

**Enrofloxacin im Glaskörper an
Equiner rezidivierender Uveitis
erkrankter Pferde**

Michaela Karin Popp

München 2011

Aus dem
Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
(Arbeit angefertigt unter Leitung von Univ.-Prof. Dr. H. Gerhards)

Enrofloxacin im Glaskörper an Equiner rezidivierender Uveitis erkrankter Pferde

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

von

Michaela Karin Popp

aus Friedrichshafen

München 2011

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Braun

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Gerhards

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Ammer

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	9
2 Literatur	11
2.1 ERU	11
2.1.1 Definition und Vorkommen der ERU	11
2.1.2 Symptome und Verlauf der ERU	12
2.1.3 Einteilung der ERU	12
2.1.4 Ursachen der ERU	13
2.1.5 Diagnose	15
2.1.6 Differentialdiagnose	16
2.1.7 Pathogenese	16
2.1.8 Therapie	18
2.2 Leptospiren	22
2.2.1 Taxonomie	22
2.2.2 Morphologie und Motilität	23
2.2.3 Übertragungswege und Tenazität	23
2.2.4 Klinik	24
2.2.5 Pathogenese	25
2.2.6 Nachweis von Leptospireninfektionen	25
2.3 Enrofloxacin	28
2.3.1 Geschichte der Fluorochinolone (Gyrasehemmer)	28
2.3.2 Einteilung der Fluorochinolone	28
2.3.3 Wirkungsspektrum	30
2.3.4 Wirkungsprinzip	30
2.3.5 Resistenzen	32

2.3.6	Pharmakokinetik	32
2.3.7	Unerwünschte Wirkungen	33
2.4	Blut-Augen-Schranke	34
2.4.1	Aufbau der Blut-Augen-Schranke	34
2.4.2	Permeabilität der Blut-Augenschranke	37
3	Material und Methoden	38
3.1	Untersuchungsgut	38
3.2	Anamnese	39
3.3	Einteilung der an ERU erkrankten Pferdeaugen mittels des Vorberichts	39
3.4	Augenuntersuchung	39
3.5	Behandlung	40
3.6	Probengewinnung	42
3.6.1	Serumproben	42
3.6.2	Glaskörperproben	42
3.7	Mikrobiologische Untersuchung auf Leptospiren	43
3.7.1	Mikroagglutinationsreaktion (MAR)	43
3.7.2	Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)	43
3.7.3	Leptospirenkultur	44
3.8	Untersuchung der Glaskörper- und Serumproben auf ihren Enrofloxacingehalt	44
3.8.1	Einleitung	44
3.8.2	Materialien und Geräte	45
3.8.3	Verfahren	46
3.8.4	Wiederfindbarkeit	47
3.9	Statistische Auswertung	47
4	Ergebnisse	48
4.1	Kulturelle Anzüchtbarkeit der Leptospiren	48
4.2	Enrofloxacinnachweis	49
4.2.1	Enrofloxacinnachweis im Glaskörper und im Serum	49
4.2.2	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper und im Serum in Bezug auf die Anzahl der abgelaufenen Entzündungsschübe	51
4.2.3	Enrofloxacinkonzentration in Bezug auf den Grad der entzündlichen Einlagerungen und die Glaskörpertrübung	52

5	Diskussion	54
5.1	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper und im Serum. Enrofloxacin und zeitlicher Abstand zur Gabe	54
5.1.1	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper in Bezug auf die Anzahl der Entzündungsschübe, den Grad der entzündlichen Glaskörpereinlagerungen und den Grad der Glaskörpertrübung	56
5.2	Kultureller Nachweis von Leptospiren nach Behandlung mit Enrofloxacin	57
5.3	Schlussfolgerung	58
6	Zusammenfassung	61
7	Summary	63
	Literaturverzeichnis	65
	Abbildungsverzeichnis	78
	Tabellenverzeichnis	79

Abkürzungsverzeichnis

ERU	Equine rezidivierende Uveitis (equine recurrent uveitis)
PCR	Polymerase Chain Reaction bzw. Polymerase-Kettenreaktion
MAR	Mikroagglutinationsreaktion
LGL	Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay; enzymgekoppelter Immunabsorptionstest
MIC	Minimal inhibitory concentration
MBC	Minimal bactericidal concentration
i.v.	intravenös

1 Einleitung

Die weltweit häufigste, oft zur Erblindung führende und somit folgenschwerste Augenkrankheit der Pferde ist die equine rezidivierende Uveitis (ERU). BRAUN (1994) berichtet von Aufzeichnungen, in denen Symptome einer inneren Augenentzündung beschrieben werden, die aus dem Beginn unserer Zeitrechnung stammten.

Die ERU tritt bei etwa 8 % der Pferde auf (SZEMES und GERHARDS, 2000). Diagnose und Therapie dieser Erkrankung haben große Fortschritte gemacht. Glaskörperproben von an ERU erkrankten Pferden weisen in der Mikroagglutinationsreaktion (MAR) bis zu 90 % Antikörper gegen Leptospiren auf und in 26 % bis 75 % der Proben können Leptospiren in einer kulturellen Untersuchung nachgewiesen werden. Daher wird, obwohl einige Autoren von einer immunmedierten Erkrankung ausgehen (GILGER et al., 1999; DEEG et al., 2001; DEEG, 2008), die Krankheit als Folge einer persistierenden Leptospireninfektion angesehen, wobei die Infektion als Auslöser und zur Aufrechterhaltung der Entzündung dient (BREM et al., 1999a; WOLLANKE et al., 2004b; BRANDES et al., 2007).

