

Studie zur aktuellen Resistenzlage der okulären Mikroflora des Pferdes – geeignete Antibiotika zur Erstversorgung bei Konjunktivitis und Keratitis des Pferdes

Ann-Kathrin Schieder¹, Elisabeth Müller¹, Anton Heusinger¹ und Johanna C. Eule²

¹ LABOKLIN GmbH & Co. KG, Bad Kissingen

² Klinik für kleine Haustiere, Ophthalmologie, Freie Universität Berlin

Zusammenfassung: Pferde sind häufig von entzündlichen Augenerkrankungen betroffen. Eine bakterielle Beteiligung ist meist sekundär, kann den Krankheitsverlauf aber erheblich verkomplizieren. Daher ergibt sich die Notwendigkeit einer zielgerichteten lokalen Antibiotikatherapie. Ziel der Studie war, das aerobe Keimspektrum erkrankter Pferdeaugen und seine Resistenzlage abzubilden. Es wurden 844 Augentupfer von Pferden im Jahr 2018 bakteriologisch untersucht, die im Rahmen der Routinediagnostik eingesandt worden sind. Die Identifizierung der Bakterien erfolgte neben Beurteilung der Kulturmorphologie und Anwendung biochemischer Methoden ergänzend mittels Matrix-Assistierter Laser-Desorption-Ionisierung – Flugzeitanalyse Massenspektrometrie (MALDI-TOF). Die Resistenzbestimmung wurde im Mikrodilutionsverfahren nach der „Breakpoint“-Methode durchgeführt. Acht Prozent der Augentupfer ($n = 65/844$) waren bakteriologisch negativ. Bei 36 % der Abstriche ($n = 308/844$) wurde eine Mischkultur grampositiver und -negativer Keime nachgewiesen. Ausschließlich grampositives Wachstum zeigte sich bei 31 % ($n = 264/844$) – ausschließlich gramnegatives Wachstum bei 25 % ($n = 207/844$) der Abstriche. Signifikante Unterschiede gab es hierbei im saisonalen Vergleich. Insgesamt konnten 1510 Bakterienisolate angezüchtet werden. Die meisten Isolate gehörten zu den Familien der Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae und Bacillaceae. Weiterhin kamen Streptococcaceae, Moraxellaceae und Pseudomonadaceae häufig vor. Gegenüber den gramnegativen Isolaten ($n = 654$) erwies sich Enrofloxacin als *in vitro* am wirksamsten ($n = 625/654$), gefolgt von Gentamicin ($n = 620/654$) und Neomycin ($n = 618/654$). Bei den grampositiven Keimen ($n = 767$) waren die meisten Isolate gegenüber Florfenicol ($n = 713/767$), Enrofloxacin ($n = 710/767$) und Tetracyclin ($n = 679/767$) *in vitro* sensibel. Das Keimspektrum der Augenoberfläche kann sich bei Pferden aus vielen verschiedenen Bakterien zusammensetzen. Da sich diese in ihrem Resistenzverhalten teilweise deutlich unterscheiden, ist eine Antibiotigrammstellung anzuraten.

Schlüsselwörter: Pferd, Auge, Konjunktiva, Cornea, Mikrobiologie, Antibiotigramm

Study on the current resistance of the ocular microflora of the horse – suitable locally applicable antibiotics for the initial treatment of conjunctivitis and keratitis in the horse

Horses are frequently affected by ocular inflammatory diseases. In most cases, bacteria are secondary pathogens. However, bacterial infections can complicate the disease progression seriously. Bacteria can infiltrate the eye if it is damaged in any way making targeted local antibiotic treatment necessary to avoid secondary infections. The aim of this study was to determine the aerobic bacteria found in diseased equine eyes and the *in vitro* effectiveness of locally applicable antibiotics against the isolated bacteria. 844 swabs from the ocular surface of horses were cultured for aerobic bacteria in 2018. All swabs were submitted for routine veterinary diagnostics. Bacterial isolates were identified based on culture morphology, biochemical methods, and matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF). Antibiotic susceptibility testing was performed by microdilution using the breakpoint method with the following antibiotics: oxacillin, gentamicin, neomycin, kanamycin, enrofloxacin, tetracycline, florfenicol and polymyxin. In result no bacterial growth was observed in 8 % of the equine eye swabs ($n = 65/844$). A mixed culture of Gram-positive and Gram-negative bacteria was obtained from 36 % of the swabs ($n = 308/844$). Only Gram-positive bacteria were isolated from 31 % of the swabs ($n = 264/844$), while only Gram-negative bacteria were isolated from 25 % ($n = 207/844$). There were significant differences between the seasons: The majority of mixed cultures of Gram-negative and -positive bacteria and the lowest number of negative cultures were obtained in the autumn. Most of the negative samples were submitted in the winter. A total of 1510 bacterial isolates were obtained during the study. Most of the isolates belonged to the families Enterobacteriaceae, Staphylococcaceae, and Bacillaceae. Streptococcaceae, Moraxellaceae, and Pseudomonadaceae were also common. Antibiotic susceptibility testing was carried out with 1421 of the isolated bacteria. Enrofloxacin was the most effective antibiotic against the Gram-negative isolates ($n = 654/625$ susceptible to enrofloxacin), closely followed by gentamicin ($n = 620/654$) and neomycin ($n = 618/654$). Most of the Gram-positive isolates ($n = 767$) were sensitive to florfenicol ($n = 713/767$), enrofloxacin ($n = 710/767$) and tetracycline ($n = 679/767$). In conclusion a wide range of Gram-positive and -negative bacteria can be found on the ocular surface in horses. The great differences found in antibiotic resistance pattern between these bacterial strains in some cases highlights the need for susceptibility testing. Looking at the resistance of single bacterial species or bacterial families, the differences become even clearer. Streptococci, for example, have a natural resistance against aminoglycosides while methicillin-resistant staphylococci have a different resistance pattern than that of other Gram-positive bacteria. It is therefore more important to determine the resistance pattern of individual isolates than that of larger groups, e.g. Gram-negative or -positive bacteria. There are only three approved antibiotic compounds for local eye treatment for horses available in Germany. They contain either tetracycline or cloxacillin. A comparison of these two antibiotics showed that tetracycline has a broader spectrum of activity, while cloxacillin is mainly effective against Gram-positive bacteria. Tetracycline therefore appears to be a better choice for initiating treatment. Because of the lack of antibiotic compounds approved for use in horses, off-label use of drugs approved for use in other species or in humans is often necessary. According to the “Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV)”, veterinarians are required to perform antibiotic susceptibility testing for any off-label use of an antibiotic.

Keywords: horse, eye, conjunctiva, cornea, microbiology, antibiogram

Zitation: 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, 292–301; DOI 10.21836/PEM20210311

Korrespondenz: Ann-Kathrin Schieder, LABOKLIN GmbH & Co. KG, Steubenstraße 4, 97688 Bad Kissingen; schieder@laboklin.com

Eingereicht: 29. März 2021 | **Angenommen:** 21. April 2021

Einleitung

Pferde besitzen im Vergleich mit anderen Tierarten eine besonders große und prominente Augenoberfläche, die von Konjunktiva (Bindehaut) und Kornea (Hornhaut) gebildet wird. Die Entzündung der Bindehaut (Konjunktivitis) ist eine häufige Augenerkrankung beim Pferd. Setzt sich der Krankheitsprozess im Bereich der Hornhaut fort, kommt es zu einer Keratokonjunktivitis. Ist die Entzündung auf die Hornhaut begrenzt, spricht man von Keratitis. Klinische Symptome von Konjunktivitis und Keratitis können sein – die sogenannte „Abwehrtrias“: Lidkrampf (Blepharospasmus), Tränenfluss (Epiphora) und Lichtscheue (Photophobie), sowie Rötung (Hyperämie) und Ödematisierung der Bindehaut (Chemosis) (Brooks et al. 2017, Giuliano 2017).

Primär bakteriell bedingte Konjunktividen sind beim Pferd eher selten. Häufig sind allergische und irritative Prozesse (beispielsweise durch Staub, Pollenflug, Einstreu, Insekten, etc.) oder Traumata ursächlich für eine Bindehautentzündung. Traumen sind auch die häufigste Ursache für Keratitiden. Eine bakterielle Beteiligung ist in den meisten Fällen sekundär (Brooks 2010).

