). Proteasen und Kollagenasen der Bakterien lassen das Kollagen des Stromas „einschmelzen“. Kommt es zur Rupturierung der Descemet-Membran, sind die möglichen Folgen wie Irisprolaps oder Kammerwasserabfluss verheerend. (Eule und Schmidt 2017b)

Die Symptome gleichen denen der Konjunktivits. Es bestehen zumeist starke Schmerzen, die zu einem ausgeprägten Blepharospasmus führen.

2. Literaturübersicht

Die Diagnose erfolgt anhand einer gründlichen Augenuntersuchung unter Berücksichtigung des vorderen Augensegments hinsichtlich einer Uveitis, einer Entzündung der mittleren Augenhaut, die sich aus der Regenbogenhaut (Iris), dem Ziliarkörper (Corpus ciliare) und der Aderhaut (Choroidea) zusammensetzt. Um Hornhautdefekte sichtbar zu machen, wird die Hornhaut mit Fluoreszein angefärbt. Von Konjunktiva und Kornea sind Abstriche und Geschabsel für die zytologische und mikrobiologische Untersuchung zu entnehmen - auch dann, wenn eine Infektion nicht ersichtlich ist. (Brooks und Plummer 2022; Eule und Schmidt 2017b)

Die Therapie setzt sich zusammen aus der Bekämpfung der Ursache, der licht- und lärmgeschützten Aufstallung des Pferdes in einer möglichst staubarmen Umgebung, der Antibiotikatherapie und der Uveitisprophylaxe/-therapie durch Atropin-Augentropfen. Neben der medikamentösen Therapie kann eine chirurgische Versorgung notwendig werden. Sind intraokulare Strukturen beteiligt, wird der Einsatz systemisch wirksamer nichtsteroidaler Antiphlogistika empfohlen. Pilzinfektionen sind i.d.R. lokal mit Antimykotika über mehrere Wochen zu behandeln, in schwierigen Fällen ist auch eine systemische Verabreichung möglich, hierbei sind jedoch die Nebenwirkungen zu beachten. (Eule und Schmidt 2017b)

Die Prognose ist abhängig von der Ausdehnung des Substanzverlusts der Hornhaut und dem Therapiezeitpunkt. Je früher die Therapie erfolgt, desto günstiger die Prognose. Mykosen sprechen insgesamt schlechter auf die Therapie an. Im Heilungsverlauf kommt es unabhängig von den beteiligten Mikroorganismen zur Narbenbildung. (Eule und Schmidt 2017b)

2.3.3 Mikroorganismen erkrankter Pferdeaugen

Waren die Augen an Keratitis erkrankt, war *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* unter den grampositiven Keimen die am häufigsten isolierte Spezies (Mustikka et al. 2020; Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Brooks et al. 2000; Moore et al. 1995; McLaughlin et al. 1983). Auch Vertreter der Gattung *Staphylococcus* (Mustikka et al. 2020; Kuroda et al. 2015; Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995; McLaughlin et al. 1983) wurden häufig isoliert. Von den gramnegativen Keimen konnten die Gattungen *Pseudomonas* (Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995; McLaughlin et al. 1983; Moore et al. 1983) und *Acinetobacter* (Moore et al. 1995; Moore et al. 1983), sowie die Familie der Enterobacteriaceae (Moore et al. 1995; Moore et al. 1983) am häufigsten nachgewiesen werden. Vor allem Pseudomonaden und Enterobakterien werden mit infizierten Hornhautläsionen in Verbindung gebracht (Gemensky-Metzler et al. 2005; Sweeney und Irby 1996; McLaughlin et al. 1983; Moore et al. 1983). Als prädisponierend für Pilzinfektionen gelten lokale Behandlungen mit Antibiotika oder Kortikosteroiden (Sansom et al. 2005; Andrew et al.

2. Literaturübersicht

1998). *Aspergillus* spp. sind die häufigsten Erreger equiner ulzerativer Keratomykose (Sansom et al. 2005; Andrew et al. 1998; Moore et al. 1983).

2.4 Die Bedeutung ausgewählter gramnegativer Gattungen in der Literatur

2.4.1 *Pantoea*

Pantoea spp. sind in der Natur weit verbreitet. Sie befinden sich auf der Pflanzenoberfläche und sind auch als Endophyten im Pflanzeninneren zu finden, sowie in Wasser, Boden, Staub und Körpern einiger Arthropoden und Wirbeltiere (Walterson und Stavrinides 2015). In der Literatur wird *Pantoea agglomerans* beim Pferd mit Plazentitis und Abort in Verbindung gebracht (Henker et al. 2020; Hong et al. 1993). In der Humanmedizin ist *P. agglomerans* als opportunistischer Krankheitserreger bekannt, beispielsweise nach Verletzungen durch Pflanzenmaterial oder in Verbindung mit einem Krankenhausaufenthalt (Dutkiewicz et al. 2016). Auch Fälle von Endophthalmitiden sind beschrieben (Venincasa et al. 2015; Sudhalkar et al. 2014).

2.4.2 *Pseudomonas*

Auch Pseudomonaden sind ubiquitär in der Natur verbreitet. Man findet sie in Boden, Wasser und organischem Material. In Veterinär- und Humanmedizin sind sie als opportunistische Infektionserreger beschrieben (Songer und Post 2005b). Beim Pferd können sie aus infektiösen Augenerkrankungen isoliert werden (Sweeney und Irby 1996; McLaughlin et al. 1983; Moore et al. 1983). Im Gegenzug können sie aber auch regelmäßig auf der Oberfläche des gesunden Pferdeauges nachgewiesen werden (Hampson et al. 2018; Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003). *Pseudomonas aeruginosa* besitzt viele wichtige Pathogenitätsfaktoren wie Fimbrien, Proteasen, Exo- und Endotoxine. Durch Aktivierung kornealer Proteasen kommt es zur Kollagenolyse des Stromas, was bis zum Totalverlust des Stromagewebes und der Perforation der Kornea führen kann (Brooks und Plummer 2022). Daher zählt *Psd. aeruginosa* zu den virulentesten Infektionserregern des Pferdeauges (Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003). Trotzdem gelang auch ein Nachweis aus einem gesunden Pferdeauge (Zak et al. 2018).

2.4.3 *Acinetobacter*

Acinetobacter spp. besitzen eine hohe Tenazität und kommen frei in der Natur in Boden und Wasser vor, sind aber auch bei Mensch und Tier Bestandteil der physiologischen Haut- und Schleimhautflora (Robert Koch-Institut 2020). Andere Autoren werten das Vorkommen von *Acinetobacter* auf der Pferdehaut als Umgebungskontamination (Zubrod et al. 2004). In der Humanmedizin sind *Acinetobacter* spp., insbesondere *Acinetobacter baumannii*, als Erreger nosokomialer Infektionen bekannt. Dabei zeigen sie eine ausgeprägte Fähigkeit zur Resistenzbildung (Robert Koch-Institut 2020). Beim Pferd sind nosokomiale Infektionen mit

2. Literaturübersicht

Acinetobacter baumannii im Zusammenhang mit Thrombophlebitis, Infektionen des tiefen Respirationstrakts und Fohlensepsis beschrieben (van der Kolk et al. 2019).

2.4.4 *Escherichia*

Escherichia coli gehört beim Menschen und allen warmblütigen Tieren zur physiologischen Darmflora. In die Umwelt gelangt *E. coli* nur durch Fäkalien (Heesemann 2001), daher gilt er auch als Indikatorkeim für fäkale Verunreinigungen. In den vorausgehenden Studien konnte *E. coli* sowohl aus gesunden (Hampson et al. 2018; Araghi-Sooreh et al. 2014; Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003) als auch erkrankten Pferdeaugen (Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995) isoliert werden.

2.4.5 *Moraxella*

Moraxellen sind auf der Haut, mukösen Membranen und der Konjunktiva von Säugetieren zu finden und werden meist als harmlose Kommensalen gewertet (Songer und Post 2005a). In der Literatur konnten sie aus gesunden Pferdeaugen (Hampson et al. 2018; Zak et al. 2018; Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Cattabiani et al. 1976) als auch aus erkrankten Augen (Seeger et al. 2021; Mustikka et al. 2020; Liu et al. 2014; Sauer et al. 2003; Huntington et al. 1987; Hughes und Pugh 1970) isoliert werden. *Moraxella bovis* ist der Erreger der Infektiösen Bovinen Keratokonjunktivitis (IBK). *Moraxella bovoculi* verfügt über ähnliche Pathogenitätsfaktoren und konnte in Verbindung mit IBK in Abwesenheit von *M. bovis* bei Rindern isoliert werden (Loy und Brodersen 2014). In einer anderen Veröffentlichung wurde davon ausgegangen, dass neben *M. bovis* auch andere Erreger, darunter *M. bovoculi*, IBK hervorrufen können (Zheng et al. 2019). Es gibt einige weitere Studien, die *M. bovoculi* mit Konjunktivitis (Huntington et al. 1987; Hughes und Pugh 1970) und Keratokonjunktivitis (Seeger et al. 2021; Liu et al. 2014) in Verbindung bringen.

2.5 Antibiotikatherapie

Die antibiotische Therapie von Konjunktividen und Keratitiden erfolgt i.d.R. durch topische Augenpräparate, die mehrmals am Tag verabreicht werden müssen. Wenn notwendig, z.B. bei sehr schmerzhaften Prozessen, ist auch die Applikation über einen transpalpebralen Katheter möglich (Brooks und Plummer 2022). Die Auswahl des Antibiotikums sollte auf dem Ergebnis der Zytologie, der bakteriologischen Untersuchung und der Empfindlichkeitstestung basieren. Da die bakteriologische Untersuchung mit 2-4 Tagen Dauer zeitaufwendig ist, besteht die Gefahr, dass sich die bakterielle Infektion unbehandelt zwischenzeitlich weiter ausbreitet, was den weiteren Krankheitsverlauf verschlimmern und das Risiko von empfindlichen Komplikationen, wie etwa den Verlust der Sehfähigkeit, erhöht (Gemensky-Metzler et al. 2005). Aus diesem Grund werden für die initiale Antibiotikatherapie Breitspektrum-Antibiotika, wie Oxytetracyclin oder auch bewährte Kombinationen antibiotischer Wirkstoffe empfohlen (Smith und Giuliano 2017; Brooks 2010; Matthews 2009). Bei Therapieversagen kann das Antibiotikum dem bakteriologischen Untersuchungsergebnis entsprechend gewechselt werden (Brooks 2010; Sauer et al. 2003). Eine weitere Möglichkeit ist die Auswahl des Antibiotikums zur Erstbehandlung nach dem Ergebnis eines Grampräparats (Matthews 2009). Außerdem sind bei der Auswahl eines antibiotischen Präparats die rechtlichen Rahmenbedingungen zu beachten, die sich u.a. aus dem Gesetz über den Verkehr mit Tierarzneimitteln und zur Durchführung unionsrechtlicher Vorschriften betreffend Tierarzneimittel (Tierarzneimittelgesetz) ergeben.