Bislang besteht die Therapie vor allem in einer konservativen Behandlung der akuten Entzündungsschübe. Durch eine operative Entfernung und Spülung des Glaskörperaumes (Vitrektomie) kann mit großem Erfolg das Auftreten weiterer Schübe gestoppt werden (GERHARDS und WOLLANKE, 2001; WOLLANKE et al., 2004b). Andere Autoren, die der Leptospirenätiologie skeptisch gegenüberstehen, schlagen eine Behandlung mit Immunsuppressiva wie Cyclosporin A (CsA) vor (GILGER et al., 1999), wobei durch suprachoroidale Implantation eines CsA-Arzneimittelträgers vor allem immunvermittelte Uveitiden bekämpft werden sollen (GILGER et al., 2000b, 2006).

Eine antibiotische Therapie, die bei einer vermuteten Leptospirenätiologie nahe liegen würde, hat sich bislang nicht etablieren können. Es gibt nur wenige Studien über eine Antibiotikatherapie bei an ERU erkrankten Pferden (WITMER et al., 1953; GILGER und MICHAU, 2004). Ein Problem bei der antibiotischen Behandlung von Augenkrankheiten stellt die Blut-Augen-Schranke dar, eine natürliche Barriere zum Schutz des Auges. In der Veterinärmedizin vielfach eingesetzte Antibiotika sind Fluoroquinolone. Fluoroquinolone sind fettlösliche, bakterizid wirkende Antibiotika, die eine relativ geringe Minimal inhibitory concentration (MIC) gegen Leptospiren ($< 0,2$ mg/l) haben (MURRAY und HOSPENTHAL, 2004). Ein Vertreter dieser Gruppe ist Enrofloxacin. Es scheint in einer ausreichenden Konzentration im Auge anzufutten und kann in hohen Konzentrationen im Kammerwasser nachgewiesen werden (DIVERS et al., 2008). Es wird eine tägliche Gabe von 7,5 mg/kg Enrofloxacin intravenös empfohlen (HAINES et al., 2000; DIVERS et al., 2008).

Ziel dieser Studie ist die Untersuchung einer Therapiemöglichkeit bei ERU mit Enrofloxacin durch Betrachtung der Auswirkungen einer Enrofloxacinbehandlung auf die kulturelle Anzuchtbarkeit der Leptospiren und die Überprüfung der EnrofloxacinKonzentrationen im Glaskörper unter Miteinbeziehung der klinischen Schwere der Fälle.

2 Literatur

2.1 ERU

2.1.1 Definition und Vorkommen der ERU

Die ERU wird schon in Aufzeichnungen aus dem vierten Jahrhundert vor Christus erwähnt und tritt im Verlauf der Jahrhunderte unter unterschiedlichen Namen (Mondblindheit, Monatsblindheit, Monatsfluss, intermittierende innere Augenentzündung, Mondblindsucht, Iridocyclitis recidiva, rezidivierende Ophthalmie, serofibrinöse Iridocyclochorioiditis) auf (SCHÖNBAUER et al., 1982; WERRY und GERHARDS, 1992; BRAUN, 1994). Bei der ERU handelt es sich um eine fibrinöse, manchmal auch serohaemorrhagische Entzündung der Uvea. Sie kann akut auftreten oder chronisch rezidivierend verlaufen und durch fortschreitende Zerstörung der intraokularen Strukturen zur Erblindung führen (GERHARDS und WOLLANKE, 2001). Nach JONES (1942) und WOLLANKE (2002) sind am häufigsten Pferde zwischen vier und sechs Jahren betroffen. Andere Autoren sehen eine Häufung bei jungen Tieren (HEUSSER, 1948; KALISCH, 1952). Es können jedoch Tiere jeden Alters betroffen sein. Das Auftreten der ERU wird in der Literatur mit einer Häufigkeit von 1 % (DWYER et al., 1995) bis 12 % (CROSS, 1966) angegeben. SZEMES und GERHARDS (2000) untersuchten 1014 Pferde im Großraum Köln - Bonn und konnten bei etwa 8 % Veränderungen, wie sie durch eine ERU hervorgerufen werden, finden. In der Studie von WOLLANKE (2002) waren bei 23 % der an ERU erkrankten Pferde beide Augen betroffen. Bei diesen Untersuchungen waren Islandpferde, Quarter Horses und Warmblüter relativ häufig betroffen. Desweiteren scheinen nach Betrachtungen einiger Autoren männliche Pferde häufiger zu erkranken als weibliche (KALISCH, 1952; WOLLANKE, 2002). FABER et al. (2000) konnten hingegen keinen signifikanten

Zusammenhang zwischen Rasse, Geschlecht oder Alter und dem Auftreten der rezidivierenden Uveitis finden.

2.1.2 Symtome und Verlauf der ERU

Die Symtome und der Verlauf wurden von verschiedenen Autoren beschrieben und werden nun zusammenfassend dargelegt (ZAHARIJA et al., 1960; REBHUN, 1979; SPIESS, 1997; GERHARDS und WOLLANKE, 2001).