Die Augenoberfläche eines augengesunden Pferdes ist nicht steril. Vielmehr befindet sich auf dieser Schleimhautoberfläche eine Mikroflora, die sich aus Bakterien und Pilzen zusammensetzt (Andrew et al. 2003). Werden okuläre Strukturen durch Noxen vorgeschädigt, kann es zu einer Infiltration von Keimen der Standortflora oder durch eingebrachte pathogene Erreger kommen. Dadurch kann ein zunächst unkompliziertes Krankheitsgeschehen sekundär infiziert und verkompliziert werden (Gemensky-Metzler et al. 2005, McClellan 1997). Im Bereich der Hornhaut wäre dies beispielsweise die Entstehung einer eitrig-nekrotisierenden Keratitis aus einer infizierten Hornhautverletzung.

Da eine bakterielle Sekundärinfektion eine kosten- und zeitintensive Therapie erfordern kann, sollte bei Verdacht auf eine mikrobielle Verunreinigung nach Möglichkeit immer eine bakteriologische Kultur inklusive Antibiotogramm angefertigt werden (Giuliano 2017), so dass eine zielgerichtete und damit auch effektive antibiotische Therapie erfolgen kann. Auch die Verordnung über tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) verlangt in § 12c bei jeder Umwidmung eines Antibiotikums, sowie bei Anwendung von Fluorchinolonen oder Cephalosporinen der 3. & 4. Generation ein Antibiotogramm (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz 2018).

In vielen Fällen ist es jedoch nicht möglich, vor Therapiebeginn auf das Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung zu warten, da dieses Untersuchungsverfahren zeitaufwendig ist und i.d.R. 3–4 Werktagen dauert. In dieser Zeit kann sich eine bakterielle Infektion ohne Antibiotikaaanwendung weiter

ausbreiten und den weiteren Krankheitsverlauf verschlimmern. Das Risiko für das Auftreten von Komplikationen, wie beispielsweise der Verlust der Sehfähigkeit, erhöht sich damit erheblich (Gemensky-Metzler et al. 2005). Daher wird empfohlen, bei bakterieller Beteiligung initial ein lokal anwendbares Breitspektrumantibiotikum einzusetzen (Brooks 2010, Giuliano 2017) und es ggf. bei Therapieversagen nach dem Ergebnis von kultureller Untersuchung und Antibiotogramm zu wechseln (Sauer et al. 2003).

Die Auswahl der aktuell für das Pferd zugelassenen antibiotischen Augenpräparate ist gering. Lediglich zwei antibiotische Wirkstoffe in drei Präparaten sind momentan verfügbar. Fünf weitere Präparate sind für die Anwendung bei anderen Tierarten zugelassen (*Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittelanwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig* 2021). Als Folge dieses Therapienotstandes wird häufig auf humanmedizinische Augenpräparate zurückgegriffen – doch ist das immer notwendig?

Die vorliegende Studie soll zeigen, welche Bakterien bei entzündlichen Erkrankungen des Auges vorkommen und wie ihre Resistenzspektren aussehen.

Material und Methoden

Im Jahr 2018 wurden 844 Augentupfer von Pferden bakteriologisch untersucht, die im Rahmen der Routinediagnostik von in Deutschland praktizierenden Tierärzten an ein veterinärmedizinisches Untersuchungslabor (akkreditiert nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005) geschickt worden sind. Die Tupfer stammten von 785 verschiedenen Pferden.

Die Abstriche für die aerobe bakteriologische Erregeranzucht wurden i.d.R. in regulärem Transportmedium (Amies Medium mit Kohlezusatz oder Stuart Medium) versendet.

Der Versand der Abstriche erfolgte entweder auf dem Postweg (Dauer i.d.R. 1–2 Werktagen) oder per Kurier (Eintreffen des Untersuchungsmaterials i.d.R. am nächsten Tag).

Die Tupfer wurden in drei Fraktionen auf Columbia Agar mit Zusatz von defibriniertem Schaffblut (Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Oxoid GmbH, Wesel) und Endo-Agar (BD) ausgestrichen. Anschließend wurden sie für die Anreicherung in CaSo-Bouillon (Caseinpepton-Sojamehlpepton-Bouillon: Herstellung sowie Qualitätskontrolle nach Herstellerangaben inhouse, BD) verbracht. Die Nährböden wurden aerob bei 36 °C bebrütet. Nach 18–24 h wurden sie auf bakterielles Wachstum überprüft. Waren zu diesem Zeitpunkt keine Bakterienkolonien angewachsen, wurden die Platten für weitere 24 h bebrütet und anschließend erneut kontrolliert.

Das beimpfte Anreicherungsmedium wurde für 18–24 h bei 36 °C bebrütet. Anschließend wurde das Medium auf Columbia Agar (BD/Oxoid) und Endo-Agar (BD) ausgestrichen und die Nährböden bei 36 °C bebrütet. Auch diese Platten wurden nach 18–24 h abgelesen.

Die Identifizierung der Bakterien erfolgte neben der Beurteilung der Kulturmorphologie und biochemischen Methoden ergänzend mittels MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry; MALDI Biotyper, Bruker Daltonik GmbH, Bremen; Datenbanken: MALDI Biotyper Reference Library MBT 7311 MSP Library und Reference Library MBT 7854 MSP Library). Zur Detektion von methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) wurde Brilliance MRSA 2 Agar (Oxoid) verwendet.

Die Resistenzbestimmung der Bakterien wurde unter Zuhilfenahme des MERLIN-Micronaut System[®]s (MERLIN Gesellschaft für mikrobiologische Diagnostika mbH, Bornheim-Hersel, Deutschland) zur photometrischen Auswertung und Precision XS[®] Pipettierer (BioTek Instruments, Inc., Winooski, Vermont, U.S.) im Mikrodilutionsverfahren nach den Standards des CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) von Reinkulturen als Breakpoint-Verfahren durchgeführt (Clinical & Laboratory Standards Institute, 2015). Als Medium wurde Müller-Hinton-Bouillon (BD/Oxoid), bzw. Wilkins-Chalgren-Bouillon (für Streptokokken), verwendet. Da die Augentupfer im Rahmen der Routinediagnostik untersucht worden sind, wurde kein Antibiogramm erstellt, wenn dies vom einsendenden Tierarzt auf dem Untersuchungsauftrag aktiv abgewählt wurde. Wurde die gleiche Keimspezies bei demselben Pferd sowohl im rechten als auch im linken Auge nachgewiesen, erfolgte die Resistenztestung nur einmalig. Wenn verfügbar, wurden tierartspezifische Grenzwerte des Supplements Vet01 (3. Edition) des CLSI verwendet – so für den Wirkstoff Gentamicin für *Pseudomonas aeruginosa* und Enterobacteriaceae. Bei Fehlen von tierartspezifischen Grenzwerten wurde auf humanmedizinische Grenzwerte (Vet01-S03; Supplement M100, 28. Edition, human) zurückgegriffen (Clinical & Laboratory Standards Institute, 2018). War keinerlei Grenzwert vorhanden, wurde sich an Grenzwerten anderer Antibiotika, bzw. Bakterienfamilien orientiert.

Bakterielles Wachstum aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen

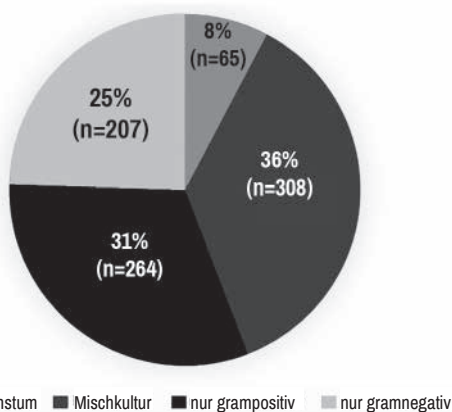


Abb. 1 Einordnung des aeroben Bakterienwachstums aus Tupferproben erkrankter Pferdeaugen (n=844) anhand des Gram-Verhaltens | Classification of the aerobic bacterial growth of diseased equine eyes (n=844) based on the results of Gram stain

Zu den 785 beprobten Pferden wurden Fragebögen an die einsendenden Tierarztpraxen per E-Mail oder Telefax versandt. Hierbei wurden neben Angaben zum Signalement des entsprechenden Pferdes, wie Rasse, Alter, Geschlecht, v.a. Informationen zu klinischem Befund, Therapie vor Probenentnahme, Art der Pferdehaltung, Impfstatus und eventuell erfolgten Klinikaufenthalten abgefragt.