Die Therapiedauer kann sich bei bakteriellen Hornhautgeschwüren u.U. über mehrere Wochen erstrecken (Brooks und Plummer 2022), da es unter und nach lokaler Antibiotikatherapie zu einer Repopulation von Bakterien und Pilze kommen kann (Andrew et al. 2003).

Es wird vermutet, dass lokale Anwendungen antibiotischer Augenpräparate zu einem Shift der überwiegend grampositiven Mikroflora hin zu gramnegativen Bakterien und Pilzen führen. In einer Studie, in der eingeteilt in vier Gruppen, gesunden Pferden verschiedene antibiotische Präparate lokal am Auge appliziert worden sind, zeigte sich eine Woche nach der Anwendung eine vorübergehende Reduktion der grampositiven und -negativen Keime. Die Repopulation der gramnegativen Keime erfolgte später als die der grampositiven Bakterien (Gemensky-Metzler et al. 2005). Eine stabiles Mikrobiom der Augenoberfläche unter lokaler Antibiotikatherapie zeigte eine Studie, in der Next Generation Sequencing angewendet worden ist (Scott et al. 2019).

2. Literaturübersicht

Um das Risiko resistente Bakterienstämme zu selektieren zu minimieren, wird in der Humanmedizin empfohlen, bei akuten, milden bis moderaten Konjunktividen mit gutem Heilungsverlauf auf eine Antibiotikatherapie zu verzichten. Andererseits sei das Risiko bei topischer Anwendung durch hohe lokale Wirkstoffspiegel gering. (Aramă 2020) Unterdosierungen, Langzeittherapien und wiederholte Behandlungen könnten jedoch zum Auftreten resistenter Stämme beitragen (Aramă 2020; Miller 2017; Sandmeyer et al. 2017).

2.6 Antibiotikaresistenz

2.6.1 Definition und Entstehung

Antibiotikaresistenz bezeichnet die Widerstandsfähigkeit von Bakterien gegenüber Antibiotika. Es gibt natürliche (intrinsische) Resistenzen, die alle Stämme einer Art aufgrund ihrer genetischen Ausstattung aufweisen, ein Beispiel ist die Resistenz von β -hämolisierenden Streptokokken gegenüber Aminoglycosiden (Krause et al. 2016).

Ist die Resistenz hingegen nur auf einen Teil der Stämme einer natürlichen Population begrenzt, spricht man von erworbener Resistenz. Resistenz wird erworben, indem ein entsprechendes Gen aufgenommen wird, etwa über Plasmide, aber auch durch Mutation eines entsprechenden Gens auf dem eigenen Chromosom des Bakteriums. (Schwarzkopf 2016)

Die Entstehung von Resistenzen ist ein natürlicher Vorgang im Rahmen der Evolution. Erheblich beschleunigt wird die Selektion resistenter Bakterien allerdings durch eine unsachgemäße oder häufige Antibiotikaaanwendung. Die zunehmende Ausbreitung von Resistenzen stellt ein großes Problem bei der Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier dar. Daher ist ein verantwortungsvoller und effizienter Umgang mit antibakteriell wirksamen Wirkstoffen von großer Wichtigkeit. Bei der Auswahl eines geeigneten antibiotischen Wirkstoffes helfen In-vitro-Sensitivitätstests, die die Empfindlichkeit der Bakterien gegenüber ausgewählten Antibiotika prüfen. (Valentin-Weigand 2011)

2.6.2 Methoden der Resistenztestung

Gebräuchliche Techniken sind der Agardiffusionstest und das Dilutionsverfahren.

Beim Agardiffusionstest wird ein mit einem Antibiotikum definierter Menge beladenes Plättchen auf einen Nährboden aufgelegt, der vorher mit dem zu prüfenden Bakterium gleichmäßig beimpft worden ist. Der Wirkstoff diffundiert in den Nährboden, wodurch sich um das Plättchen herum ein Konzentrationsgradient bildet. Nach Bebrütung stellt sich bakterielles Wachstum als Trübung dar. Um das Plättchen herum zeigt sich ggf. ein klarer Hemmhof. Sein Durchmesser ist abhängig von der Sensitivität des Erregers gegenüber dem Wirkstoff und ermöglicht die Bewertung in sensibel, intermediär oder resistent. (Valentin-Weigand 2011)

Für den Mikrodilutionstest wird mit dem zu prüfenden Keim eine Suspension nach McFarland-Standard hergestellt. Mit dieser Keimsuspension wird eine bereits mit Antibiotika in aufsteigenden Konzentrationen beladene Mikrotiterplatte befüllt. Nach Inkubation erfolgt eine photometrische Auswertung des Wachstums. Ergebnis sind MHK-Werte (MHK = minimale Hemmkonzentration), die kleinste Verdünnungsstufe eines Antibiotikums, bei dem kein bakterielles Wachstum auftritt. Für die klinisch relevante Einteilung in sensibel, intermediär und resistent müssen die MHKs mit Breakpoints (Grenzwerten) verglichen werden, die vom

2. Literaturübersicht

Antibiotikum, dem isolierten Keim, der Tierart und teilweise auch vom Gewebe abhängig sind. Breakpoints liefert für die Veterinärmedizin die CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Beide Verfahren müssen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden, um eine Vergleichbarkeit zu gewährleisten. (Valentin-Weigand 2011)

2.6.3 Ergebnisse vorausgegangener Studien

Die Resistenztestung erfolgte in den vorausgehenden Studien mittels Agardiffusionstest (Hampson et al. 2018; Johns et al. 2011; Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003) oder es fand sich keine Angabe bezüglich der verwendeten Methodik (Mustikka et al. 2020; Brooks et al. 2000; Moore et al. 1995). Unterschiede gab es in der Auswahl der getesteten antibiotischen Wirkstoffe.

In einer australischen Studie wurden gesunde Pferdeaugen beprobt. Hier waren >90% der grampositiven Bakterien gegenüber Bacitracin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin, Fusidinsäure, Levofloxacin, Neomycin und Ofloxacin sensibel. Auch die anderen getesteten Wirkstoffe Cephalothin, Cloxacillin, Gentamicin, Tetracyclin und Tobramycin erreichten Wirksamkeiten über 83%. Bei den gramnegativen Keimen waren alle Isolate sensibel gegenüber Ciprofloxacin und Tobramycin. Hochwirksam zeigten sich Gentamicin, Levofloxacin, Neomycin, Ofloxacin und Tetracyclin. Unter 60% der Isolate waren sensibel gegenüber Cephalothin. Bei Fusidinsäure, Bacitracin und Cloxacillin überwogen die Resistenzen deutlich. (Hampson et al. 2018)

Die Resistenzlage von Bakterienisolaten aus gesunden Pferdeaugen wurde auch in Großbritannien untersucht. Hier überwogen die Gattungen *Acinetobacter* und *Staphylococcus* deutlich. Wirksamkeiten von über 90% erreichten Chloramphenicol, Gentamicin und Tetracyclin. 89% und 87% erreichten Ciprofloxacin, bzw. Neomycin. Gegenüber Fusidinsäure waren insgesamt 65% aller Isolate sensibel, davon 100% bei den Staphylokokken und 18% bei *Acinetobacter* spp. (Johns et al. 2011)

Eine Studie aus Florida testete die Empfindlichkeit verschiedener Antibiotika an elf Isolaten β -hämolisierender Streptokokken, die aus Pferdeaugen mit ulzerativer Keratitis isoliert werden konnten. Alle Isolate verhielten sich gegenüber Bacitracin, Carbenicillin, Cephalothin und Chloramphenicol sensibel, zehn Isolate gegenüber Trimethoprim/Sulfadiazin. Gegenüber Ampicillin zeigten sich nur sechs Isolate sensibel, gegenüber Enrofloxacin vierhielten sich die meisten Isolate intermediär. Zwischen den Aminoglykosiden gab es Unterschiede in der In-vitro-Resistenz. Während alle Isolate resistent gegenüber Kanamycin und Neomycin waren, verhielten sich fünf Isolate gegenüber Gentamicin sensibel. Eine geringe Wirksamkeit zeigten

2. Literaturübersicht

Polymyxin B mit nur zwei sensiblen Isolaten und Tobramycin mit nur einem sensiblen Isolat. (Brooks et al. 2000)

In einer Studie von Keller et al. (2005) war *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* die am häufigsten nachgewiesene Spezies aus Pferdeaugen mit ulzerativer Keratitis. Alle Isolate waren sensitiv gegenüber Ampicillin, Cephalothin, Chloramphenicol, Ciprofloxacin und Trimethoprim/Sulfadiazin. 82% waren empfindlich gegenüber Gentamicin, 64% gegenüber Bacitracin, 21% bei Polymyxin B und 6% bei Neomycin. Die am zweithäufigsten nachgewiesene Spezies war *Pseudomonas aeruginosa* mit einer bestmöglichen Wirksamkeit von Ciprofloxacin, Gentamicin, Neomycin, Polymyxin B und Tobramycin. Alle Isolate waren resistent gegenüber Ampicillin, Bacitracin, Cephalothin, Chloramphenicol, Tetracyclin und Trimethoprim/Sulfadiazin. (Keller und Hendrix 2005)

Nach erfolgter lokaler Antibiotikatherapie konnten signifikant häufiger gramnegative Bakterien nachgewiesen werden als vor der Behandlung infektiöser Keratitiden. Bei den grampositiven Isolaten verhielten sich über 90% der Isolate gegenüber Ticarcillin und Erythromycin sensibel. Gentamicin, Tobramycin, Polymyxin B und Neomycin zeigten sich hocheffektiv gegenüber den gramnegativen Isolaten. Chloramphenicol war sowohl gegenüber grampositiven als auch gegenüber gramnegativen Isolaten unwirksam. Die gramnegativen Isolate, die nach erfolgter Antibiotikatherapie nachgewiesen werden konnten, waren empfindlicher gegenüber Ciprofloxacin, Neomycin, Tobramycin und Amikacin als gegenüber Gentamicin. (Moore et al. 1995)

Eine finnische Studie untersuchte ebenfalls die antimikrobielle Sensitivität von *Strep. equi subsp. zooepidemicus* aus Pferdeaugen mit Keratitis. Alle Isolate waren sensibel gegenüber Penicillin G, Trimethoprim/Sulfadiazin, Erythromycin, Chloramphenicol, Gentamicin und Moxifloxacin. <60% der Isolate zeigten sich empfindlich gegenüber Tetracyclin, gefolgt von Ciprofloxacin mit 40% und Clindamycin mit 33% sensibler Isolate. Keine Wirksamkeit zeigte Fusidinsäure. Hier waren alle getesteten Keime resistent. (Mustikka et al. 2020)

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Zusammenstellung der eigenen Publikationen

3.1.1 Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2021): Studie zur aktuellen Resistenzlage der okulären Mikroflora des Pferdes – Geeignete Antibiotika zur Erstversorgung bei Konjunktivitis und Keratitis des Pferdes. Pferdeheilkunde 37(3), 292–301; DOI 10.21836/PEM20210311

Diese Publikation wurde aus urheberrechtlichen Gründen entnommen.