Symptome einer akuten Uveitis sind Schmerzhaftigkeit, ödematöse Lidschwellung mit vermehrter Wärme des Auges, Blepharospasmus, Tränenfluss (Epiphora), Photophobie, Rötung der Bindehäute, Rubeosis iridis, Hornhauttrübung, Ergüsse in der vorderen Augenkammer (meist Fibrin, selten Blut oder Hypopyon), Miosis, Glaskörpertrübung und selten Papillenrötung oder -ödeme.

Diese akute Phase verläuft über 2-3 Wochen und geht in ein subakut-chronisches Stadium über, bei dem es immer wieder zu rezidivierenden Schüben kommen kann.

Folgen dieser chronisch rezidivierenden Verläufe sind Bulbusatrophie bis hin zur Phthisis bulbi, chronische Keratitiden, hintere und vordere Synechien, Irisresiduen auf der Linsenvorderfläche, Präzipitate auf der Linsenrückfläche, Linsentrübung bis hin zur Cataracta complicata, Linsenluxation oder -subluxation, Glaskörpertrübungen und -einlagerungen, Glaskörperverflüssigung, Netzhautablösung, chorio-retinitische Narben (meist papillär) und in seltenen Fällen Sekundärglaukom.

2.1.3 Einteilung der ERU

Die ERU wird auch als Iridocyclitis recidiva bezeichnet. Bei Iridozyklitiden können vier Typen unterschieden werden (ERRINGTON, 1941):

1. Primäre Iridozyklitis. Sie ist charakterisiert durch akute, wiederkehrende Schübe und wird meist bei jungen und mittelalten Pferden beobachtet. Hierzu gehört wahrscheinlich die periodische Augenentzündung des Pferdes (ERU).
2. Chronische Iridozyklitis. Hierbei fehlen die äußeren Anzeichen der akuten Schübe, die unerkant bleiben können. Der Verlauf und die Läsionen weisen auf eine chronische Form der periodischen Augenentzündung (ERU) hin.
3. Symptomatische Iridozyklitis. Sie scheint eine Komplikation einer anderen Grunderkrankung zu sein.
4. Traumatische Iridozyklitis.

WOLLANKE (2002) unterteilt die ERU anhand der anatomisch betroffenen Strukturen in:

1. Vordere Uveitiden, mit serofibrinösen, seltener serohaemorrhagischen oder leukozytenreichen Ergüssen
2. Intermediäre Uveitiden mit weniger schmerzhaften Verläufen
3. Panuveitiden

2.1.4 Ursachen der ERU

Als Auslöser der ERU wurden infektiöse als auch nicht infektiöse Ursachen diskutiert. WOODS und CHESNEY (1930) führten Infektionsversuche mit Kammerwasser durch und vermuteten daraufhin ein „filtrierbares Virus“ als Auslöser der Erkrankung. Mit der equinen rezidivierenden Uveitis wurden zahlreiche bakterielle und virale Erkrankungen in Verbindung gebracht (BURGESS et al., 1986; BARNETT et al., 1995; WOLLANKE, 1995). Viele der vermuteten Ursachen ließen sich nicht nachweisen (WOLLANKE, 1995) und etliche Autoren gaben in der Literatur die Ätiologie der ERU als ungeklärt an (KEMENES und TAMAS, 1954; CROSS, 1966; DEEG et al., 2004).

Zum jetzigen Zeitpunkt werden als Ursachen vor allem eine intraokulare Leptospi-
reninfektion oder ein autoimmunvermitteltes Geschehen kontrovers diskutiert.

MAIR und CRISPIN (1989); DEEG et al. (2001); DEEG (2008) vermuten eine autoimmunmedierte Erkrankung als Ursache der ERU. Durch DEEG et al. (2001)

wurden Autoimmunreaktionen gegen retinale Antigene bei Pferden mit ERU nachgewiesen. Die Immunreaktion auf okuläre Antigene wurde als Schlüssel für die Aufrechterhaltung der Augenentzündung angeführt (DEEG et al., 2001; DEEG, 2008).

WOLLANKE (2002) hingegen begründete die Autoimmunreaktionen als Epiphänomene einer intraokular persistierenden Leptospirose, da nach einer Glaskörperspülung keine weiteren Entzündungsschübe mehr auftraten, obwohl die Autoantigene weiterhin im Auge verblieben. Auch andere Autoren sehen eine Leptospireninfektion als Ursache für die ERU (GSELL et al., 1946; RIMPAU, 1947; YAGER et al., 1950; HEUSSER, 1952; WITMER et al., 1953; WOLLANKE et al., 2000). Untermuert wurde diese Theorie dadurch, dass in 22 % bis 75 % der an ERU erkrankten Augen Leptospiren mittels kultureller Untersuchung nachgewiesen werden konnten (BREM et al., 1999a; FABER et al., 2000; WOLLANKE et al., 2001; WOLLANKE, 2002; GESELL, 2004; BRANDES et al., 2007). Auch konnten NIEDERMAIER et al. (2006) bei 34 von 36 Vitrektomieproben von an ERU erkrankten Pferden ein Leptospirenwachstum beobachten. Bei früheren Untersuchungen scheiterte der Lebendnachweis häufig (BOHL und FERGUSON, 1952; HEUSSER, 1952; KEMENES und TAMAS, 1954; BRYANS, 1955). Bei Untersuchungen mittels Polymerasekettenreaktion (PCR) waren 57 % bis 70 % der Proben von an ERU erkrankten Augen positiv (FABER et al., 2000; WOLLANKE, 2002; GESELL, 2004). In einer Untersuchung von BRANDES et al. (2007) waren alle der von ERU betroffenen Patienten in der PCR-Untersuchung positiv.