Statistische Auswertung

Es erfolgte eine deskriptive Auswertung des aeroben Keimspektrums und der Sensitivität isolierter Bakterien gegenüber ausgewählten Antibiotika. Zum Vergleich des Keimwachstums zwischen den Jahreszeiten wurde der Chi-Quadrat Test durchgeführt. Verwendet wurde hierfür das Programm Microsoft[®] Excel[®] in der Version 2102.

Ergebnisse

Patienten

Es wurden 844 Augentupfer von 785 verschiedenen Pferden untersucht. Zu 240 Pferden lagen Informationen aus den verschickten Fragebögen vor. Neben den Angaben der betreuenden Tierärzte in den Fragebögen wurden auch die Informationen auf den Untersuchungsaufträgen herangezogen.

303 der untersuchten Pferde waren männlich, 309 weiblich, bei 173 Tieren wurde das Geschlecht nicht angegeben.

Das jüngste Tier der Studie war zum Zeitpunkt der Probenentnahme 10 Tage, das älteste Tier 45 Jahre alt. Insgesamt waren 11 Tiere unter einem Jahr, 12 Tiere über 30 Jahre alt. Von 316 Pferden war das Alter unbekannt.

Es war ein breites Rassespektrum vertreten, wobei die größte Gruppe von den Warmblütern gebildet wurde: 296 Warmblüter, 153 Kleinpferde und Ponys, 29 Vollblüter und 5 Kaltblüter. Bei 18 Pferden gehörten die Elterntiere verschiedenen Rassen an. Zu 284 Pferden lagen keine Informationen bezüglich der Rasse vor.

Keimspektrum

8% der Augentupfer (n=65/844) waren bakteriologisch negativ. Bei 92% (n=779/844) der Abstriche zeigte sich ein bakterielles Wachstum. Hier konnten pro Tupfer 1–6 Bakterienspezies isoliert werden. Insgesamt gab es 1510 Bakterienisolate.

Bei 36% der Proben (n=308/844) wurde eine Mischkultur grampositiver und gramnegativer Keime nachgewiesen. In 31% der Fälle (n=264/844) waren die detektierten Keime ausschließlich grampositiv, bei 25% (n=207/844) ausschließlich gramnegativ (Abb. 1).

Die detektierten Bakterien stammten aus 25 verschiedenen Familien. Die größte Gruppe wurde von den Enterobacteriaceae gebildet, gefolgt von Staphylococcaceae und Bacillaceae. Weiterhin kamen Streptococcaceae, Moraxellaceae und

Pseudomonadaceae häufig vor (Abb. 2). Insgesamt waren 55% (n = 832) der Bakterien grampositiv, 45% (n = 678) der Isolate gramnegativ.

Die meisten grampositiven Isolate gehörten zu den Gattungen *Staphylococcus* (n = 270/832), *Bacillus* (n = 260/832) und *Streptococcus* (n = 167/832). Bei den gramnegativen Keimen waren die Gattungen *Pantoea* (n = 267/678), *Pseudomonas* (n = 137/678) und *Acinetobacter* (n = 101/678) am stärksten vertreten (Tab.1).

Je nach Jahreszeit ist eine unterschiedliche Anzahl von Tupfern für die bakteriologische Untersuchung eingeschickt worden: Frühling n = 140, Sommer n = 241, Herbst n = 329, Winter n = 134.

Im saisonalen Vergleich der Art des Keimwachstums – eingeteilt in: kein Wachstum, ausschließlich gramnegativ, ausschließlich grampositiv und sowohl grampositives als auch gramnegatives Wachstum – gab es signifikante Unterschiede (Chi-Quadrat (9, n = 844)=22,97, p-Wert = 0,0063) (Abb. 3).

Tab.1 Zugehörigkeit aerober Bakterienisolate (n=1510) aus 844 Abstrichen erkrankter Pferdeaugen zu ihren Gattungen - die vorkommenden Bakteriengattungen wurden nach Anzahl ihrer Isolate absteigend sortiert. | Affiliation of the aerobic bacterial isolates (n=1510) from 844 swabs of diseased equine eyes to their genera - the occurring genera were sorted by the number of isolates in a descending order.

Gramnegative Gattungen	Anzahl Isolate (n=678)	Grampositive Gattungen	Anzahl Isolate (n=832)
<i>Pantoea</i>	267	<i>Staphylococcus</i>	270
<i>Pseudomonas</i>	137	<i>Bacillus</i>	260
<i>Acinetobacter</i>	101	<i>Streptococcus</i>	167
<i>Escherichia</i>	42	<i>Enterococcus</i>	41
<i>Moraxella</i>	39	<i>Pseudarthrobacter</i>	21
<i>Serratia</i>	15	<i>Aerococcus</i>	17
<i>Enterobacter</i>	13	<i>Corynebacterium</i>	10
<i>Actinobacillus</i>	12	<i>Glutamicibacter</i>	6
<i>Leclercia</i>	9	<i>Paenarthrobacter</i>	6
<i>Kosakonia</i>	4	<i>Paenibacillus</i>	6
<i>Stenotrophomonas</i>	4	<i>Arthrobacter</i>	4
<i>Advenella</i>	3	<i>Micrococcus</i>	4
<i>Myroides</i>	3	<i>Rothia</i>	4
<i>Pasteurella</i>	3	<i>Lactococcus</i>	3
<i>Rahnella</i>	3	<i>Weissella</i>	3
<i>Bordetella</i>	2	<i>Rhodococcus</i>	2
<i>Chryseobacterium</i>	2	<i>Exiguobacterium</i>	1
<i>Erwinia</i>	2	<i>Lactobacillus</i>	1
<i>Klebsiella</i>	2	<i>Leuconostoc</i>	1
<i>Massilia</i>	2	<i>Lysinibacillus</i>	1
<i>Neisseria</i>	2	<i>Macrococcus</i>	1
<i>Achromobacter</i>	1	<i>Marinilactibacillus</i>	1
<i>Aeromonas</i>	1	<i>Pseudoglutamicibacter</i>	1
<i>Alcaligenes</i>	1	<i>Solibacillus</i>	1
<i>Citrobacter</i>	1		
<i>Hämophilus</i>	1		
<i>Morganella</i>	1		
<i>Proteus</i>	1		
<i>Providencia</i>	1		
<i>Psychrobacter</i>	1		
<i>Raoultella</i>	1		
<i>Sphingobacterium</i>	1		

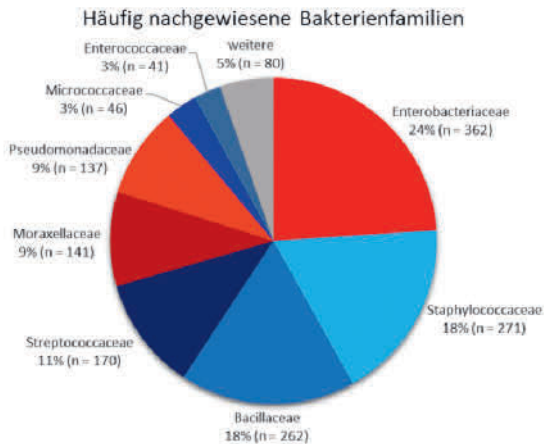


Abb. 2 Zugehörigkeit aerober Bakterienisolate (n=1510) aus 844 Abstrichen erkrankter Pferdeaugen zu ihren Familien: Die Grafik zeigt die am häufigsten nachgewiesenen Bakterienfamilien. 95% der Keime stammten aus 8 verschiedenen Familien. | *Affiliation of the aerobic bacterial isolates (n=1510) from 844 swabs of diseased equine eyes to their families: The chart shows the most frequently identified bacterial families. 95% of the bacteria derived from 8 different families.*

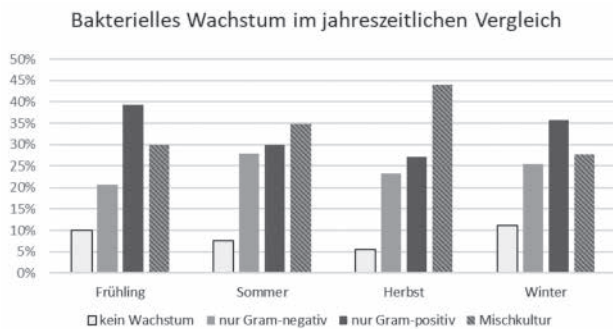


Abb. 3 Jahreszeitliche Unterschiede des bakteriellen Wachstums bei Abstrichen erkrankter Pferdeaugen in % der pro Jahreszeit eingesandten Tupfer (Frühlung n=140, Sommer n=241, Herbst n=329, Winter n=134) | *Seasonal differences in bacterial growth of diseased equine eyes in % of the number of sent swabs per season (spring n=140, summer n=241, autumn n=329, winter n=134)*