3. Eigene Untersuchungen

3.1.2 Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2023): Die Rolle gramnegativer Keime bei infektiösen Augenerkrankungen des Pferdes. Pferdeheilkunde 39(1), 12-23;
DOI 10.21836/PEM20230102

Diese Publikation wurde aus urheberrechtlichen Gründen entnommen.

3. Eigene Untersuchungen

3.2 Eigenanteilbeschreibung

Name	Bezeichnung Autor	Erläuterung Anteil Leistung
A.-K. Schieder	Erstautorin	Sammlung und Auswertung der Daten Mitwirkung bei Konzipierung beteiligt an Laboruntersuchungen Literaturrecherche Schreiben der Publikationen
Prof. Dr. J. C. Eule	Co-Autorin	Leiterin und fachliche Beraterin Mitwirkung bei Konzipierung Mitwirkung an den Publikationen
Dr. E. Müller	Co-Autorin	Mitwirkung Erstellung Manuskripte der Publikationen
Dr. A. Heusinger	Co-Autor	beteiligt an Laboruntersuchungen

4. Diskussion

4.1 Studiendesign

Es gibt einige Veröffentlichungen, die sich mit der bakteriellen Mikroflora auf der Augenoberfläche des Pferdes beschäftigt haben. Nicht zu vergessen ist an dieser Stelle, dass sowohl auf der gesunden als auch auf der erkrankten Augenoberfläche des Pferdes, nicht nur Bakterien, sondern auch Pilze vorkommen. Die Keratomykose ist beim Pferd eine häufige Augenerkrankung. Da sich die vorliegende Arbeit aber ausschließlich mit dem bakteriellen Keimspektrum beschäftigt, wird im Folgenden nicht weiter auf Pilze eingegangen.

Unterscheiden lassen sich die Studien, die Bakterien augengesunder Pferde untersucht haben von den Arbeiten, die nur Pferde mit definierten Augenerkrankungen betrachten. Studien zu Bakterien auf der gesunden Augenoberfläche des Pferdes gibt es aus den USA (Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988), aus Polen (Zak et al. 2018), dem Vereinigten Königreich (Johns et al. 2011), Australien (Hampson et al. 2018), Italien (Cattabiani et al. 1976) und dem Iran (Araghi-Sooreh et al. 2014). In diesen Studien wurden Pferdepopulationen in Größen von 37 bis 100 Tieren, die zumeist unter ähnlichen Bedingungen untergebracht waren, einbezogen. Studien, die sich mit dem bakteriellen Keimspektrum von Augen mit Keratitis beschäftigten, liegen aus den USA (Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995; Moore et al. 1983) und Finnland (Mustikka et al. 2020) vor. Eine weitere Studie untersuchte die bakterielle Beteiligung bei extraokularen Erkrankungen (McLaughlin et al. 1983).

Bei der vorliegenden Arbeit wurden 844 Augentupfer von 785 verschiedenen Pferden ausgewertet, die im Rahmen der Routinediagnostik von in Deutschland praktizierenden Tierärzten an ein veterinärmedizinisches Diagnostiklabor geschickt worden sind. Untersuchungszeitraum war das Jahr 2018. Es sind der Autorin keine weiteren Studien aus Deutschland bekannt, die das bakterielle Keimspektrum der Augenoberfläche des Pferdes untersucht haben. Die klimatischen Bedingungen der anderen Länder, aus denen Studien vorliegen, unterscheiden sich deutlich vom deutschen kühlgemäßigten Klima. Vergleichbar wäre lediglich eine Studie aus Polen (Übergang zwischen der gemäßigten und der kontinentalen Klimazone), die sich allerdings mit den Mikrobiota gesunder Pferdeaugen beschäftigt hat (Zak et al. 2018). Auch gibt es bislang keine Studie mit einer ähnlich hohen Probenanzahl.

4.2 Keimspektrum

8% der Augentupfer waren bakteriologisch negativ, bei 36% wurde eine Mischkultur grampositiver und -negativer Keime nachgewiesen. In 31% der Fälle waren die detektierten Keime ausschließlich grampositiv, bei 25% ausschließlich gramnegativ. Da sich auch auf der Oberfläche gesunder Pferdeaugen Bakterien und Pilze befinden, würde man stets positive Bakterienkulturen erwarten. Mögliche Gründe für ein ausbleibendes bakterielles Wachstum:

- Abstrichentnahmen unter / nach Antibiotikatherapie
- Tupferprobenentnahme aus stark eitrigen Prozessen
- lange/r Lagerung / Transport bis zum Eintreffen im Labor, bzw. bei ungünstigen Temperaturen
- vorhandene Bakterien sind nicht kulturell unter Standardbedingungen kultivierbar
- Verdrängung der Bakterien durch Pilze

Insgesamt konnten 1510 Bakterien isoliert werden, davon waren 55% der Isolate grampositiv und 45% gramnegativ. 95% aller Keime konnten acht Familien zugeordnet werden. Diese waren (nach Häufigkeit absteigend sortiert): Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae, Bacillaceae, Streptococcaceae, Moraxellaceae, Pseudomonadaceae, Micrococcaceae und Enterococcaceae. Die meisten grampositiven Bakterien gehörten zu den Gattungen *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pseudarthrobacter*, *Aerococcus* und *Corynebacterium*. Bei den gramnegativen Keimen waren die Gattungen *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia*, *Moraxella*, *Serratia*, *Enterobacter* und *Actinobacillus* am häufigsten vertreten. Die Familie der Enterobacteriaceae zählte in der ersten Veröffentlichung 362 Isolate, in der zweiten nur 359. Dieser Unterschied ist in der Zuordnung der Gattungen begründet. In der ersten Veröffentlichung wurden die Gattungen *Morganella*, *Proteus* und *Providencia* den Enterobacteriaceae zugeordnet, in der zweiten Studie der Familie der Morganellaceae. Taxonomisch korrekt ist die zweite Zuordnung (Schoch und et.al. 2020a).

In den Studien, die sich mit den Mikrobiota gesunder Pferdeaugen beschäftigt haben, war die Mehrzahl der Isolate grampositiv. Die Gattung *Staphylococcus* kam dabei in jeder der oben aufgeführten Studien vor. Dies deckt sich mit der vorliegenden Studie, obwohl hier erkrankte Augen untersucht worden sind. In der vorliegenden Arbeit war *Staphylococcus* die Gattung mit den meisten Isolaten. Weiterhin kamen in den vorhergehenden Studien auch die Gattungen *Corynebacterium* (Hampson et al. 2018; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Bacillus* (Hampson et al. 2018; Araghi-Sooreh et al. 2014; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Micrococcus* (Johns et al. 2011; Cattabiani et al. 1976), *Streptomyces* (Gemensky-Metzler et al. 2005; Moore et al. 1988)

4. Diskussion

und *Streptococcus* (Gemensky-Metzler et al. 2005; Cattabiani et al. 1976) häufig vor. Die Gattungen *Bacillus* (n=260) und *Streptococcus* (n=167) sind auch in dieser Arbeit stark vertreten. Auch Corynebakterien (n=10) und Mikrokokken (n=4) kamen vor, allerdings mit deutlich weniger Isolaten. Die Gattung *Streptomyces* konnte nicht nachgewiesen werden.

Gramnegative Mikroorganismen konnten in den genannten Studien deutlich seltener angezüchtet werden als in der vorliegenden Arbeit. Sie gehörten vor allem zu den Gattungen *Moraxella* (Zak et al. 2018; Gemensky-Metzler et al. 2005; Andrew et al. 2003; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976), *Acinetobacter* (Johns et al. 2011; Gemensky-Metzler et al. 2005; Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976) und *Neisseria* (Moore et al. 1988; Cattabiani et al. 1976).

Lagen Keratitiden vor, gehörten die detektierten Bakterien am häufigsten zu den grampositiven Gattungen *Streptococcus* und *Staphylococcus* (Mustikka et al. 2020; Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995), sowie zu den gramnegativen Gattungen *Pseudomonas* (Keller und Hendrix 2005; Sauer et al. 2003; Moore et al. 1995; Moore et al. 1983) und *Acinetobacter* (Moore et al. 1995; Moore et al. 1983) sowie zur Familie der Enterobacteriaceae (Moore et al. 1995; Moore et al. 1983). Die Ergebnisse der vorliegenden Studie passen dazu. Die Gattungen mit den meisten Isolaten waren (in absteigender Reihenfolge): *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* und *Acinetobacter*.

Zusätzlich wurde das Keimwachstum zwischen Tupferproben von erkrankten Pferdeaugen mit und von Abstrichen ohne Hornhautbeteiligung verglichen. Hier gab es signifikante Unterschiede bezüglich des Anteils der negativen Kulturen und der Mischkulturen. War die Hornhaut vom Krankheitsprozess betroffen, kamen weniger Mischkulturen vor und das bakterielle Wachstum blieb häufiger aus. Den Rückgang der Mischkulturen könnte man damit erklären, dass sich bei Infektionen das Artenreichtum zugunsten möglicher Pathogene reduziert haben könnte. Die Vermutung, dass bei Keratitiden vermehrt gramnegative Keime nachgewiesen werden, ließ sich nicht bestätigen.

Im Vergleich mit anderen Veröffentlichungen fällt auf, dass in der vorliegenden Studie das Keimspektrum groß war. Dies ist zum einen mit der höheren Anzahl der untersuchten Proben zu erklären, zum anderen kann dies auch mit der verwendeten Methodik zur Identifizierung der Bakterien zusammenhängen. Während sich mit Ausnahme einer Studie aus Finnland (Mustikka et al. 2020) die vorausgehenden Veröffentlichungen zur Identifizierung mikrobiologischer Standardmethoden bedienten, teilweise ohne diese näher zu benennen, erfolgte hier die Identifizierung neben der Beurteilung von Kulturmorphologie und biochemischen Methoden, ergänzend mittels MALDI-TOF, wodurch eine präzise Bestimmung auf Speziesebene ermöglicht wurde.