Einen weiteren Beweis für eine Leptospirenätiologie erbrachten WILLIAMS et al. (1971), die nach experimenteller Infektion mit Leptospiren bei 22 von 36 Augen (61 %) Veränderungen beobachteten. Die beschriebenen Symptome und Verläufe stimmten nahezu mit denen einer ERU überein. Auch HEUSSER (1952) ist nach Infektionsversuchen der Meinung, dass die periodische Augenentzündung als Spätfolge einer allgemeinen Leptospireninfektion zu betrachten ist. DAVIDSON et al. (1987) schließen sich nach Untersuchungen von zwei Pferden der Vermutung einer Leptospireninfektion als Ursache der Uveitis an.

2.1.5 Diagnose

Klinische Diagnose

Die klinische Diagnose der ERU basiert auf typischen klinischen Veränderungen. Auf den ersten Blick fällt dem Untersuchenden meist eine Abwehrtrias (Blepharospasmus, Epiphora, Photophobie) und Miosis auf. Weitere Befunde wie Hornhautödem, Keratitis, Abflachung der vorderen Augenkammer, Exsudat in der vorderen Augenkammer, hintere Synechie, Atrophie des Corpora nigra, Dunklerwerden der Iris, Katarakt, Glaskörperdegeneration und -trübungen, herabgesetzter intraokularer Druck, retinales Ödem oder Degeneration werden dann im Laufe der Untersuchung erhoben. Zusätzlich zu diesen Befunden ist für die Diagnose eine Krankengeschichte mit wiederkehrenden oder persistierenden Uveitisschüben wichtig (WOLLANKE, 2002; GILGER und MICHAU, 2004). Es gibt auch Fälle bei denen kaum klinische Symptome beobachtet werden können. In diesen Fällen laufen die Entzündungen meist vom Tierhalter unbeobachtet ab und das Tier wird dem Tierarzt oft erst vorgestellt, wenn eine Sehunfähigkeit des Pferdes auffällt. Bei dieser Verlaufsform handelt es sich vor allem um die hintere Uveitis, denn der hintere Teil der Uvea ist nicht sensibel innerviert, wodurch die Schmerzreaktion größtenteils fehlt. Hier kommt die Diagnose oft für eine therapeutische Hilfe zu spät (GERHARDS und WOLLANKE, 2001).

Fragliche Fälle diagnostiziert ERRINGTON (1941) anhand bestimmter Glaskörpertrübungen und -einlagerungen und einem verminderten okularen Druck.

Serumuntersuchung

Serumuntersuchungen sind nicht aussagekräftig. Das gilt vor allem bei länger zurückliegender Infektion oder bei akuter Leptospirose vor dem Einsetzen der Antikörperproduktion. Auch der hohe Durchseuchungsgrad in der Pferdepopulation und die Tatsache, dass Serumuntersuchungen auch bei Pferden mit Uveitis negativ ausfallen können, machen Serumuntersuchungen alleine zu einer unzuverlässigen Nachweismethode (ZAHARIJA et al., 1960; HALLIWELL et al., 1985; WOLLANKE et al., 1998). In den ersten zehn Tagen nach einer Infektion kann eine Serumuntersuchung

mittels PCR eine effiziente Methode zum Nachweis von leptospiraler DNA sein (MERIEN et al., 1992, 1995).

Parazentese

WOLLANKE (2002) empfiehlt eine Punktion des Kammerwassers (Parazentese) und dessen Untersuchung auf Antikörper gegen Leptospiren, falls eine leptospirenbedingte Uveitis vermutet wird, die klinische Untersuchung allerdings nicht eindeutig ist.

2.1.6 Differentialdiagnose

Differentialdiagnostisch sollte auch an andere schmerzhafte Augenerkrankungen gedacht werden. REBHUN (1979) gibt bei etwa 90 - 95 % aller schmerzhaften Augenerkrankungen bei Pferden eine Uveitis oder Keratitis als Ursache an. Uveitiden können auch durch Traumata oder direkte lokale Infektionen, z. B. nach perforierenden Verletzungen oder Hornhautulcera hervorgerufen werden. Vor allem bei Fohlen und vereinzelt auch bei adulten Pferden sollte eine septische Uveitis in Betracht gezogen werden (GERHARDS und WOLLANKE, 2001).

2.1.7 Pathogenese

Von BREM et al. (1999a) wurde eine Besiedelung des Auges durch Leptospiren nach einer vorangegangenen Leptospirämie vermutet. Es gelangen Leptospirenisolationen bei Pferden verschiedenen Alters und unterschiedlichen Krankheitsstadien, was auf eine lange Persistenz der Leptospiren im Auge schließen lässt (BREM et al., 1999a). GESELL (2004) konnte bei seinen Untersuchungen Hinweise auf eine Leptospireninfektion bei klinisch gesunden Augen finden. Vermutlich befinden sich die Bakterien größtenteils im Glaskörperraum, wo sie für das Immunsystem schwer zugänglich sind (WOLLANKE, 2002). Zusätzlich gehen WOLLANKE et al. (2004a) davon aus, dass die persistierenden Leptospiren Autoimmunphänomene

hervorrufen können. Es konnten antigene Ähnlichkeiten zwischen Leptospiren und augeneigenen Strukturen beobachtet werden (PARMA et al., 1985; LUCCHESI et al., 2002).