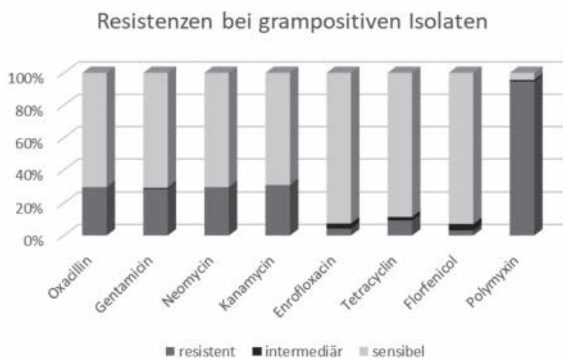


Abb. 4 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei grampositiven Isolaten (n=767) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen. Anteil sensibler Isolate: Florfenicol 93% (n=713); Enrofloxacin 92,6% (n=710); Tetracyclin 88,5% (n=679); Gentamicin 70,5% (n=541); Oxacillin 70,4% (n=540); Neomycin 70,1% (n=538); Kanamycin 68,8% (n=528); Polymyxin 4,3% (n=33) | *Percentage in vitro effectiveness of antibiotics against Gram-positive isolates (n=767) from swabs of diseased equine eyes. Portion of sensitive isolates: florfenicol 93% (n=713); enrofloxacin 92.6% (n=710); tetracycline 88.5% (n=679); gentamicin 70.5% (n=541); oxacillin 70.4% (n=540); neomycin 70.1% (n=538); kanamycin 68.8% (n=528); polymyxin 4.3% (n=33)*

Ergebnisse des Resistenztests

Von 1421 Bakterienisolaten wurden Antibiotogramme erstellt. Folgende Antibiotika standen im Testpanel des Labors zur Verfügung und sind gleichzeitig als Wirkstoffe in aktuell verfügbaren Augenpräparaten enthalten: Oxacillin (stellvertretend für Cloxacillin (*Clinical & Laboratory Standards Institute, 2015*)), Gentamicin, Neomycin, Kanamycin, Enrofloxacin (stellvertretend für Ofloxacin (*Feßler et al. 2017*)), Tetracyclin, Florfenicol (stellvertretend für Chloramphenicol (*Werckenthin 2005*)) und Polymyxin.

Das Resistenzverhalten grampositiver (Abb. 4) und -negativer Bakterien (Abb. 5) lässt sich den beigefügten Grafiken entnehmen.

Zusätzlich wurde das Ergebnis der Resistenztestung ausgewählter Bakterienfamilien, bzw. -spezies separat ausgewertet. Dies sind: *Staphylococcus aureus*, β -hämolisierende Streptokokken sowie die Familien der Moraxellaceae, Pseudomonadaceae und Enterobacteriaceae.

Staphylococcus aureus

Bei 28% (n=9/32) der Isolate von *Staphylococcus aureus* lag eine Methicillin-Resistenz vor. Die meisten Isolate waren mit 71,9% gegenüber Neomycin (n=23/32) und Florfenicol (n=23/32) sensibel, gefolgt von Kanamycin mit 68,8% (n=22/32). Bei Oxacillin, Gentamicin und Enrofloxacin waren jeweils 65,6% (n=21/32) der Isolate sensibel. Tetracyclin erwies sich mit 53,1% (n=17/32) in vitro als weniger wirksam. Alle Isolate waren resistent gegenüber Polymyxin (Abb. 6).

β -hämolisierende Streptokokken

Die Gruppe der β -hämolisierenden Streptokokken umfasste *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, sowie die in den Befunden als β -hämolisierende Streptokokken bezeichneten Isolate. Die meisten Isolate verhielten sich sensibel gegenüber Oxacillin und Enrofloxacin mit 98,6% (n=71/72). Mit 97,2% (n=70/72) folgte Florfenicol. 93,1% (n=67/72) waren sensibel gegenüber Tetracyclin. Bei den Aminoglykosiden wurden im Antibiotogramm deutlich weniger Isolate als sensibel getestet: 5,6% (n=4/72) bei Kanamycin, 4,2% (n=3/72) bei Neomycin und 2,8% (n=2/72) bei Gentamicin. Keines der Isolate war sensibel gegenüber Polymyxin (Abb. 7).

Moraxellaceae

Die Familie der Moraxellaceae umfasste die Gattungen *Acinetobacter* und *Moraxella*. 97,1% (n=134/138) der Isolate waren sensibel gegenüber Neomycin. Bei Kanamycin und Enrofloxacin waren es 95,7% (n=132/138), bei Gentamicin 94,9% (n=131/138), bei Tetracyclin 86,2% (n=119/138), bei Florfenicol 78,3% (n=108/138) und bei Polymyxin 65,2% (n=90/138). Die wenigsten Isolate waren im Antibiotogramm mit 23,2% (n=32/138) gegenüber Oxacillin sensibel (Abb. 8).

Pseudomonadaceae

Die größte In vitro-Wirksamkeit in der Familie der Pseudomonaden zeigte Gentamicin mit 92,6% (n=125/135), gefolgt von

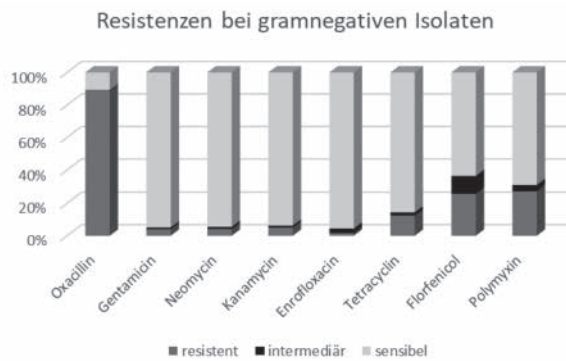


Abb. 5 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei gramnegativen Isolaten (n=654) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen. Anteil sensibler Isolate: Enrofloxacin 95,6% (n=625); Gentamicin 94,8% (n=620); Neomycin 94,5% (n=618); Kanamycin 93,7% (n=613); Tetracyclin 85,6% (n=560); Polymyxin 69,1% (n=452); Florfenicol 63,6% (n=416); Oxacillin 10,9% (n=71) | Percentage in vitro effectiveness of antibiotics against Gram-negative isolates (n=654) from swabs of diseased equine eyes. Portion of sensitive isolates: enrofloxacin: 95.6% (n=625); gentamicin 94.8% (n=620); neomycin 94.5% (n=618); kanamycin 93.7% (n=613); tetracycline 85.6% (n=560); polymyxin 69.1% (n=452); florfenicol 63.6% (n=416); oxacillin 10.9% (n=71)

Enrofloxacin mit 90,4% (n = 122/135). Eine ähnliche Resistenzlage zeigte sich bei Neomycin mit 88,9% (n = 120/135) und Kanamycin mit 85,9% (n = 116/135). 78,5% (n = 106/135) der Isolate waren sensibel gegenüber Tetracyclin – 63,0% (n = 85/135) gegenüber Polymyxin. Florfenicol hat mit 28,9% (n = 39/135) eine deutlich geringere In vitro-Wirksamkeit. Die meisten Resistenzen gab es bei Oxacillin. Hier waren lediglich 3,7% (n = 5/135) der Isolate sensibel (Abb. 9).

Enterobacteriaceae

Folgende Gattungen der Familie der Enterobacteriaceae waren in der Auswertung der Antibiotogramme enthalten: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Kosakonia*, *Leclercia*, *Morganella*, *Pantoea*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella* und *Serratia*. Gegenüber den Aminoglykosiden zeigte sich in vitro eine hohe Sensitivität: Neomycin 97,7% (n = 338/346), Kanamycin 97,4% (n = 337/346), Gentamicin 96,5% (n = 334/346) – so auch bei Enrofloxacin 97,1% (n = 336/346) als Vertreter der Fluorchinolone. 87,9% (n = 304/346) der Isolate waren sensibel gegenüber Tetracyclin. Bei Polymyxin waren es 75,1% (n = 260/346) und bei Florfenicol 70,2% (n = 243/346). Die geringste In vitro-Wirksamkeit zeigte sich bei Oxacillin mit 2,6% (n = 9/346) sensibler Isolate (Abb. 10).