4. Diskussion

Trotzdem muss einschränkend gesagt werden, dass auch mit dem MALDI-TOF nur die Keimspezies identifiziert werden können, die auch in der verwendeten Datenbank hinterlegt sind. So gab es auch einige Isolate in dieser Studie, die nur auf Gattungsebene zugeordnet werden konnten. Die Datenbank wird in regelmäßigen Abständen aktualisiert, wobei Umbenennungen berücksichtigt und neue Spezies eingepflegt werden. Daher ist es möglich, dass vielleicht einige von diesen Keimen, die im Jahr 2018 nur auf Gattungsebene bestimmt werden konnten, inzwischen einer Spezies zugeordnet werden könnten.

Das identifizierte Keimspektrum beruhte in dieser Studie ausschließlich auf dem Resultat kultureller Untersuchungstechniken unter aeroben Bedingungen. Daher konnten nicht alle im Untersuchungsmaterial vorhandenen Bakterien erfasst werden, sondern lediglich ein kleiner Teil davon. So lassen sich nur etwa 1-10% der tatsächlich vorhandenen Bakterien kulturell anzüchten (Amann et al. 1995). Wie Studien, die Next-Generation Sequencing anwandten, beweisen, setzt sich das Mikrobiom des Pferdeauges aus wesentlich mehr Keimen zusammen als kulturell erfassbar (LaFrentz et al. 2020; Scott et al. 2019). Diese Untersuchungstechnik, die auf der PCR beruht, hat den Vorteil der schnelleren Diagnostik, da man nicht von Wachstumsgeschwindigkeiten der Bakterien abhängig ist. Weiterhin erhält man mit dieser Methodik weitaus umfassendere Untersuchungsergebnisse. Inwiefern diese Fülle an Informationen für den praktischen Tierarzt hilfreich sein kann, bleibt abzuwarten. Ein großer Nachteil der Methodik ergibt sich allerdings daraus, dass kein Antibiogramm angefertigt werden kann.

4.3 Einordnung ausgewählter gramnegativer Gattungen

Die erste Veröffentlichung dieser Studie unterschied sich von anderen durch vermehrtes Auftreten gramnegativer Keime, weshalb das gramnegative Keimspektrum in einer zweiten Publikation genauer untersucht wurde.

Die Kulturbedingungen der vorliegenden Arbeit waren ähnlich zu den meisten der vorhergehenden Studien, mit geringen Unterschieden: Es wurde als Selektivmedium für gramnegative Keime anstelle von Endo-Agar MacConkey-Agar verwendet und es wurde zusätzlich ein Anreicherungsverfahren durchgeführt. Größer war der Unterschied in der Keimidentifizierung. Sie erfolgte neben den üblichen Standardmethoden mittels MALDI-TOF, was zu einer höheren Präzision der Erregerbestimmung führte.

Die meisten gramnegativen Isolate gehörten den Gattungen *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Escherichia* und *Moraxella* an. Besonders auffällig war hierbei die deutliche Dominanz der Gattung *Pantoea*. In einigen vorausgehenden Studien wurde die Gattung gar nicht genannt, in anderen deutlich seltener. Ein möglicher Grund könnte in der Taxonomie liegen. Die Gattung *Pantoea* gibt es erst seit 1989. Zuvor und teilweise auch später noch, wurde dieser Keim anderen Gattungen zugeordnet, zuletzt der Gattung *Enterobacter* (Schoch und et.al. 2020b). Da *Pantoea* spp. morphologisch gut zu erkennen sind, lässt sich das gehäufte Vorkommen nicht durch die Verwendung des MALDI-TOF erklären. Allerdings stammen die vorausgegangenen Studien aus Ländern mit anderen klimatischen Bedingungen. Da *Pantoea* spp. ubiquitär in der Natur verbreitet, und in Wasser, Erdboden, Staub und Pflanzenmaterial anzutreffen sind sowie auch im Körper von Arthropoden (Walterson und Stavrinos 2015), erstaunt der häufige Nachweis auf der equinen Augenoberfläche nicht - kommen Pferde aufgrund ihrer Lebensweise ständig mit Pflanzenmaterial in Kontakt. Da in der Humanmedizin Fälle von Endophthalmitiden beschrieben sind (Venincasa et al. 2015; Sudhalkar et al. 2014), wäre auch eine Beteiligung bei entzündlichen Augenerkrankungen des Pferdes denkbar. Auch die Gattungen *Pseudomonas* und *Acinetobacter* sind in der Natur weit verbreitet und können sowohl aus gesunden als auch erkrankten Pferdeaugen isoliert werden. Insbesondere *Psd. aeruginosa*, kann durch seine Ausstattung an Pathogenitätsfaktoren am Auge schwere Schäden verursachen (Brooks und Plummer 2022). *E. coli* gehört bei allen warmblütigen Tieren und dem Menschen zum Darmmikrobiom und gelangt durch Fäkalien in die Umwelt (Heesemann 2001). Sein Nachweis auf der Augenoberfläche ist daher auf eine Kontamination zurückzuführen. Auch gelang der Nachweis der Gattungen *Escherichia* und *Moraxella* aus gesunden und erkrankten Pferdeaugen. In der vorliegenden Studie konnten 39 Moraxellen angezüchtet werden, von denen 33 Isolate als *M. bovoculi* identifiziert werden konnten. Zu neun der Patienten lagen genauere klinische Informationen vor: Zwei Pferde waren an

4. Diskussion

Keratokonjunktivitis erkrankt, sieben an Konjunktivitis ohne Hornhautbeteiligung. In einem Fall waren gleichzeitig mehrere Pferde aus dem Bestand des beprobten Pferdes von eitrigem Augenausfluss betroffen. Dies passt zu einer Studie aus China, bei der *M. bovoculi* als Erreger infektiöser Keratokonjunktivitis bei neun Rennpferden eines Zuchtbetriebs gefunden werden konnte (Liu et al. 2014). Zwei Fälle equiner Keratokonjunktivitis traten in Brasilien auf, bei denen *M. bovoculi*, bzw. eine nicht näher identifizierbare Moraxelle als Erreger identifiziert werden konnten (Seeger et al. 2021).

4.4 Einflussfaktoren auf das Keimwachstum

4.4.1 Jahreszeit

Betrachtet man die Art des Keimwachstums im jahreszeitlichen Vergleich, gab es in der vorliegenden Studie Unterschiede. Die meisten Mischkulturen aus grampositiven und -negativen Bakterien konnten im Herbst nachgewiesen werden. Der Anteil der negativen Kulturen war im Winter am größten. Im Gegensatz dazu gab es in einer Studie aus Florida keine signifikanten Unterschiede zwischen den Jahreszeiten (Andrew et al. 2003). Beide Studien lassen sich nur bedingt vergleichen. Florida besteht aus zwei Klimazonen: subtropisch und tropisch. Deutschland liegt in der kühlgemäßigten Klimazone und die saisonalen Unterschiede sind in Mitteleuropa deutlicher. Außerdem untersuchte die vorliegende Studie Tupfer von erkrankten Pferdeaugen, für die Studie aus Florida wurden gesunde Pferde beprobt. Da in dieser Studie Abstriche von unterschiedlichen Pferden ausgewertet wurden, die sich in Rasse, Alter, Haltungsbedingungen, Diagnose, etc. unterschieden, gab es zu viele Einflussfaktoren, um den Einfluss der Jahreszeiten auf das Keimwachstum stichhaltig beurteilen zu können. Wollte man gezielt testen, welche Auswirkungen das Wetter auf das Keimwachstum hat, müsste das Studiendesign angepasst werden. So müsste man hierfür, ähnlich zur Studie aus Florida, augengesunde Pferde aus einer Population untersuchen und dieselben Tiere im Jahresverlauf mehrfach beproben.

Was diese Studie dennoch leisten kann, ist, die Nachweishäufigkeit bestimmter Bakterienspezies im Jahresverlauf zu beobachten. Hierbei zeigte sich, dass *Moraxella bovoculi* mit Abstand am häufigsten im Herbst isoliert werden konnte. Diese Beobachtung deckt sich trotz unterschiedlicher klimatischer Bedingungen mit der vorgenannten Studie, die im Oktober die höchste Prävalenz von *Moraxella* spp. feststellte (Andrew et al. 2003).

4.4.2 Pferdealter

Zu widersprüchlichen Ergebnissen kamen zwei Studien bei der Untersuchung des Einflussfaktors Alter. In einer Studie konnten bei jüngeren Pferden vermehrt gramnegative Bakterien und Pilze nachgewiesen werden (Andrew et al. 2003). In einer anderen Arbeit waren die Pferde, aus deren Abstrichen gramnegative Keime angezüchtet werden konnten, signifikant älter (Johns et al. 2011). In der vorliegenden Studie zeigte sich zwischen den Altersgruppen (≤ 4 , 5-20 und >20) kein signifikanter Unterschied im Keimwachstum, was im Einklang mit Studien aus Polen (Zak et al. 2018) und Australien (Hampson et al. 2018) ist. Auch hier ist wieder zu beachten, dass in der vorliegenden Studie Abstriche von erkrankten Pferdeaugen ausgewertet worden sind. Die vorgenannten Studien untersuchten gesunde

4. Diskussion

Pferde. Zusätzlich ergaben sich durch die Berücksichtigung des heterogenen Patientenguts viele weitere Einflussfaktoren, die eine gesonderte Betrachtung des Faktors Alter erschweren.

4.4.3 Antibiotische Vorbehandlung

Eine Hypothese ist, dass die lokale Anwendung antibiotischer Präparate am Auge zu einem Shift der zunächst überwiegend grampositiven Mikrobiota zu gramnegativen Bakterien und Pilzen führe, insbesondere nach längerem Gebrauch.