2.1.8 Therapie

Konservative Therapie

Die zwei Hauptziele der Therapie während einer akuten Entzündung sind Schmerzreduktion und antiinflammatorische Therapie.

Dadurch sind zum einen Mydriatika (z. B. Atropin-Augensalbe) und zum anderen Antiphlogistika (Dexametason-Augensalbe, systemisches Phenylbutazon) Mittel der Wahl (REBHUN, 1979; GERHARDS und WOLLANKE, 2001; GILGER und MICHAU, 2004). Eine solche Behandlung kann das Fortschreiten der Erkrankung und die häufig einhergehende Erblindung meist jedoch nicht aufhalten und dauerhaft verhindern (GERHARDS und WOLLANKE, 2001).

Unterstützend empfehlen GERHARDS und WOLLANKE (2001) eine dunkle Aufstallung und Fliegenetze aus dunklem Kunststoff bei Koppelgang. Bei starkem Fibrinerguss wird die resorptionsfördernde und schmerzlindernde Wirkung von feuchtwarmen Umschlägen bzw. Verbänden erwähnt.

Vitrektomie

In der Humanmedizin führten Vitrektomien in 70 % der Fälle zu einer Visusverbesserung. Häufigkeit und Schweregrad der Schübe wurden in praktisch allen Fällen positiv beeinflusst (WERRY und HONEGGER, 1987). Diese positiven Ergebnisse waren Anlass zu einer Studie von WERRY und GERHARDS (1991), in der an ERU erkrankte Pferde einer Vitrektomie unterzogen wurden. Die Operation führte auch hier zu einer Visusverbesserung und beeinflusste die Dynamik der uveitischen Prozesse günstig. Der Glaskörperraum war nach der Operation in allen Fällen weniger getrübt als zuvor. Genaue Beschreibungen der Operationstechnik finden sich bei WERRY und GERHARDS (1992); FRÜHAUF et al. (1998); GERHARDS et al. (1999); GERHARDS und WOLLANKE (2001, 2005). Der therapeutische Nutzen der Operation entsteht durch die Entfernung des veränderten Glaskörpers, von aktivierten Entzündungszellen, Entzündungsprodukten und Entzündungsmediatoren

sowie von Bakterien, die sich in den Fibrillen des Glaskörpers aufhalten können (GERHARDS et al., 1999).

FRÜHAUF et al. (1998) fand in einer weiteren Untersuchung heraus, dass die Pars-plana Vitrektomie erfolgreich das wiederholte Auftreten der periodischen Augenentzündung verhindert und dadurch die fortschreitende Zerstörung des Auges stoppt. Eine Kataraktbildung konnte durch die Vitrektomie nicht vermieden werden, was laut dem Autor wahrscheinlich an vorraus gegangenen Linsenschädigungen lag.

WINTERBERG und GERHARDS (1997) zeigten in einer Langzeituntersuchung, dass die Pars-plana-Vitrektomie zur stabilen Verbesserung der Sehfähigkeit beitragen und das Fortschreiten der Bulbuszerstörung aufhalten kann. Auf eine konservative Therapie dürfe aber bei einem akuten Uveitisfall und als präoperative Maßnahme keinesfalls verzichtet werden.

Bei bereits erblindeten Augen kann durch eine Vitrektomie Schmerzfreiheit erreicht werden. GERHARDS und WOLLANKE (2001) empfehlen eine E nukleation in Betracht zu ziehen, falls trotz Vitrektomie bei weiterhin schmerzhaften Rezidiven schon eine Phtisis bulbi vorliegt.

Ciclosporin

Ciclosporin A hat geringe antiinflammatorische Eigenschaften, jedoch sollen seine immunsuppressiven Eigenschaften helfen, neue Entzündungsschübe bei ERU zu vermeiden (GILGER und MICHAU, 2004). Ausreichende Ciclosporin A Konzentrationen können im Auge nur durch intravenöse Injektionen, intravitreale Injektionen oder Implantate, für eine verzögerte Freisetzung, erreicht werden (LALLEMAND et al., 2003). GILGER et al. (2006) können durch ein tief-sklerales, lamellares Ciclosporinimplantat therapeutische Konzentrationen im Auge erreichen und das Auftreten von Schüben verringern. GILGER und MICHAU (2004) empfehlen Ciclosporinimplantate jedoch nur für Pferde, die keinen akuten Schub haben und auf antiinflammatorische Therapie reagieren. In dieser Gruppe haben nach der Implantation nur wenige Pferde weitere Schübe gezeigt, deren Dauer jedoch kürzer erschien und geringere Medikation erforderten. (GILGER und

MICHAU, 2004). Das Implantat wurde bei Pferden gut toleriert und es traten keine Langzeitkomplikationen auf (GILGER et al., 2000a).

Antibiotika

Es gibt nur wenige Studien über intraokulare Antibiotikakonzentrationen im Hinblick auf eine mögliche Therapie gegen Leptospiren.

GILMOUR et al. (2005) konnten nach wiederholter oraler Gabe von Doxycyclin eine Steady State Serumkonzentration von $< 1 \mu\text{g/ml}$ nachweisen. Sie konnten allerdings keine nennenswerten Wirkstoffkonzentrationen im Kammerwasser und Glaskörper von gesunden Augen entdecken. Dies führten sie zum Einen auf die geringe Bioverfügbarkeit des Wirkstoffes und zum Anderen auf die Blut-Kammerwasser-Schranke zurück.