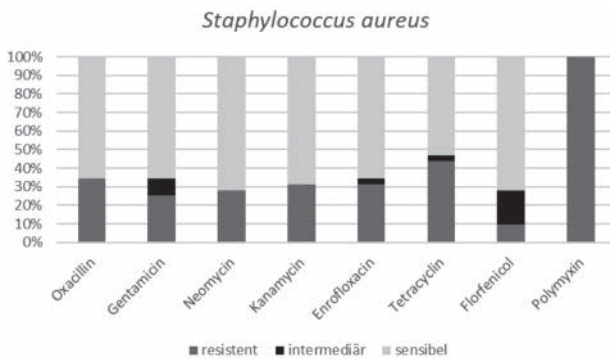


Abb. 6 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei Isolaten von *Staphylococcus aureus* (n=32) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen | Percentage in vitro effectiveness of selected antibiotics against isolates of *Staphylococcus aureus* (n=32) from swabs of diseased equine eyes

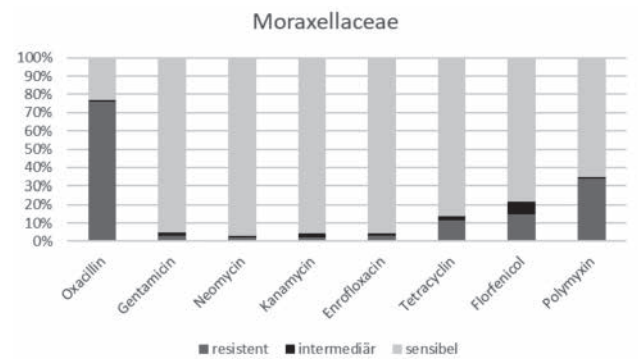


Abb. 8 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei Isolaten der Familie der Moraxellaceae (n=138) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen | Percentage in vitro effectiveness of selected antibiotics against isolates of the family of Moraxellaceae (n = 138) from swabs of diseased equine eyes

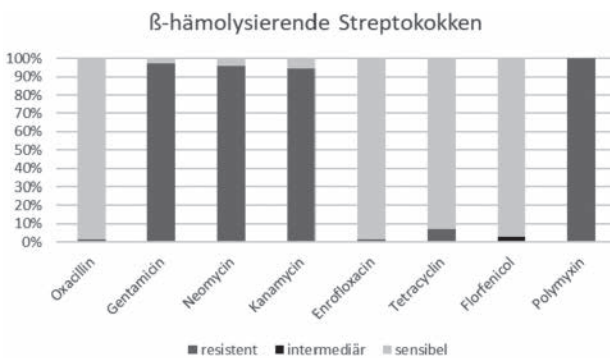


Abb. 7 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei Isolaten β-hämolisierender Streptokokken (n=72) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen | Percentage in vitro effectiveness of selected antibiotics against isolates of β-hemolytic streptococci (n=72) from swabs of diseased equine eyes

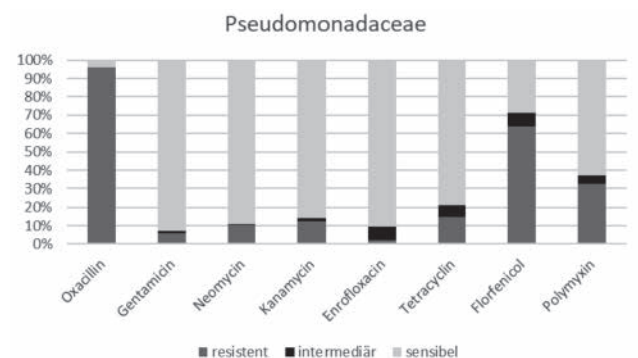


Abb. 9 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei Isolaten der Familie der Pseudomonadaceae (n=135) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen. | Percentage in vitro effectiveness of selected antibiotics against isolates of the family of pseudomonadaceae (n = 135) from swabs of diseased equine eyes

Diskussion

Keimspektrum

92% (n = 779/844) der untersuchten Proben waren bakteriologisch positiv. Diese Zahl deckt sich mit einer Studie aus den Vereinigten Staaten (Gemensky-Metzler et al. 2005). Bei einer Studie aus Australien lag der Anteil der positiven Proben höher (Hampson et al. 2018), bei einer Studie aus Polen niedriger (Zak et al. 2018). Deutlich weniger positive Proben lagen bei einer Studie aus dem Vereinigten Königreich vor (Johns et al. 2011). Im Gegensatz zu den vorgenannten Studien, bei denen gesunde Tiere untersucht worden sind, wurden bei der vorliegenden Arbeit Tupfer von Pferden mit Augenerkrankungen ausgewertet, die aus dem Einsendematerial eines Diagnostiklabors stammten. Da sich auch auf der Oberfläche des gesunden Pferdeauges Bakterien und Pilze befinden (Andrew et al. 2003), würde man stets eine positive Bakterienkultur erwarten. Methodische Gründe für ausbleibendes bakterielles Wachstum könnten u.a. Abstrichentnahmen unter/nach Antibiotikatherapie oder aus stark eitrigen Prozessen, verlängerte Zeitspannen bis zum Eintreffen im Labor und Lagerung/Transport bei ungünstigen Außentemperaturen sein – so gibt es bei der Betrachtung der Jahreszeiten im Winter die meisten bakteriologisch negativen Ergebnisse.

In den Studien, die sich mit der bakteriellen Mikroflora des gesunden Pferdeauges beschäftigt haben, war die Mehrzahl der Isolate grampositiv (Andrew et al. 2003, Araghi-Sooreh et al. 2014, Cattabiani et al. 1976, Gemensky-Metzler et al. 2005, Hampson et al. 2018, Johns et al. 2011, Moore et al. 1988, Zak et al. 2018). Auch in dieser Arbeit war dies mit 55% grampositiver Isolate der Fall – trotz Betrachtung erkrankter Augen. In den vorhergehenden Studien konnten neben der Gattung *Staphylococcus*, die in jeder der vorgenannten Studien häufig vorkam, auch die Gattungen *Corynebacterium* (Andrew et al. 2003, Cattabiani et al. 1976, Hampson et al. 2018, Moore et al. 1988), *Bacillus* (Andrew et al. 2003, Araghi-Sooreh et al. 2014, Cattabiani et al. 1976, Gemensky-Metzler et al. 2005, Hampson et al. 2018, Moore et al. 1988), *Micrococcus* (Cattabiani et al. 1976, Johns et al. 2011), *Streptomyces* (Gemensky-Metzler et al. 2005, Moore et al. 1988) und *Streptococcus* (Cattabiani et al. 1976, Gemensky-Metzler et al. 2005) häufig isoliert werden. Größen-

teils deckt sich dies mit den Ergebnissen aus der vorliegenden Studie. Die Gattung mit den meisten Isolaten war auch hier die Gattung *Staphylococcus*. Weiterhin wurden vielfach Keime der Gattungen *Bacillus* und *Streptococcus* isoliert. *Corynebakterien* und | kamen vor, jedoch nur mit wenigen Isolaten. Lediglich die Gattung *Streptomyces* konnte gar nicht nachgewiesen werden. Gramnegative Mikroorganismen konnten ebenfalls aus Tupfern gesunder Pferdeaugen angezüchtet werden, wenn auch seltener. Diese gehörten vor allem zu den Gattungen *Moraxella* (Andrew et al. 2003, Cattabiani et al. 1976, Gemensky-Metzler et al. 2005, Moore et al. 1988, Zak et al. 2018), *Acinetobacter* (Cattabiani et al. 1976, Gemensky-Metzler et al. 2005, Johns et al. 2011, Moore et al. 1988) und *Neisseria* (Cattabiani et al. 1976, Moore et al. 1988).

Lagen Keratitiden vor, gehörten die isolierten Bakterien am häufigsten zu den grampositiven Gattungen *Streptococcus* und *Staphylococcus* (Keller und Hendrix 2005, Moore et al. 1995, Mustikka et al. 2020, Sauer et al. 2003), sowie zu den gramnegativen Gattungen *Pseudomonas* (Keller und Hendrix 2005, Moore et al. 1995, Moore et al. 1983, Sauer et al. 2003) und *Acinetobacter* (Moore et al. 1995, Moore et al. 1983) und zur Familie der Enterobacteriaceae (Moore et al. 1995, Moore et al. 1983).

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie passen dazu. Die meisten Isolate gehörten zur Familie der Enterobacteriaceae (siehe Abb. 2). Am häufigsten sind die Gattungen *Staphylococcus*, *Pantoea*, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* und *Acinetobacter* vertreten (Tabelle 1).