In einer Studie wurden augengesunde Pferde in vier Gruppen eingeteilt, denen unterschiedliche Präparate dreimal täglich lokal appliziert worden. Pro Pferd wurde immer nur ein Auge behandelt, das zweite diente als unbehandelte Kontrollgruppe. Gruppe 1 erhielt Neomycin-Bacitracin-Polymyxin, Gruppe 2 Prednisolon und Gentamicin und Gruppe 3 Neomycin-Polymyxin und Dexamethason. Gruppe 4 diente als behandelte Kontrollgruppe und erhielt künstliche Tränen. In der ersten Woche zeigte sich in allen Gruppen eine Abnahme grampositiver und -negativer Keime. In der zweiten Woche nahm das Wachstum der grampositiven Keime wieder zu, während die Menge an gramnegativen Keimen weiter abnahm. Die gramnegativen Bakterien erreichten erst nach Beendigung der Applikationen wieder die Menge vor der Behandlung. Zwischen den Gruppen gab es keine signifikanten Unterschiede (Gemensky-Metzler et al. 2005). Der Rückgang der Bakterienpopulation in der behandelten Kontrollgruppe wurde durch die mechanische Spülung, der Auslösung des Tränenreflexes und der möglichen antimikrobiellen Wirkung des Konservierungsmittels in den künstlichen Tränen erklärt. Da auch die unbehandelten Augen einen Rückgang der Bakterienpopulation zeigten, könnten auch Veränderungen in der Umwelt oder des Wirtes eine Rolle gespielt haben. (Gemensky-Metzler et al. 2005)

In der vorliegenden Studie gibt es im Keimwachstum mit und ohne antibiotische Vorbehandlung keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich des Anteils grampositiver und -negativer Keime. So lag der Anteil der gramnegativen Reinkulturen bei den unbehandelten Augen sogar etwas höher, was insofern zur vorgenannten Studie passen könnte, dass die gramnegativen Keime erst nach Beendigung der antibiotischen Therapie wieder das Ausgangslevel erreichten. Auch der höhere Anteil der grampositiven Keime nach/unter Antibiotikatherapie könnte die schnellere Repopulation der grampositiven Keime bestätigen. Zu beachten ist hier allerdings, dass in diese Auswertung nur die Untersuchungsergebnisse von Pferden eingehen konnten, zu denen Informationen bezüglich einer antibiotischen Vorbehandlung vorlagen. Therapiedauer, zeitlicher Abstand zur Probenahme, etc. waren aber oftmals nicht bekannt. In einer weiteren Studie, die den Effekt antibiotischer Therapie auf die okularen Mikrobiota mittels Next-Generation Sequencing untersuchte, blieb das Mikrobiom auch unter Therapie weitgehend stabil (Scott et al. 2019).

4.5 Antibiotikatherapie

4.5.1 Methodik der Resistenztestung

In der vorliegenden Studie wurde die Resistenzbestimmung im Mikrodilutionsverfahren durchgeführt. Im Rahmen der anderen Veröffentlichungen wurde hingegen entweder die Agardiffusion angewandt oder es fand sich keine Angabe zur verwendeten Methodik. Die Arbeitsgruppe „Antibiotikaresistenz“ der Deutschen Veterinärmedizinischen Gesellschaft (DVG) sieht die Dilutionsmethode als Methode der Wahl. Vorteil ist die Erfassung von quantitativen Daten in Form von MHK-Werten, die aussagekräftiger sind als eine grobe Einteilung in qualitative Kategorien und sich besser vergleichen lassen. Durch die gute Standardisierbarkeit ist sie weniger fehleranfällig. Nachteil ist die geringere Flexibilität bei der Auswahl der antibiotischen Wirkstoffe, da die Layouts der Mikrotiterplatten vorgegeben sind. So ist eine zusätzliche Testung weiterer Wirkstoffe nicht möglich. (Valentin-Weigand 2011)

Getestet wurden folgende Antibiotika: Oxacillin, Gentamicin, Neomycin, Kanamycin, Enrofloxacin, Tetracyclin, Florfenicol und Polymyxin. Die Auswahl basierte einerseits darauf, welche Wirkstoffe in verfügbaren Augenpräparaten für die lokale Anwendung enthalten sind, waren andererseits aber auch vom Layout der Mikrotiterplatten abhängig. Daher sind die getesteten Antibiotika nicht vollständig, sondern es fehlen einige Wirkstoffe, die auch häufig Anwendung finden, wie etwa Fusidinsäure oder Bacitracin.

Bei der Bewertung der Antibiogramme ist zu berücksichtigen, dass sich die angewandten Grenzwerte auf die systemische Anwendung beziehen, da es derzeit (noch) keine Breakpoints für die topische Applikation gibt (Clinical & Laboratory Standards Institute 2020). Inwieweit sich die Beurteilungen in sensibel, intermediär und resistent möglicherweise verschieben würden, ist unklar. Die Verwendung der systemischen Grenzwerte entspricht jedoch dem derzeitigen wissenschaftlichen Stand. Es ist wünschenswert, dass zukünftig auch Breakpoints für die topische Anwendung zur Verfügung stehen. Eine weitere Einschränkung ergibt sich daraus, dass die Wirkung mehrerer kombinierter antimikrobieller Wirkstoffe nicht getestet werden kann - eine Ausnahme ist die Kombination von Trimethoprim mit einem Sulfonamid (Clinical & Laboratory Standards Institute 2020). Damit werden etwa synergistische Effekte nicht erfasst. Gerade in ophthalmologischen Präparaten sind aber häufig mehrere Wirkstoffe kombiniert, beispielsweise in Polyspectran® Polymyxin-B-sulfat, Neomycinsulfat und Gramacidin.

4. Diskussion

4.5.2 Anwendung ausgewählter antibiotischer Wirkstoffe

Vetoscon® (Zoetis Deutschland GmbH) mit Wirkstoff Cloxacillin ist eine für Pferde in Deutschland zugelassene Augensalbe. Stellvertretend wurde in der vorliegenden Studie das Resistenzverhalten von Oxacillin als Leitantibiotikum der Isoxazolyl-Penicilline getestet und kann abgeleitet werden (Clinical & Laboratory Standards Institute 2020). Wirkspektrum von Cloxacillin sind grampositive Keime. Allerdings lag bei 28% der *Staphylococcus aureus* Isolate eine Methicillin/Oxacillin-Resistenz vor. Für eine initiale Antibiotikatherapie ohne vorausgegangene Erregerbestimmung scheint Cloxacillin daher nicht geeignet zu sein.

Zwei ebenfalls für das Pferd zugelassene Präparate mit dem Wirkstoff Chlortetracyclinhydrochlorid sind derzeit im deutschen Handel: Cepemycin® (CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH) und Ophtocycline® (Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH). Über 88% aller grampositiven und über 85% aller gramnegativen Isolate waren empfindlich gegenüber Tetracyclin. Damit ist es aufgrund des breiteren Wirkspektrums für eine Erstversorgung geeigneter.

Durch die geringe Auswahl zugelassener Präparate kommt der Praktiker bei der Behandlung bakterieller Augeninfektionen häufig in die Situation des Therapienotstandes, der dadurch gekennzeichnet ist, dass für Tierart und Anwendungsgebiet kein zugelassenes Tierarzneimittel zur Verfügung steht, die notwendige arzneiliche Versorgung des Tieres ernstlich gefährdet ist und eine Gefährdung der Gesundheit von Mensch und Tier (bei Umwidmung) nicht zu befürchten ist. Liegt ein Therapienotstand vor, darf entsprechend der Umwidmungskaskade umgewidmet werden. Zu beachten ist, dass die erste Veröffentlichung zu dieser Studie im Jahr 2021 erschienen ist, sich die Umwidmungskaskade aber ab dem 28.01.2022 geändert hat. Daher sind die Angaben diesbezüglich dort teilweise nicht mehr aktuell.

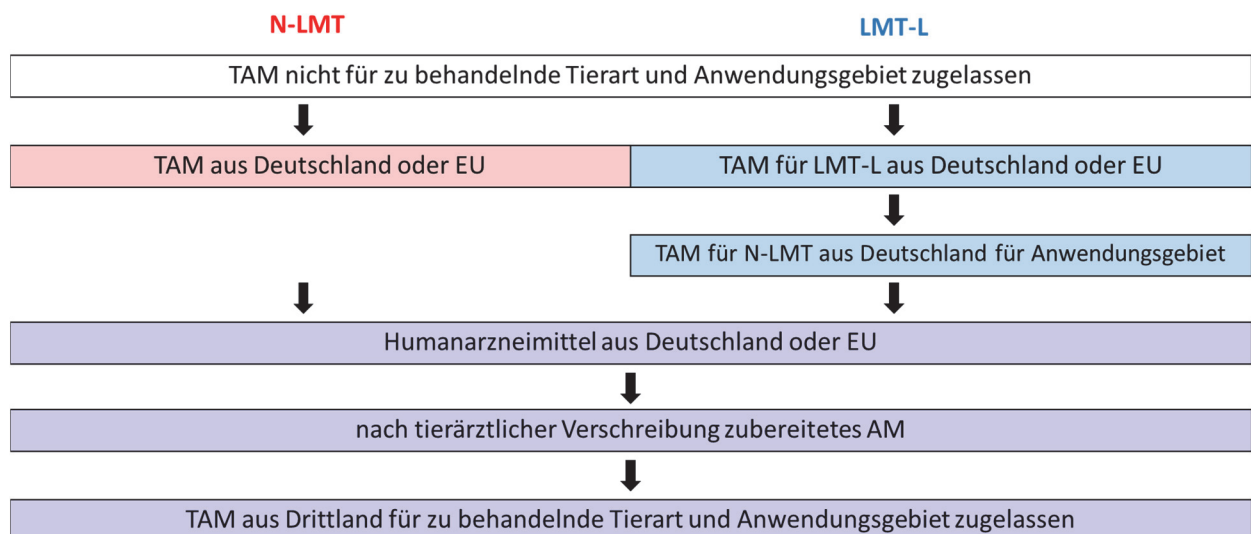


Abb.2 Umwidmungskaskade ab 28.01.2022 nach ©Emmerich, VETIDATA, modifiziert von Schieder

4. Diskussion

Bevor humanmedizinische Präparate Anwendung finden dürfen, muss gemäß Umwidnungskaskade zunächst auf Tierarzneimittel aus Deutschland oder der EU zurückgegriffen werden. Eine am 24.05.2022 aktualisierte Liste der verfügbaren Ophthalmika für Tiere in der EU/EWR ist bei VETIDATA einzusehen (Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig 2023).

Zwei Augenpräparate, die Chloramphenicol enthalten, sind für Hund und Katze in Deutschland zugelassen, Cefenicol® (CP-Pharma) und Cefenidex® (CP-Pharma). In der vorliegenden Studie wurde das Resistenzverhalten von Chloramphenicol von Florfenicol abgeleitet. Beide gehören zur Gruppe der Phenicole, weisen jedoch Unterschiede in ihrer chemischen Struktur auf. Liegt eine Resistenz der Isolate gegen Florfenicol vor, besteht diese auch immer gegen Chloramphenicol. Andersherum müssen Resistenzen gegenüber Chloramphenicol aber nicht unbedingt auch gegenüber Florfenicol bestehen. (Werckenthin et al. 2005) Während Florfenicol hochwirksam gegen grampositive Bakterien war, zeigten sich nur <64% der gramnegativen Bakterien sensibel. Bei den Pseudomonaden waren sogar nur unter 30% empfindlich. Ein weiterer Nachteil von Chloramphenicol besteht in seiner Gefährlichkeit für den Anwender. Durch Hautkontakt kann beim Menschen eine aplastische Anämie hervorgerufen werden. Bei Schlachtequiden darf Chloramphenicol gemäß Tabelle 2 der VO (EU) 37/2010 nicht angewendet werden, da es hier als verbotener Stoff aufgeführt wird.