WITMER et al. (1953) fanden Ergebnisse einer spezifisch antibiotischen Therapie mit Aureomycin in Form von subkonjunktivalen Injektionen und Injektionen in die vordere Augenkammer kombiniert mit lokaler Anwendung ermutigend. Allerdings traten hierbei starke Reaktionen auf die Injektion in die vordere Augenkammer auf.

ROBERTS (1958) sah keinen Erfolg in einer antibiotischen Therapie bei Pferden mit wiederkehrenden Schüben von periodischer Augenentzündung. Bei Iridozyklitis im Zusammenhang mit akuter Erkrankung schien ihm eine Antibiotikatherapie gegebenenfalls von Nutzen zu sein.

DIXON und COPPACK (2002) beobachteten eine klinische Besserung bei an ERU erkrankten Pferden nach intravitrealen und subkonjunktivalen Injektionen von Ceftazidime, einem Cephalosporin der dritten Generation.

GILGER und MICHAU (2004) sahen eine Möglichkeit, den Uveitisschub bei Fällen einer vermuteten Leptospireninfektion mit einer vierwöchigen systemischen Behandlung mit Tetrazyklin oder Doxyzyklin zu mildern oder zu beseitigen. Sie führten auch die Anwendung von intravitrealen Gentamicininjektionen auf, wobei

hier allerdings vor der Gefahr der Netzhautablösung gewarnt wird. Sie wiesen auf die Notwendigkeit weiterer Studien hin.

Impfung

Grundsätzlich sind Impfungen gegen Leptospiren möglich und können vor Erkrankungen schützen (BERNARD, 1993). Derzeit existiert jedoch kein für Pferde zugelassener Impfstoff.

BRAMEL und SCHEIDY (1956) untersuchten die subkutane Injektion von *Leptospira Pomona* Bacterin, die bei allen Pferden zu einer lokalen Reaktion führte, die allerdings nicht schwerwiegend war. Es kam zu keinen systemischen Reaktionen. Auch bei einer zweiten Impfung nach 134 Tagen traten keine Anzeichen von systemischen Nebenwirkungen auf.

ROHRBACH et al. (2005) impften in einer Studie an ERU erkrankte Pferde mit einer Vaccine, die sechs Leptospirenserovare enthielt. Die Impfung schien die Zeit zwischen den Schüben zu verlängern und möglicherweise die Frequenz der Uveitisschübe zu vermindern, aber sie hielt das Fortschreiten der Krankheit nicht auf.

WOLLANKE et al. (2004a) hingegen führten Impfungen mit bestandsspezifischer Totvaccine in zwei Beständen mit gehäuftem Vorkommen von ERU durch. Es traten keine Unverträglichkeiten auf und von den geimpften Pferden erkrankte innerhalb eines Zeitraums von fünf Jahren im einen Betrieb, bzw. sechs Monaten im anderen Betrieb, kein Pferd an ERU. Die Autoren bewerteten die Verträglichkeit des Impfstoffes als auch die humorale Immunantwort als sehr zufriedenstellend, forderten aber noch weitere Langzeitstudien.

2.2 Leptospiren

2.2.1 Taxonomie

Leptospiren werden taxonomisch nach Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Band I folgendermaßen eingeteilt (GARRITY und HOLT, 2001):

Reich: Bacteria

Abteilung: Spirochaetes

Ordnung: Spirochaetales

Familie: Leptospiraceae

Gattung: Leptospira

1989 wurden die Leptospiren in zwei Spezies unterteilt. Es bot sich aus praktischen Gründen die Einteilung in die Spezies *Leptospira interrogans*, welche die pathogenen Stämme enthält, und die Spezies *Leptospira biflexa* mit den apathogenen Stämmen, an (DUTTA und CHRISTOPHER, 2005). Die Spezies wurden weiter in Serovare unterteilt (LEVETT, 2001; SELBITZ, 2002; LEVETT, 2004). Zusätzlich wurden Serovare mit ähnlichen antigenen Merkmalen in Serogruppen zusammen gefasst. Einige Serogruppen mit zugehörigen Serovaren werden in Tabelle 2.1 aufgeführt (LEVETT, 2001).

Die phänotypische Einteilung wurde durch eine auf genotypischen Merkmalen basierende Einteilung ersetzt. Dies führte zu einer Definition von zehn Genospezies, die alle Leptospirenservare beinhalten: *L. interrogans*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. biflexa*, *L. fainei*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. weilii*, *L. inadai*, *L. parva*, *L. alexanderi*. Diese Genospezies beziehen sich nicht mehr auf die früheren zwei Spezies (*L. interrogans* und *L. biflexa*) und beinhalten sowohl pathogene als auch apathogene Serovare (LEVETT, 2001, 2004).

Tabelle 2.1 Einige Serogruppen mit zugehörigen Serovaren von *L. interrogans*

Serogruppe	Serovar
Icterohaemorrhagiae	icterohaemorrhagiae, copenhageni
Pyrogenes	pyrogenes
Grippotyphosa	grippotyphosa
Pomona	pomona
Australis	australis, bratislava

2.2.2 Morphologie und Motilität

Leptospiren sind spiralförmige Bakterien von 0,1 μm Durchmesser und 20 - 24 μm Länge (SELBITZ, 2002). Sie sind gram-negativ, jedoch schlecht anfärbbar, so dass sie in herkömmlich fixierten und angefärbten Ausstrichen nicht sichtbar sind. Man kann sie jedoch durch Silberimprägnierung oder auch Dunkelfeldmikroskopie, Phasenkontrastmikroskopie oder Elektronenmikroskopie darstellen. Typische Zellen haben ein hakenförmiges Ende, was ihnen ein s- oder c-förmiges Aussehen verleiht (LEFEBVRE, 2004).