Die Identifizierung der Keime beruhte in dieser Studie ausschließlich auf dem Resultat kultureller Untersuchungstechniken unter aeroben Bedingungen. Somit konnten längst nicht alle im Untersuchungsmaterial vorhandenen Bakterien detektiert werden, sondern lediglich ein kleiner Teil davon. So lassen sich etwa nur 1–10% der vorhandenen Bakterien kulturell erfassen (Amann et al. 1995). Dass sich das Mikrobiom des Pferdeauges tatsächlich aus wesentlich mehr Keimen zusammensetzt als kulturell nachweisbar, zeigen Studien, in denen Next-Generation Sequencing angewandt worden ist (LaFrentz et al. 2020, Scott et al. 2019).

Im Gegensatz zu einer Studie aus Florida (Andrew et al. 2003), bei der sich die okuläre Keimflora augengesunder Pferde zwischen den Jahreszeiten nicht signifikant unterschied, gab es im jahreszeitlichen Vergleich der Art des Keimwachstums in der vorliegenden Studie Unterschiede. So konnten im Herbst die meisten Mischkulturen aus grampositiven und gramnegativen Erregern nachgewiesen werden, während der Anteil der Kulturen mit ausbleibendem Wachstum hier gleichzeitig am geringsten war. Im Winter war der Anteil der negativen Kulturen erwartungsgemäß am größten. Im Vergleich zu Florida sind die saisonalen Unterschiede in Mitteleuropa deutlicher. Zudem wurden in der vorliegenden Studie Tupfer von Pferden mit Augenerkrankungen ausgewertet. Wollte man den Einfluss der Jahreszeiten gezielt untersuchen, müsste man hierzu ähnlich zur Studie aus Florida, augengesunde Pferde untersuchen und dieselben Tiere im Jahresverlauf beproben, um andere Einflussfaktoren zu minimieren. Die Anzahl der pro Jahreszeit eingesandten Tupfer für die bakteriologische Untersuchung lässt die Vermutung zu, dass die meisten entzündlichen Augenerkrankungen beim Pferd

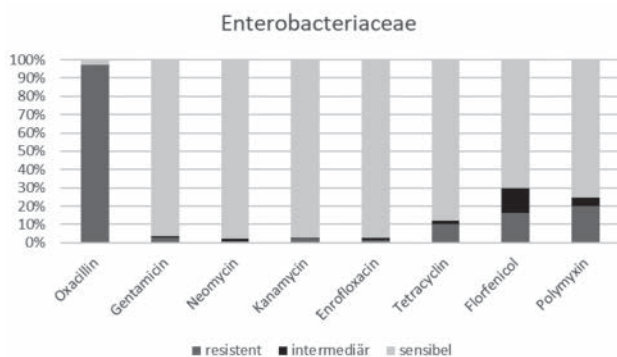


Abb. 10 Prozentuale In-vitro-Wirksamkeit einiger Antibiotika bei Isolaten der Familie der Enterobacteriaceae (n=346) aus Tupfern erkrankter Pferdeaugen | Percentage in vitro effectiveness of selected antibiotics against isolates of the family of Enterobacteriaceae (n=346) from swabs of diseased equine eyes

unter mitteleuropäischen Bedingungen (kühlgemäßigte Zone) im Herbst, gefolgt vom Sommer auftreten. Auch bei einer Studie aus Finnland (kaltgemäßigte Zone) fanden sich die meisten Fälle infektiöser Keratitiden im Sommer und Herbst (Mustikka et al. 2020). Erklären lässt sich dies auch mit dem jahreszeitlich unterschiedlichen Auftreten bestimmter Vektoren, wie beispielsweise Fliegen oder Staub. Diese spielen im Winter eine geringere Rolle als im Sommer (Gemensky-Metzler et al. 2005).

Resistenzen

Derzeit sind in Deutschland für das Pferd drei antibiotische Präparate zur Anwendung am Auge zugelassen: Cepemycin® (CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH) und Ophthocycline® (Dechra Veterinary Products Deutschland GmbH) mit dem Wirkstoff Chlortetracyclinhydrochlorid und Vetoscon® (Zoetis Deutschland GmbH) mit Cloxacillin-Benzathin als Wirkstoff. Weitere Antibiotika, die in Augenpräparaten enthalten und für andere Tierarten zugelassen sind: Chloramphenicol, Neomycin, Fusidinsäure und Gentamicin (Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittel Anwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig 2021).

Eine Übersicht über die aktuell in Deutschland verfügbaren Augenpräparate für die Anwendung am Tier bietet Tabelle 2. Weiterhin kommen auch häufig humanmedizinische Präparate zum Einsatz, die beispielsweise folgende Wirkstoffe enthalten: Kanamycin, Tobramycin, Ofloxacin, Polymyxin B, Gramicidin, Bacitracin.

Im Unterschied zu anderen Studien, bei denen der Agardiffusionstest angewandt worden ist (Hampson et al. 2018, Johns et al. 2011, Keller und Hendrix 2005, Sauer et al. 2003), wurde in der vorliegenden Studie die Resistenztestung im Mikrodilutionsverfahren durchgeführt. Zur besseren Übersicht wurden Grafiken zur Resistenzlage grampositiver (Abb. 4) und gramnegativer Keime (Abb. 5) erstellt, so dass sich Unterschiede klar erkennen lassen. Allerdings sind in diesen Auswertungen sämtliche Keime erfasst, für die ein Antibio-gramm erstellt worden ist – auch diejenigen, die auf der Augenoberfläche im Allgemeinen als weniger pathogen gelten. So kommt beispielsweise *Bacillus spp.* in vielen Studien regelmäßig auf der Augenoberfläche gesunder Pferde vor (Andrew et al. 2003, Gemensky-Metzler et al. 2005, Moore et al. 1988). Auch *Lactococcus spp.* wird i.d.R. nicht als pathogen eingestuft. Trotzdem kann das Wissen um das unterschiedliche Resistenzverhalten grampositiver und -negativer Keime hilfreich sein, wenn ein Antibiotikum zur Erstbehandlung nach Gramfärbung ausgewählt werden soll (Matthews 2009).

Vergleicht man die Resistenzlage der detektierten grampositiven und -negativen Keime dieser Arbeit mit dem Ergebnis der Resistenztestung einer australischen Studie (Hampson et al. 2018), in der gesunde Pferdeaugen beprobt worden sind, gibt es nur geringe Unterschiede zwischen der getesteten In vitro-Wirksamkeit gegenüber den Antibiotika, die in beiden Studien getestet worden sind. Dies waren: Chloramphenicol, Cloxacillin, Gentamicin, Neomycin, Ofloxacin und Tetracyclin. So waren in beiden Studien > 90% der grampositiven Keime gegenüber Chloramphenicol (Florfenicol) und Ofloxacin (Enrofloxacin) sensibel. Unterschiede ergaben sich bei den Aminoglykosiden. Während bei Hampson et al. die Wirksamkeit von Neomycin auch über 90% lag und bei Gentamicin gegenüber den grampositiven Bazillen und Coccobazillen ebenso, waren es in der vorliegenden Studie nur > 70% der Isolate, die sensibel waren. Im Resistenzvergleich der gramnegativen Isolate waren in beiden Studien Gentamicin, Neomycin und Ofloxacin (Enrofloxacin) hochwirksam – Tetracyclin hingegen nur in der australischen Studie.

Klinisch relevanter sind die Auswertungen der Antibio-gramme, die bestimmte Keimspezies oder -familien separat abbilden, die bekanntermaßen an infektiösen Krankheitsgeschehen des Auges beteiligt sein können. Für die vorliegende Studie wurden daher folgende Keime ausgewählt: β -hämolisierende Streptokokken, *Staphylococcus aureus*, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae und Enterobacteriaceae.

Zur Therapie β -hämolisierender Streptokokken sind nach dem In vitro-Ergebnis der vorliegenden Studie Cloxacillin, Ofloxacin, Chloramphenicol und Tetracyclin geeignet. Aufgrund der intrinsischen Resistenzen sind Aminoglykoside (Krause et al. 2016) und Polymyxin hingegen nicht erfolgversprechend. Diese Ergebnisse decken sich weitgehend mit einer Arbeit, die u.a. das Resistenzverhalten von *Streptococcus equi* untersucht hat (Brooks et al. 2000) – wenn auch nicht alle getesteten Wirkstoffe beider Studien übereinstimmten. Einzig bei Enrofloxacin gab es Differenzen. So waren in der vorliegenden Studie alle Isolate bis auf eines sensibel, in der vorgenannten Studie hingegen verhielten sich die meisten Isolate intermediär. Eine Studie aus Finnland untersuchte ebenfalls die antimikrobielle Sensitivität von *Strep. equi subsp. zoepidemicus*. Hier waren nur < 60% der Isolate empfindlich gegenüber Tetracyclin, aber gegenüber Gentamicin 100% (Mustikka et al. 2020). Allerdings war die Zahl der getesteten Isolate nur sehr gering.