Daneben sind für Hund und Katze auch Augenpräparate mit Aminoglycosiden im deutschen Handel: Dermamycin Augencreme® (WDT – Wirtschaftsgenossenschaft Deutscher Tierärzte eG, almapharm GmbH u. Co. KG) mit Neomycinsulfat sowie Ophtogent® (CP-Pharma) und Soligental® (Virbac Tierarzneimittel GmbH, CP-Pharma) mit Gentamicinsulfat als enthaltene Antibiotika. Gentamicin zeigte sich hochwirksam gegenüber gramnegativen Isolaten. Neomycin und Kanamycin waren ähnlich wirksam, bei den Pseudomonaden allerdings besaß Gentamicin im Vergleich mit den anderen Aminoglycosiden die beste In-vitro-Wirksamkeit. Streptokokken besitzen eine natürliche Resistenz gegenüber Aminoglycosiden (Krause et al. 2016). Bei Schlachtequiden gelten im Therapienotstand zusätzlich gesonderte Regelungen: Angewendet werden dürfen Stoffe aus Tabelle 1 VO (EU) Nr. 37/2010 (Rückstandshöchstmengenverordnung). Hier berechnet sich die Wartezeit bei Umwidnung durch Multiplikation der längsten genannten Wartezeit in der Fachinformation mit dem Faktor 1,5. Bei einer anderen taxonomischen Familie beträgt sie mindestens einen Tag. Ist keine Wartezeit angegeben sind 28 Tage für essbares Gewebe und 7 Tage für Milch einzuhalten. Diese Regelungen betreffen u.a. Neomycin und Gentamicin.

4. Diskussion

Isathal® (Dechra) mit Fusidinsäure ist in Deutschland für den Hund zugelassen, konnte in dieser Studie aber leider nicht getestet werden, da Fusidinsäure nicht auf dem Layout der verwendeten Mikrotiterplatten enthalten war. Gramnegative Keime besitzen intrinsische Resistenzen gegenüber Fusidinsäure (Clinical & Laboratory Standards Institute 2020).

Zwar ist in Deutschland derzeit kein Augenpräparat für die Anwendung bei Tieren zugelassen, das Polymyxin B enthält, doch sind in der EU/EWR Präparate verfügbar, die Polymyxin B in Kombination mit anderen antibiotischen Wirkstoffen enthalten. Polymyxin B allein besitzt ein gramnegatives Wirkspektrum (Clinical & Laboratory Standards Institute 2020).

Im deutschen Handel sind Humanpräparate mit Ofloxacin als Wirkstoff erhältlich. Da es aber in EU/EWR ein Präparat gibt, das für Pferde zugelassen ist, muss dieses laut Umwidnungskaskade bevorzugt verwendet werden. In dieser Studie wurde anstelle von Ofloxacin das Resistenzverhalten gegenüber Enrofloxacin geprüft. Enrofloxacin ist Leitantibiotikum der Fluorchinolone. Die Resistenzen anderer Wirkstoffe dieser Gruppe können von Enrofloxacin abgeleitet werden (Feßler et al. 2017). Enrofloxacin verhielt sich gegenüber grampositiven und -negativen Isolaten hochwirksam.

Ofloxacin und Polymyxin B stehen beide auf der Positivliste für Equiden, Anhang VO (EU) Nr. 122/2013. D.h., sie dürfen auch bei Schlachtequiden angewendet werden, wenn sechs Monate Wartezeit eingehalten werden und die Anwendung im Equidenpass dokumentiert wird.

4.5.3 Antibiogrammpflicht

Die Untersuchungen haben gezeigt, dass Keimidentifizierung mit Resistenztestung für eine effektive Antibiotikatherapie notwendig ist. Das Resistenzverhalten zwischen den Familien unterscheidet sich stark.

Eine Antibiogrammpflicht besteht beim Pferd laut Tierärztlicher Hausapothekenverordnung (TÄHAV) §12c bei Umwidmung eines Antibiotikums, sowie bei Einsatz von Fluorchinolonen und Cephalosporinen der 3./4. Generation. Ausnahmen hiervon sind:

- die Tiergesundheit ist durch die Probenahme gefährdet
- der Erreger ist in zellfreien Medien nicht kultivierbar, z.B. Chlamydien, Mycoplasmen u.a.
- es ist keine geeignete Methode zur Bestimmung der Empfindlichkeit des Erregers verfügbar

Trifft eine Ausnahme zu, ist der Praktiker in der Nachweispflicht, warum kein Antibiogramm erstellt werden konnte. (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz 2018)

4.6 Fazit und Ausblick

Die Kenntnis über das vorhandene Keimspektrum und seiner Resistenzlage ist für eine gezielte antibiotische Therapie essentiell.

Die Methodik der vorliegenden Studie basierte auf dem aktuellen Wissensstand unter Verwendung empfohlener Verfahren und moderner Technik. Es wurde eine hohe Fallzahl Proben untersucht - allerdings fehlten trotz Aussendung von Fragebögen an die behandelnden Tierärzte zu der Mehrheit der untersuchten Pferde wertvolle Informationen zur Klinik. Das Vorkommen der betrachteten gramnegativen Keime ließ sich zwar einordnen, die Pathogenität jedoch nicht abschließend beurteilen. Untersucht wurden auch einige Einflussfaktoren auf das Keimwachstum. Hierbei waren Tendenzen sichtbar, allerdings sind die Ergebnisse aufgrund des heterogenen Patientenguts mit Vorsicht zu interpretieren. Im Vergleich mit anderen Studien wurden sehr viele Antibiogramme ausgewertet, was eine verlässlichere Beurteilung des Resistenzverhaltens zulässt als bei Untersuchung weniger Bakterien. Eine Einschränkung ergibt sich durch fehlende Breakpoints für die topische Anwendung, was sich zum jetzigen Zeitpunkt nicht verhindern ließ.

Erfolgreich wäre bei Studien dieser Art eine Zusammenarbeit von praktischen Tierärzten und Untersuchungseinrichtungen, um durch die Kombination von moderner Methodik und der genauen Kenntnis über die Klinik das größtmögliche Outcome zu erzielen. Wünschenswert ist auch die Entwicklung weiterer Breakpoints durch die CLSI. Um die klinische Relevanz der detektierten gramnegativen Bakterien noch besser einschätzen zu können, bedarf es weiterer Studien. Hier könnten Fallberichte hilfreich sein.

5. Zusammenfassung

Ann-Kathrin Schieder

„Das aerobe Bakterienspektrum der erkrankten Pferdeaugenoberfläche und seine Resistenzlage“

Im Jahr 2018 wurden 844 Augenabstriche von 785 verschiedenen Pferden bakteriologisch untersucht. Die Keimidentifizierung erfolgte neben Beurteilung der Kulturmorphologie und biochemischen Methoden mittels MALDI-TOF. Die Resistenztestung wurde im Mikrodilutionsverfahren nach den Standards des CLSI als Breakpoint-Methode durchgeführt. 8% (n=65/844) aller Augentupfer waren bakteriologisch negativ. Bei 31% (n=264/844) zeigte sich nur grampositives, bei 25% (n=207/844) ausschließlich gramnegatives Wachstum. Mischkulturen grampositiver und -negativer Keimspezies zeigten sich bei 36% (n=308/844) der Proben. Unterschiede in der Art des Keimwachstums ergaben sich im jahreszeitlichen Vergleich. Insgesamt konnten 1510 Bakterien isoliert werden. Die meisten Isolate gehörten zu den Familien der Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae und Bacillaceae. Weiterhin kamen die Familien Streptococcaceae, Moraxellaceae und Pseudomonadaceae häufig vor. Größte Gattungen waren (in absteigender Reihenfolge): *Pantoea*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* und *Acinetobacter*. Das gramnegative Keimspektrum setzt sich größtenteils aus den drei Familien Enterobacteriaceae (n=359/678), Moraxellaceae (n=141/678) und Pseudomonadaceae (n=137/678) zusammen. Weder das Alter der beprobten Pferde noch lokale antibiotische Vorbehandlung hatten einen signifikanten Einfluss auf die Nachweishäufigkeit gramnegativer Keimspezies. Auch konnten bei Schädigung der Hornhaut nicht vermehrt gramnegative Bakterien isoliert werden. *Moraxella bovoculi* war innerhalb der Jahresverläufe im Herbst am häufigsten vertreten. Die klinische Relevanz der nachgewiesenen gramnegativen Bakteriengattungen muss individuell beurteilt werden.

Von 1421 Bakterienisolaten wurden Antibiogramme angefertigt. Getestet wurden die antibiotischen Wirkstoffe Oxacillin, Gentamicin, Neomycin, Kanamycin, Enrofloxacin, Tetracyclin, Florfenicol und Polymyxin. Gegenüber den gramnegativen Isolaten (n=654) zeigte sich Enrofloxacin in vitro als am wirksamsten (n= 625/654), gefolgt von Gentamicin (n=620/654) und Neomycin (n=618/654). Die meisten Isolate der grampositiven Keime waren in vitro sensibel gegenüber Florfenicol (n=713/767), Enrofloxacin (n=710/767) und Tetracyclin (n=679/767). Lokale antibiotische Vorbehandlungen hatten keinen besonderen Einfluss auf die Resistenzlage.

5. Zusammenfassung

Das große aerobe Keimspektrum der Augenoberfläche des Pferdes und die Unterschiede in der Resistenzlage machen eine bakteriologische Untersuchung mit anschließender Antibiogrammerstellung notwendig.

6. Summary

Ann-Kathrin Schieder

„The aerobic bacterial spectrum of the diseased equine ocular surface and its resistance pattern“

In 2018, 844 swabs from the ocular surface of 785 different horses were cultured for aerobic bacteria. Bacterial isolates were identified based on their culture morphology, biochemical methods, and MALDI-TOF. Antibiotic susceptibility testing was performed by microdilution using the breakpoint method according to the CLSI standards.

In 8% (n=65/844) of all eye swabs no bacterial growth was observed. 31% (n = 264/844) showed only Gram-positive, 25% (n=207/844) only Gram-negative growth. Mixed cultures of Gram-positive and -negative bacterial species were found in 36% (n=308/844) of the samples. In the seasonal comparison differences in the type of bacterial growth were found. A total of 1510 bacteria were isolated. Most of the isolates belonged to the families Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae and Bacillaceae. Furthermore, the families Streptococcaceae, Moraxellaceae and Pseudomonadaceae occurred frequently. Largest genera were (in descending order): *Pantoea*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. The Gram-negative bacterial spectrum was mainly composed of three families: Enterobacteriaceae (n=359/678), Moraxellaceae (n=141/678) and Pseudomonadaceae (n=137/678). Neither the age of the sampled horses nor local antibiotic pre-treatment had a significant influence on the frequency of detected Gram-negative bacteria. Also, there was no increase of Gram-negative bacteria in eyes with damaged cornea. Over the year *Moraxella bovoculi* occurred most frequently in autumn. The clinical relevance of the detected Gram-negative bacterial genera must be assessed individually.