Zwei Endflagellen ermöglichen ihnen eine rotierende Bewegung, was sie in feuchter Umgebung beweglich macht (SELBITZ, 2002).

2.2.3 Übertragungswege und Tenazität

Leptospiren sind bedeutsame Krankheitserreger für Mensch und Tier, die weltweit vorkommen. Eine wichtige Eigenschaft dieser Erreger ist die Fähigkeit in der Niere zu persistieren und damit können sie lange Zeit, oft über Monate hinweg, über den Urin ausgeschieden werden. Ein Ausscheider zeigt meist minimale oder keine klinischen Anzeichen (QUINN et al., 1994; LEFEBVRE, 2004). Überträger sind vor allem kleine Nagetiere und an zweiter Stelle wilde Carnivoren (QUINN et al., 1994; LEVETT, 2004; SELBITZ, 2002; LEFEBVRE, 2004). Häufig erfolgt die Infektion über direkten oder indirekten Kontakt mit infiziertem Harn. Bei feuchten und warmen Bedingungen können Leptospiren in der Außenwelt überleben, dadurch kommt auch kontaminiertes Wasser als Ansteckungsquelle in Frage (BERNARD,

1993; QUINN et al., 1994; SELBITZ, 2002; AHMAD et al., 2005). Durch diese Temperaturabhängigkeit kommt es zu saisonalen Höhepunkten bei leptospirenbedingten Erkrankungen im Sommer und Herbst (SELBITZ, 2002).

2.2.4 Klinik

Die Mehrzahl der Leptospireninfektionen verläuft klinisch inapparent (LEFEBVRE, 2004; SELBITZ, 2002). Klinisch manifeste Erkrankungen werden vor allem Infektionen mit nicht-wirtsspezifischen Serovaren zugeschrieben und werden bei Hunden, Rindern, Schweinen und gelegentlich bei Seelöwen, Pferden, Ziegen, Schafen und selten bei Katzen beobachtet (LEFEBVRE, 2004). Auch bei Menschen sind Leptospireninfektionen unter den Begriffen Weilsche Krankheit, Feldfieber, Schweinehüterkrankheit, Reisfeldfieber oder Rohrzuckerfieber bekannt (GSELL, 1952). Diese geht oft mit einer milden Form einer Iritis oder Iridozyclitis einher (HANNO und CLEVELAND, 1949). Auch GSELL et al. (1946) berichten von Augenentzündungen als Spätkomplikation bei verschiedenen Leptospireninfektionen beim Menschen.

Beim Pferd verlaufen die meisten Infektionen mit Leptospiren subklinisch (SELBITZ, 2002). Es kommt allerdings auch zu Verläufen mit Fieber, Anorexie, Depression und Ikterus (LEFEBVRE, 2004; QUINN et al., 1994). Auch das Auftreten von Aborten bei Pferden nach Leptospireninfektionen wird von Autoren beschrieben (LEFEBVRE, 2004; ELLIS et al., 1983; HODGIN et al., 1989; BERNARD et al., 1993; QUINN et al., 1994). Eine hämatogene Infektion durch Leptospiren kann eine periodische Augenentzündung beim Pferd nach sich ziehen (WITMER et al., 1953). Auch HALLIWELL et al. (1985) sieht eine Beteiligung von Leptospiren bei der equinen rezidivierenden Uveitis. WILLIAMS et al. (1971) stellten am 15. Tag nach experimenteller Infektion mit Leptospiren Augenveränderungen beim Pferd fest, wobei die Leptospiren nur bis zum neunten Tag im Blut anzüchtbar waren.

2.2.5 Pathogenese

Leptospiren dringen in den Körper über die Konjunktiva und die Schleimhäute des Verdauungs- und Geschlechtsapparates ein. Eine weitere Eintrittspforte sind Abschürfungen oder Schnitte in der Haut (QUINN et al., 1994).

Leptospiren verursachen Allgemeininfektionen. Die Bakteriämie wird mit einer Dauer von etwa 4 bis 10 Tagen nach Infektion angegeben. Während der Bakteriämie kommt es zur Besiedelung und Schädigung innerer Organe (BERNARD, 1993; SELBITZ, 2002). Die Leptospirose ist durch die Entwicklung von Vaskulitis, endothelialer Schädigung und entzündlichen Infiltraten, bestehend aus Monozyten, Plasmazellen, Histiozyten und Neutrophilen charakterisiert (LEVETT, 2001). Fetale Infektionen ziehen Aborte, Totgeburten oder schwache Neonaten nach sich (BERNARD, 1993). Leptospiren tendieren zu einer Persistenz in Bereichen wie Nierentubuli, Augen und im Uterus, da es dort nur eine minimale Antikörperaktivität gibt (QUINN et al., 1994).