Von Oxacillin als Leitantibiotikum der Isoxazolyl-Penicilline kann das Resistenzverhalten von Cloxacillin abgeleitet werden (Clinical & Laboratory Standards Institute 2015). Zurzeit gibt es für

antibiotischer Wirkstoff	Präparate	zugelassen für
Chlortetracyclinhydrochlorid	Cepemycin®, Ophthocycline®	Pferd, Hund, Katze (Cepemycin® + Rind)
Cloxacillin-Benzathin	Vetoscon®	Pferd, Rind, Schaf, Hund, Katze
Chloramphenicol	Cefenicol®, Cefenidex®	Hund, Katze
Neomycinsulfat	Dermamycin Augencreme®	Hund, Katze
Fusidinsäure	Isathal®	Hund
Gentamicin	Soligental®	Hund, Katze

Tab. 2 Antibiotische Wirkstoffe, die in Augenpräparaten lokal zum Einsatz kommen und für die Anwendung am Tier in Deutschland zugelassen sind (Vetidata, Stand: 03/2021) | Antibiotic agents that are used locally in eye preparations being approved for animals in Germany (Vetidata, current state: 03/2021)

das Pferd ein zugelassenes Präparat für die Anwendung am Auge mit Cloxacillin als Wirkstoff. Die In vitro-Wirksamkeit unterscheidet sich teilweise stark zwischen den Bakterienfamilien. Das Wirkspektrum von Cloxacillin sind grampositive Keime.

Bei 28% der Isolate von *Staphylococcus aureus* lag eine Methicillin/Oxacillin-Resistenz vor. Dieser Anteil passt zu einer Studie aus Italien, die die Keimflora der Konjunktiva augengesunder Esel untersucht hat. Hier waren 26,9% aller Staphylokokken-Isolate Methicillin/Oxacillin-resistent (Foti et al. 2013).

Aminoglykoside werden häufig zur topischen Therapie des Auges eingesetzt. Für Hund und Katze ist ein lokal anzuwendendes Präparat mit Gentamicin als Wirkstoff zugelassen. Gentamicin war hochwirksam (>90%) bei gramnegativen Isolaten, bei grampositiven Isolaten war die In vitro-Wirksamkeit geringer. Ähnlich verhielt es sich mit Neomycin und Kanamycin. Da Streptokokken eine natürliche Resistenz gegenüber Aminoglykosiden besitzen (Krause et al. 2016), lag hier der Anteil empfindlicher Isolate bei unter 6%.

Enrofloxacin zeigte sich als Leitantibiotikum der Fluorchinolone sowohl bei den grampositiven als auch bei den gramnegativen Isolaten als hochwirksam. Das Resistenzverhalten anderer Fluorchinolone kann von Enrofloxacin abgeleitet werden (Feßler et al. 2017). Momentan ist kein für Tiere zugelassenes Augenpräparat verfügbar, das ein Fluorchinolon enthält. Hier müssen ggf. Humanpräparate, beispielsweise mit Ofloxacin als Wirkstoff, umgewidmet werden. Ofloxacin steht auf der Positivliste für Equiden, d.h. es darf auch bei Schlachtequiden eingesetzt werden, sofern die Anwendung im Equidenpass dokumentiert und eine Wartezeit von mindestens 6 Monaten eingehalten wird (Europäische Kommission 2013).

88,5% der getesteten grampositiven Isolate waren Tetracyclin gegenüber sensibel. Bei den gramnegativen Keimen waren es 85,6%. Hochwirksam war Tetracyclin bei Streptokokken. Momentan sind zwei Präparate für die Anwendung am Pferdeauge zugelassen.

Florfenicol war hochwirksam bei den grampositiven Erregern, während nur 63,6% der gramnegativen Keime sensibel waren. Bei den Pseudomonaden waren weniger als 30% der Isolate empfindlich. Aktuell gibt es zwei Präparate, die für die Anwendung bei Hund und Katze zugelassen sind und Chloramphenicol als Antibiotikum enthalten. Bei Schlachtequiden darf Chloramphenicol nicht angewandt werden. Bei der Anwendung ist zu beachten, dass beim Menschen durch Kontakt mit Chloramphenicol eine aplastische Anämie ausgelöst werden kann. Daher sollte Hautkontakt unbedingt vermieden werden (Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittel Anwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig, 2021). Florfenicol und Chloramphenicol gehören beide zur Gruppe der Phenicol. Sie weisen aber Unterschiede in ihrer chemischen Struktur auf, weshalb sie nicht 1:1 voneinander abgeleitet werden können. Liegt eine Resistenz der Bakterien gegen Florfenicol vor, sind diese allerdings auch resistent gegenüber Chloramphenicol, daher funktioniert in diesem Fall die Ableitung. Andersherum ließe eine Resistenz gegenüber Chloramphenicol aber nicht zwangsläufig auf eine Resistenz gegenüber Florfenicol schließen (Werckenthin et al. 2005).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass von den beiden Wirkstoffen Cloxacillin und Tetracyclin, von denen es für das Pferd zugelassene Augenpräparate gibt, Tetracyclin das breitere Wirkspektrum besitzt. Aus diesem Grund eignet es sich – in Fällen, in denen nicht auf das Ergebnis der Bakteriologie inklusive Resistenztests gewartet werden kann – für eine Erstversorgung eher. Cloxacillin hat ein grampositives Wirkspektrum. Auf der nächsten Stufe der Umwidnungskaskade stehen Präparate, die für andere Tierarten zugelassen sind. Dies sind Gentamicin, Neomycin, Chloramphenicol und Fusidinsäure. Beide Aminoglykoside zeigten – abgesehen von β -hämolyzierenden Streptokokken und *Staphylococcus aureus* – eine gute In vitro-Wirksamkeit. Gegenüber Florfenicol verhielten sich, stellvertretend für Chloramphenicol, mehr grampositive Keime sensibel als gramnegative. Fusidinsäure wurde in der vorliegenden Studie nicht getestet. Bekannt ist jedoch, dass gramnegative Bakterien über eine natürliche Resistenz gegenüber diesem Wirkstoff verfügen. Umgekehrt verhält es sich mit Polymyxin, für das kein tiermedizinisches Augenpräparat verfügbar ist – hier gehören grampositive Keime nicht zum Wirkspektrum. Enrofloxacin war, ausgenommen *Staphylococcus aureus*, in vitro hochwirksam. Auch gibt es derzeit kein zugelassenes Tierarzneimittel für die Anwendung am Auge mit Enrofloxacin als Antibiotikum. Hier muss – wenn notwendig – nach Umwidmung auf humanmedizinische Präparate, z.B. mit Ofloxacin als Wirkstoff, zurückgegriffen werden.

Die Auswertung zeigt, dass Keimidentifizierung und anschließende Anfertigung von Antibioogrammen für eine effektive Antibiotikatherapie notwendig sind, da sich die Resistenzlagen zwischen den Bakterienfamilien teilweise stark unterscheiden. Beispielsweise sind die sonst häufig hochwirksamen Aminoglykoside aufgrund natürlicher Resistenzen bei Streptokokken unwirksam. Ein weiteres Beispiel stellt Cloxacillin dar, dessen Einsatz sich bei Vorliegen von gramnegativen Keimen aufgrund der Resistenzlage nicht empfiehlt. Einschränkend muss allerdings angemerkt werden, dass die angewandten Grenzwerte für die Bewertung der Resistenzlage der Antibiotika für die systemische Anwendung gedacht sind. Es gibt derzeit keine Grenzwerte für die topische Anwendung. Es ist daher unklar, inwieweit die Ergebnisse auf die lokale Anwendung am Auge tatsächlich übertragbar sind. Das Heranziehen der aktuell verfügbaren systemischen Grenzwerte ist aber momentan die einzige Möglichkeit, Aussagen über das Resistenzverhalten treffen zu können. Bleibt zu hoffen, dass zukünftig auch auf Grenzwerte für topische Anwendungen zurückgegriffen werden kann.