Antibiograms were performed from 1421 bacterial isolates. The antibiotic agents oxacillin, gentamicin, neomycin, kanamycin, enrofloxacin, tetracycline, florfenicol and polymyxin were tested. Against Gram-negative isolates (n=654), enrofloxacin was found to be most effective in vitro (n=625/654), followed by gentamicin (n=620/654) and neomycin (n=618/654). Most isolates of Gram-positive bacteria were in vitro sensitive to florfenicol (n=713/767), enrofloxacin (n=710/767) and tetracycline (n=679/767). Local antibiotic pre-treatment had no particular influence on the resistance pattern. In conclusion the large aerobic bacterial spectrum of the equine ocular surface and the differences in its antibiotic susceptibility underline the necessity of a bacteriological examination with an subsequent antibiogram.

7. Literaturverzeichnis

- Amann R I, Ludwig W und Schleifer K-H (1995): Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev*, 59(1), 143-169
- Andrew S E, Brooks D E, Smith P J, Gelatt K N, Chmielewski N T und Whittaker C J (1998): Equine ulcerative keratomycosis: visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987-1996). *Equine Vet J*, 30(2), 109-116
- Andrew S E, Nguyen A, Jones G L und Brooks D E (2003): Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. *Vet Ophthalmol*, 6(1), 45-50
- Araghi-Sooreh A, Navidi M und Razi M (2014): Conjunctival Bacterial and Fungal Isolates in Clinically Healthy Working Horses in Iran. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 20(4), 625-627
DOI: 10.9775/kvfd.2013.10649
- Aramă V (2020): Topical antibiotic therapy in eye infections - myths and certainties in the era of bacterial resistance to antibiotics. *Rom J Ophthalmol*, 64(3), 245-260
- Brooks D E, Andrew S E, Biroş D J, Denis H M, Cutler T J, Strubbe D T und Gelatt K N (2000): Ulcerative keratitis caused by beta-hemolytic *Streptococcus equi* in 11 horses. *Vet Ophthalmol*, 3(2-3), 121-125. DOI: 10.1046/j.1463-5224.2000.00120.x
- Brooks D E (2010): Equine conjunctival diseases: A commentary. *Equine vet. Educ*, 22(8), 382-386. DOI: doi:10.1111/j.2042-3292.2010.00097.x
- Brooks D E und Plummer C E (2022): Diseases of the Equine Cornea. In: B C Gilger (Hrsg.), *Equine Ophthalmology* (4. Aufl., S. 253-440). Oxford: Wiley Blackwell. ISBN 978-1-119-78225-4
- Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz (2018). Verordnung über Tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) §12c Antibiotigrammpflicht Abs. 1. Abgerufen am 25.03.2023. Verfügbar unter https://www.gesetze-im-internet.de/t_hav/BJNR021150975.html
- Cattabiani F, Cabassi E, Allodi C und Gianelli F (1976): Bacterial flora of the conjunctival sac of the horse. *Ann Sclavo*, 18(1), 91-119
- Clinical & Laboratory Standards Institute (2020): Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility. Tests for Bacteria Isolated From Animals (5. Aufl. Bd. Supplement Vet01S). Wayne, PA: CLSI
- Dutkiewicz J, Mackiewicz B, Kinga Lemieszek M, Golec M und Milanowski J (2016): *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. *Ann Agric Environ Med*, 23(2), 197-205. DOI: 10.5604/12321966.1203878
- Eule J C und Schmidt V (2017a): Krankheiten der Bindehaut (Konjunktiva). In: W Brehm, H Gehlen, B Ohnesorge und A Wehrend (Hrsg.), *Handbuch Pferdepraxis* (4. Aufl., S. 788-792). Stuttgart: Enke Verlag. ISBN 978-3-13-219621-6
- Eule J C und Schmidt V (2017b): Krankheiten der Hornhaut. In: W Brehm, H Gehlen, B Ohnesorge und A. Wehrend (Hrsg.), *Handbuch Pferdepraxis* (4. Aufl., S. 792-799). Stuttgart: Enke Verlag. ISBN 978-3-13-219621-6
- Feßler A T, Böttner A und Fehr M (2017): Mikrotiterlayouts für Kleintiere, Großtiere und Mastitis. Aktualisierung der Layouts des DVG-Arbeitskreises "Antibiotikaresistenz". *Deutsches Tierärzteblatt*, 65(4), 472-481

7. Literaturverzeichnis

- Gemensky-Metzler A J, Wilkie D A, Kowalski J J, Schmall L M, Willis A M und Yamagata M (2005): Changes in bacterial and fungal ocular flora of clinically normal horses following experimental application of topical antimicrobial or antimicrobial-corticosteroid ophthalmic preparations. *Am J Vet Res*, 66(5), 800-811
- Hampson E, Gibson J S, Barot M, Shapter F M und Greer R M (2018): Identification of bacteria and fungi sampled from the conjunctival surface of normal horses in South-East Queensland, Australia. *Vet Ophthalmol*, 22(3), 265-275. DOI: 10.1111/vop.12587
- Heesemann J (2001): Die Familie der Enterobacteriaceae In: Medizinische Mikrobiologie (8. Aufl., S. 303-304). München: Urban & Fischer. ISBN 3-437-41640-5
- Henker L C, Lorenzett M P, Keller A, Siqueira F M, Driemeier D und Pavarini S P (2020): Fibrinonecrotic placentitis and abortion associated with *Pantoea agglomerans* infection in a mare. *J Equine Vet Sci*, 92, 103-156. DOI: 10.1016/j.jevs.2020.103156
- Hong C B, Donahue J M, Giles R C, Jr., Petrites-Murphy M B, Poonacha K B, Roberts A W, Smith B J, Tramontin R R, Tuttle P A und Swerczek T W (1993): Etiology and pathology of equine placentitis. *J Vet Diagn Invest*, 5(1), 56-63. DOI: 10.1177/104063879300500113
- Hughes D E und Pugh G W, Jr (1970): Isolation and description of a *Moraxella* from horses with conjunctivitis. *Am J Vet Res*, 31(3), 457-462
- Huntington P J, Coloe P J, Bryden J D und Macdonald F (1987): Isolation of a *Moraxella* sp from horses with conjunctivitis. *Aust Vet J*, 64(4), 118-119. DOI: 10.1111/j.1750813.1987.tb09647.x
- Johns I C, Baxter K, Booler H, Hicks C und Menzies-Gow N (2011): Conjunctival bacterial and fungal flora in healthy horses in the UK. *Vet Ophthalmol*, 14(3), 195-199. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2010.00867.x
- Keller R L und Hendrix D V (2005): Bacterial isolates and antimicrobial susceptibilities in equine bacterial ulcerative keratitis (1993--2004). *Equine Vet J*, 37(3), 207-211. DOI: 10.2746/0425164054530731
- Krause K M, Serio A W, Kane T R und Connolly L E (2016): Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 6(6), 1-18. DOI: 10.1101/cshperspect.a027029
- Kuroda T, Kinoshita Y, Niwa H, Mizobe F, Ueno T, Kuwano A, Hatazoe T und Hobo S (2015): Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ulcerative keratitis in a Thoroughbred racehorse. *J Equine Sci*, 26(3), 95-98. DOI: 10.1294/jes.26.95
- LaFrentz S, Abarca E, Mohammed H H, Cuming R und Arias C R (2020): Characterization of the normal equine conjunctival bacterial community using culture-independent methods. *Vet Ophthalmol*, 23(3), 480-488. DOI: 10.1111/vop.12743
- Liebich H G (2010): Sehorgan (Organum visus). In: H G Liebich (Hrsg.), Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel. Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis (5. Aufl., S. 376-377). Stuttgart: Schattauer. ISBN: 978-3-7945-2692-5
- Liu H, Yan J, Wang Y, Yan Q, Zhao L, Yan R und He H (2014): Isolation of *Moraxella bovoculi* from racehorses with keratoconjunctivitis. *J Vet Diagn Invest*, 26(4), 585-587. DOI: 10.1177/1040638714535601
- Loy J D und Brodersen B W (2014): *Moraxella spp.* isolated from field outbreaks of infectious bovine keratoconjunctivitis: a retrospective study of case submissions from 2010 to 2013. *J Vet Diagn Invest*, 26(6), 761-768. DOI: 10.1177/1040638714551403
- Matthews A G (1994): The aetiopathogenesis of infectious keratitis in the horse. *Equine Vet J*, 26(6), 432-433. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1994.tb04044.x>

7. Literaturverzeichnis

- Matthews A G (2009): Ophthalmic antimicrobial therapy in the horse. *Equine Vet Educ*, 21(5), 271-280. DOI: 10.2746/095777308x334266
- McClellan K A (1997): Mucosal defense of the outer eye. *Surv Ophthalmol*, 42(3), 233-246. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(97\)00090-8](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(97)00090-8)
- McLaughlin S A, Brightman A H, Helper L C, Manning J P und Tomes J E (1983): Pathogenic bacteria and fungi associated with extraocular disease in the horse. *J Am Vet Med Assoc*, 182(3), 241-242
- Miller D (2017): Update on the Epidemiology and Antibiotic Resistance of Ocular Infections. *Middle East Afr J Ophthalmol*, 24(1), 30-42. DOI: 10.4103/meajo.MEAJO_276_16
- Moore C P, Fales W H, Whittington P und Bauer L (1983): Bacterial and fungal isolates from Equidae with ulcerative keratitis. *J Am Vet Med Assoc*, 182(6), 600-603
- Moore C P, Heller N, Majors L J, Whitley R D, Burgess E C und Weber J (1988): Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. *Am J Vet Res*, 49(6), 773-777.
- Moore C P, Collins B K und Fales W H (1995): Antibacterial susceptibility patterns for microbial isolates associated with infectious keratitis in horses: 63 cases (1986-1994). *J Am Vet Med Assoc*, 207(7), 928-933.
- Mustikka M P, Grönthal T S C und Pietilä E M (2020): Equine infectious keratitis in Finland: Associated microbial isolates and susceptibility profiles. *Vet Ophthalmol*, 23(1), 148-159. DOI: 10.1111/vop.12701
- Robert Koch-Institut (2020). *Acinetobacter* spp. Abgerufen am 19.12.2021. Verfügbar unter https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/ThemenAZ/A/Info_Acinetobacter.html
- Rosa M, Cardozo L M, da Silva Pereira J, Brooks D E, Martins A L, Florido P S und Stussi J S (2003): Fungal flora of normal eyes of healthy horses from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Vet Ophthalmol*, 6(1), 51-55
- Samuelson D A, Andresen T L und Gwin R M (1984): Conjunctival fungal flora in horses, cattle, dogs, and cats. *J Am Vet Med Assoc*, 184(10), 1240-1242.
- Sandmeyer L S, Bauer B S, Mohaghegh Poor S M, Feng C X und Chirino-Trejo M (2017): Alterations in conjunctival bacteria and antimicrobial susceptibility during topical administration of ofloxacin after cataract surgery in dogs. *Am J Vet Res*, 78(2), 207-214. DOI: 10.2460/ajvr.78.2.207
- Sansom J, Featherstone H und Barnett K C (2005): Keratomycosis in six horses in the United Kingdom. *Vet Rec*, 156(1), 13-17
- Sauer P, Andrew S E, Lassaline M, Gelatt K N und Denis H M (2003): Changes in antibiotic resistance in equine bacterial ulcerative keratitis (1991-2000): 65 horses. *Vet Ophthalmol*, 6(4), 309-313. DOI: 10.1111/j.1463-5224.2003.00312.x
- Schoch C et al. (2020a). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). Abgerufen am 25.03.2023, 2023. Verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=1903414&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock>
- Schoch C L et al. (2020b). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database. Abgerufen am 26.03.2023, 2023. Verfügbar unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=549&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>

7. Literaturverzeichnis

- Schwarzkopf A (2016): Resistenzdefinitionen, Resistenzmechanismen, Resistenzbestimmung In: Multiresistente Erreger im Gesundheitswesen. Hygienemaßnahmen in medizinischen und pflegerischen Einrichtungen (2. Aufl., S. 9-15). Wiesbaden: mhp-Verlag. ISBN 978-3-88681-133-5
- Scott E M, Arnold C, Dowell S und Suchodolski J S (2019): Evaluation of the bacterial ocular surface microbiome in clinically normal horses before and after treatment with topical neomycin-polymyxin-bacitracin. *PloS one*, 14(4), e0214877. DOI: 10.1371/journal.pone.0214877
- Seeger M G, Corrêa L F D, Clothier K A, Loy J D und Cargnelutti J F (2021): Isolation of *Moraxella spp.* from horses with conjunctivitis in Southern Brazil. *Braz J Microbiol*, 52(3), 1643-1648. DOI: 10.1007/s42770-021-00507-1
- Smith S M und Giuliano E A (2017): Diseases of the Nasolacrimal System and Ocular Adnexa. In: B C Gilger (Hrsg.), *Equine Ophthalmology* (4. Aufl., S. 187-252). Oxford: Wiley Blackwell. ISBN 978-1-119-78225-4
- Songer J G und Post K W (2005a): The genera *Moraxella* and *Neisseria* In: *Veterinary Microbiology. Bacterial and fungal agents of animal disease* (S. 169-173): Elsevier Saunders ISBN-13: 978-0-7216-8717-9
- Songer J G und Post K W (2005b): The genera *Pseudomonas* and *Burkholderia* In: *Veterinary Microbiology. Bacterial and fungal agents of animal disease* (S. 154-162): Elsevier Saunders ISBN-13: 978-0-7216-8717-9
- Sudhalkar A, Majji A B, Chhablani J und Manderwad G (2014): *Pantoea agglomerans* endophthalmitis: clinical features and outcomes. *Retina*, 34(8), 1702-1706. DOI: 10.1097/iae.0000000000000127
- Sweeney C R und Irby N L (1996): Topical treatment of *Pseudomonas sp.*-infected corneal ulcers in horses: 70 cases (1977-1994). *J Am Vet Med Assoc*, 209(5), 954-957
- Tolar E und Hendrix D V H (2005): *Equine Infectious Keratitis: Diagnosis and Treatment*. *VetFolio*, 27(5)
- Valentin-Weigand P (2011): Antimikrobielle Wirkstoffe. In: H-J Selbitz, U Truyen und P Valentin-Weigand (Hrsg.), *Tiermedizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. (9. Aufl., S. 125-129). Stuttgart: Enke Verlag. ISBN 978-3-8304-1080-5
- van der Kolk J H, Endimiani A, Graubner C, Gerber V und Perreten V (2019): *Acinetobacter* in veterinary medicine, with an emphasis on *Acinetobacter baumannii*. *J Glob Antimicrob Resist*, 16, 59-71. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.08.011
- Venincasa V D, Kuriyan A E, Flynn H W, Jr., Sridhar J und Miller D (2015): Endophthalmitis caused by *Pantoea agglomerans*: clinical features, antibiotic sensitivities, and outcomes. *Clin Ophthalmol*, 9, 1203-1207. DOI: 10.2147/ophth.S80748
- Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig (2023). VETIDATA. Abgerufen am 03.03.2023, 2023. Verfügbar unter <https://vetidata.de/public/aktuelles/meldungen.php?params=113,74,65,74,139,131,74,67,74,50,123,117,137,50,75,131,74,67,74,50,65,70,68,50,75,141>
- Walterson A M und Stavrinides J (2015): *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiol Rev*, 39(6), 968-984. DOI: 10.1093/femsre/fuv027
- Werckenthin C, Böttner A, Hafez H und Hartmann K (2005): Kreuzresistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Veterinärmedizin: Molekulare Grundlagen und praktische Bedeutung für die Empfindlichkeitsprüfung. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 118, 471-480

7. Literaturverzeichnis

- Zak A, Siwinska N, Slowikowska M, Borowicz H, Ploneczka-Janeczko K, Chorbinski P und Niedzwiedz A (2018): Conjunctival aerobic bacterial flora in healthy Silesian foals and adult horses in Poland. *BMC Vet Res*, 14(1), 261. DOI: 10.1186/s12917-018-1598-6
- Zheng W, Porter E, Noll L, Stoy C, Lu N, Wang Y, Liu X, Purvis T, Peddireddi L, Lubbers B, Hanzlicek G, Henningson J, Liu Z und Bai J (2019): A multiplex real-time PCR assay for the detection and differentiation of five bovine pinkeye pathogens. *J Microbiol Methods*, 160, 87-92. DOI: 10.1016/j.mimet.2019.03.024
- Zubrod C J, Farnsworth K D und Oaks J L (2004): Evaluation of arthrocentesis site bacterial flora before and after 4 methods of preparation in horses with and without evidence of skin contamination. *Vet Surg*, 33(5), 525-530. DOI: 10.1111/j.1532-950X.2004.04074.x

8. Publikationsverzeichnis

Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2021): Studie zur aktuellen Resistenzlage der okulären Mikroflora des Pferdes – Geeignete Antibiotika zur Erstversorgung bei Konjunktivitis und Keratitis des Pferdes. *Pferdeheilkunde* 37(3), 292–301, DOI 10.21836/PEM20210311

Schieder A-K, Müller E, Heusinger A, Eule J C (2023). Die Rolle gramnegativer Keime bei infektiösen Augenerkrankungen des Pferdes. *Pferdeheilkunde* 39(1), 12-23, DOI 10.21836/PEM20230102

Schieder A-K, Müller E, J C Eule (2020). The aerobic bacterial spectrum in horses with ocular diseases, Poster DVG-Vet-Congress 2020

9. Danksagung

Frau Prof. Dr. Eule danke ich für die Möglichkeit der Dissertation, ihre fachliche Beratung und ihre wegweisenden Tipps, die mich aus mancher gedanklichen Sackgasse geführt haben.

Frau Dr. Müller hat den Kontakt zu Frau Prof. Dr. Eule hergestellt und mir damit die Möglichkeit der Dissertation eröffnet. Sie stand mir insbesondere, wenn es zeitlich mal knapp wurde – nicht nur fachlich, sondern vor allem auch als Motivatorin in schwierigen Zeiten zur Seite. Dafür möchte ich mich herzlich bedanken.

Frau PD Dr. Rachel Marschang danke ich für die Unterstützung bei den englischsprachigen Zusammenfassungen beider Artikel.

Bei Herrn Dr. Heusinger bedanke ich mich für seine offene Bürotür, bzw. sein offenes Ohr für die kleinen Probleme im Laboralltag, sowie für die Flexibilität in der Arbeitsplanung, wenn ich mal ganz spontan Urlaub brauchte, um an der Dissertation weiterarbeiten zu können.

Frau Dr. Bismarck danke ich für das Lesen so mancher Entwürfe und für die Hilfe aus dem Statistikdschungel.

Ein großes Dankeschön geht auch an alle Mitarbeiter/innen der mikrobiologischen Abteilung von Laboklin, insbesondere an die „Grün-Ableser“, die Mitarbeiter vom „Anti-Platz“ und die „MALDI-Experten“.

Und nicht zuletzt möchte ich meiner Familie danken:

Opa Egon, der wahrscheinlich als einziger immer daran geglaubt hat, dass ich tatsächlich mal Tierärztin werde, meinen Eltern, die mir immer den Freiraum gegeben haben, das zu tun, was mir am Herzen liegt und vor allem meinem Mann, der mir, wann immer möglich, nicht nur Zeit freischaufelte, indem er Kinder, Haushalt und Tiere jonglierte, sondern mich auch bei diversen Computerproblemen unterstützt hat, wenn meine Nerven blank lagen.

Ich bin beruflich wie privat sehr glücklich darüber, von solch tollen Menschen umgeben zu sein, vielen Dank dafür.

10. Finanzierungsquellen

Die ausgewerteten Proben entstammten der Routinediagnostik von Laboklin GmbH & Co. KG. Es wurden daher nur die Untersuchungen durchgeführt, die auch von den Einsendern angefordert waren. Zusätzliche Kosten entstanden Laboklin GmbH & Co. KG hierdurch nicht. Alle Zusatzleistungen, die in Zusammenhang mit der Dissertation stehen, wurden von der Autorin in ihrer Freizeit erbracht.

11. Erklärung zu Interessenskonflikten

Ich, Ann-Kathrin Schieder, bin bei dem veterinärmedizinischen Diagnostiklabor LABOKLIN GmbH & Co. KG als Tierärztin in der mikrobiologischen Abteilung angestellt. Ein Interessenskonflikt ergibt sich hieraus nicht.

12. Selbständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Alle Ausführungen, die wörtlich oder inhaltlich aus anderen Schriften entnommen sind, habe ich als solche kenntlich gemacht. Diese Arbeit hat in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen und wurde bisher nicht veröffentlicht.

Berlin, den 13.11.2023

Ann-Kathrin Schieder