Auch aus rechtlicher Sicht ist die Erstellung eines Antibioogramms nach anerkannten Verfahren erforderlich. Dies setzt eine Isolierung des bakteriellen Erregers in Reinkultur voraus. Da es für die Tierart Pferd lediglich drei zugelassene Präparate für die lokale Anwendung am Auge gibt, ergeben sich häufig Umwidmungen. Hierbei besteht eine Antibioogrammpflicht. Laut TÄHAV erfordern die Umwidmung eines Antibiotikums, sowie die Anwendung von Cephalosporinen der 3. und 4. Generation oder von Fluorchinolonen einen Resistenztest (Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz, 2018). Unabhängig von den rechtlichen Rahmenbedingungen sollte eine antibakterielle Therapie sich stets auch an den „Leitlinien für den sorgfältigen Umgang mit antibakteriell wirksamen Tierarzneimitteln“ orientieren. Weiterhin gilt zu bedenken, dass die topische Anwendung antibiotischer Augen-

präparate prädisponierend für Pilzinfektionen sein kann (Andrew et al. 1998) – ein weiterer Grund, verantwortungsvoll und effizient mit ihnen umzugehen.

Interessenkonflikt

Die Autoren Heusinger und Schieder sind Mitarbeiter, die Autorin Müller Geschäftsführerin von LABOKLIN.

Literatur

- Amann R. I., Ludwig W., Schleifer K.-H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. rev.* 59, 143–169.
- Andrew S. E., Brooks D. E., Smith P. J., Gelatt K. N., Chmielewski N. T., Whittaker C. J. (1998) Equine ulcerative keratomycosis: visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987–1996). *Equine Vet. J.* 30, 109–116
- Andrew S. E., Nguyen A., Jones G. L., Brooks D. E. (2003) Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. *Vet. Ophthalmol.* 6, 45–50
- Araghi-Sooreh A., Navidi M., Razi M. (2014) Conjunctival Bacterial and Fungal Isolates in Clinically Healthy Working Horses in Iran. *Kafkas Univ. Vet. Fakult. Dergisi* 20, 625–627; DOI 10.9775/kvfd.2013.10649
- Brooks D. E. (2010) Equine conjunctival diseases: A commentary. *Equine Vet. Educ.* 22, 382–386; DOI doi:10.1111/j.2042-3292.2010.00097.x
- Brooks D. E., Andrew S. E., Biros D. J., Denis H. M., Cutler T. J., Strubbe D. T., Gelatt K. N. (2000) Ulcerative keratitis caused by beta-hemolytic *Streptococcus equi* in 11 horses. *Vet. Ophthalmol.* 3, 121–125; DOI 10.1046/j.1463-5224.2000.00120.x
- Brooks D. E., Matthews A., Clode A. B. (2017) Diseases of the cornea. In B. C. Gilger (Hrsg.), *Equine Ophthalmology* .3 (Aufl.), Wiley Blackwell, Oxford. 252–368
- Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz (2018). Verordnung über Tierärztliche Hausapotheken (TÄHAV) §12c Antibiotagrammpflicht Abs. 1. Verfügbar unter https://www.gesetze-im-internet.de/t_hav/BJNR021150975.html
- Cattabiani F., Cabassi E., Allodi C., Gianelli F. (1976) Bacterial flora of the conjunctival sac of the horse. *Ann. Sclavo.* 18, 91–119
- Clinical & Laboratory Standards Institute (2015) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals (3 Aufl. Bd. Supplement Vet01S). Wayne, PA: CLSI
- Clinical & Laboratory Standards Institute (2018) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI supplement M100 (28 Aufl.). Wayne, PA: CLSI
- Europäische Kommission (2013) Verordnung (EU) Nr. 122/2013. Abgerufen am 26.03.2021, 2021. Verfügbar unter <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32013R0122>
- Feßler A. T., Böttner A., Fehr M. (2017) Mikrotiterlayouts für Kleintiere, Großtiere und Mastitis. Aktualisierung der Layouts des DVG-Arbeitskreises „Antibiotikaresistenz“. *Deutsches Tierärzteblatt* 65, 472–481
- Foti M., Fisichella V., Giacobello C. (2013) Detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the microbial flora from the conjunctiva of healthy donkeys from Sicily (Italy). *Vet. Ophthalmol.* 16, 89–92; DOI 10.1111/j.1463-5224.2012.01028.x
- Gemensky-Metzler A. J., Wilkie D. A., Kowalski J. J., Schmall L. M., Willis A. M., 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, 800–811
- Giuliano E. A. (2017) Diseases of the adnexa and nasolacrimal system. In B. C. Gilger (Hrsg.), *Equine Ophthalmology* (3 Aufl.). Wiley Blackwell, Oxford, 197–251
- Hampson E., Gibson J. S., Barot M., Shapter F. M., 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
- Johns I. C., Baxter K., Booler H., Hicks C., Menzies-Gow N. (2011) Conjunctival bacterial and fungal flora in healthy horses in the UK. *Vet. Ophthalmol.* 14, 195–199; DOI 10.1111/j.1463-5224.2010.00867.x
- Keller R. L., Hendrix D. V. (2005) Bacterial isolates and antimicrobial susceptibilities in equine bacterial ulcerative keratitis (1993–2004). *Equine Vet. J.* 37, 207–211; DOI 10.2746/0425164054530731
- Krause K. M., Serio A. W., Kane T. R., Connolly L. E. (2016) Aminoglycosides: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6(6), 1–18; DOI 10.1101/cshperspect.a027029
- LaFrentz S., Abarca E., Mohammed H. H., Cuming R., Arias C. R. (2020) Characterization of the normal equine conjunctival bacterial community using culture-independent methods. *Vet. Ophthalmol.* 23, 480–488; DOI 10.1111/vop.12743
- Matthews A. G. (2009) Ophthalmic antimicrobial therapy in the horse. *Equine Vet. Educ.* 21, 271–280; DOI 10.2746/095777308x334266
- McClellan K. A. (1997) Mucosal defense of the outer eye. *Survey Ophthalmol.* 42, 233–246; DOI [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(97\)00090-8](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(97)00090-8)
- Moore C. P., Collins B. K., 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, 928–933
- Moore C. P., Fales W. H., Whittington P., Bauer L. (1983). Bacterial and fungal isolates from Equidae with ulcerative keratitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 182, 600–603
- Moore C. P., Heller N., Majors L. J., Whitley R. D., Burgess E. C., Weber J. (1988) Prevalence of ocular microorganisms in hospitalized and stabled horses. *Am. J. Vet. Res.* 49, 773–777
- Mustikka M. P., Grönthal T. S. C., Pietilä E. M. (2020) Equine infectious keratitis in Finland: Associated microbial isolates and susceptibility profiles. *Vet. Ophthalmol.* 23, 148–159; DOI 10.1111/vop.12701
- Sauer P., Andrew S. E., Lassaline M., Gelatt K. N., Denis H. M. (2003) Changes in antibiotic resistance in equine bacterial ulcerative keratitis (1991–2000): 65 horses. *Vet. Ophthalmol.* 6, 309–313; DOI 10.1111/j.1463-5224.2003.00312.x
- Scott E. M., Arnold C., Dowell S., 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, e0214877; DOI 10.1371/journal.pone.0214877
- Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittel Anwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig (2021) VETIDATA. Abgerufen am 23.03.2021. Verfügbar unter <https://www.vetidata.de/public/search/paeparat.php?parms=113,74,65,74,139,131,74,50,74,50,131,117,113,130,115,120,50,75,131,74,65,74,50,65,50,75,14>
- Veterinärmedizinischer Informationsdienst für Arzneimittel Anwendung Toxikologie und Arzneimittelrecht Universität Leipzig (2021) VETIDATA. https://www.vetidata.de/public/details/wirkstoff_details.php?parms=113,74,65,74,139,131,74,67,74,50,123,117,137,50,75,131,74,67,74,50,71,64,67,50,75,141
- Werckenthin C., Böttner A., Hafez H., Hartmann K. (2005) Kreuzresistenzen gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen in der Veterinärmedizin: Molekulare Grundlagen und praktische Bedeutung für die Empfindlichkeitsprüfung. *Berl. Münch. Tierärz. Wschr.* 118, 471–480
- Zak A., Sivinska N., Slowikowska M., Borowicz H., Ploneczka-Janeczko K., Chorbinski P., Niedzwiedz A. (2018) Conjunctival aerobic bacterial flora in healthy Silesian foals and adult horses in Poland. *BMC Vet. Res.* 14, 261; DOI 10.1186/s12917-018-1598-6