2.2.6 Nachweis von Leptospireninfektionen

Antikörpernachweis

Mikroagglutinationsreaktion (MAR):

Mit der MAR werden agglutinierende Antikörper gegen Leptospiren nachgewiesen. Sie ist sehr sensitiv, mit einer hohen Spezifität und gilt als wichtige serologische Nachweismethode für Leptospiren (LEPTOSPIROSIS-REFERENCE-LABORATORY, 2009). WOLLANKE (2002) empfiehlt die MAR zum Nachweis von Antikörpern gegen Leptospiren bei durch Leptospiren induzierter Uveitis. Sie sieht die MAR als zuverlässigste Nachweismöglichkeit von Antikörpern in Kammerwasser- oder Glaskörperproben an, die im negativen Fall noch durch eine ELISA-Untersuchung ergänzt werden kann.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA):

Die Untersuchungen durch ELISA sind mit den Ergebnissen der MAR vergleichbar, sind jedoch sensitiver (BREM et al., 1999b). Anhand des IgM- und IgG-Nachweises kann der Infektionsverlauf genauer bestimmt werden, so kann ein IgM-Nachweis auch bei negativem MAR-Ergebnis ein Zeichen für eine frische Leptospireninfektion sein (BERNARD, 1993; KETTNER, 1997). Die Elisa-Untersuchung beansprucht allerdings mehr Zeit als die MAR-Untersuchung (BREM et al., 1999a).

Erregernachweis

Polymerase Chain Reaction (PCR):

Mit der PCR wird leptospirale DNA nachgewiesen. Sie ist vor allem eine effiziente Methode, um Leptospiren-DNA im Blut, Kammerwasser und anderen Körperflüssigkeiten am Tag des Erscheinens klinischer Symptome bis zu etwa zwei Monaten nach der Infektion nachzuweisen. Die MAR ist zu einem so frühen Zeitpunkt noch nicht möglich, da zu Beginn der Erkrankung noch keine durch MAR nachweisbaren Antikörper vorhanden sind (MERIEN et al., 1992, 1995; FABER et al., 2000).

Kultur:

Zum kulturellen Nachweis eignen sich vor allem flüssige oder halbflüssige Nährmedien, denen Serum oder Serumalbumin zugesetzt sind und die bei 28-30°C im aeroben bzw. microaerophilen Milieu bebrütet werden (SELBITZ, 2002). Da Leptospiren ein langsames Wachstum vorweisen, ist der Zusatz von Hemmstoffen wie 5-Fluorouracil oder Vancomycin erforderlich (SELBITZ, 2002). Nach der Anzucht kann eine Typisierung vorgenommen werden (BREM et al., 1998). Die Anzucht von Leptospiren aus dem Blut gelingt in den ersten neun Tagen der Infektion (GSELL, 1949, 1950; POPP, 1967; WILLIAMS et al., 1971).

FABER et al. (2000) konnten Leptospiren aus Kammerwasser von an Uveitis erkrankten Pferden durch PCR und in der Kultur nachweisen. In einer Studie von BREM et al. (1999a) waren bei 40 % der Glaskörperproben von an ERU erkrankten Tieren die Kultur positiv. NIEDERMAIER et al. (2006) konnten sogar bei 34 von

36 Vitrektomieproben von an ERU erkrankten Pferden ein Leptospirenwachstum beobachten. Bis zu sechs Monate nach dem Ansatz einer Kultur können sich noch positive Ergebnisse einstellen (BERNARD, 1993; SMITH et al., 1994).

Mikroskopie:

GSELL (1968) riet von einer Untersuchung durch Dunkelfeldmikroskopie ab, da sie bei leptospirenhaltigem Blut oft zu Fehlresultaten führt. NIEDERMAIER et al. (2006) konnten lediglich bei drei von 36 Glaskörperproben von an ERU erkrankten Pferden Leptospiren im Elektronenmikroskop darstellen.

2.3 Enrofloxacin

2.3.1 Geschichte der Fluorochinolone (Gyrasehemmer)

Der Ursprung der Fluoroquinolone, die auch als Gyrasehemmer bezeichnet werden, liegt in der Verwendung von Chloroquin zur Therapie von Malaria (WIEDEMANN und HEISIG, 1999). Ein Zwischenprodukt der Chloroquin-Synthese erwies sich Anfang der sechziger Jahre als antibakteriell wirksam. 1962 kam ein antibakteriell wirksames Zwischenprodukt der Chloroquin-Synthese modifiziert als Nalidixinsäure auf den Markt (LESCHER et al., 1962). Da dieser Wirkstoff nur schlecht resorbiert wurde, nur ein kleines Wirkungsspektrum umfasste und sich rasch Resistenzen entwickelten, eignete er sich nicht zur Behandlung von systemischen Infektionen, konnte jedoch zur Therapie von Harnwegsinfektionen angewendet werden (PETERSEN, 2001). Durch Veränderungen des Substitutionsmusters konnten daraufhin wirksamere Antibiotika hergestellt werden (APPELBAUM und HUNTER, 2000; HOLZGRABE, 2004).

2.3.2 Einteilung der Fluorochinolone

Die Gyrasehemmer lassen aufgrund ihrer chemischen Struktur und Entwicklung in drei Generationen einteilen und haben entweder ein 4-Chinolone- oder strukturähnliches Naphthyridin-, Cinnolon- oder Pyridopyrimidingrundgerüst, das eine Carboxylgruppe an Position 6 trägt, gemeinsam (PETERSEN, 2001; FREY und LÖSCHER, 2010; ESTHER und SCHMIDT, 2007). Prototypen der Chinoloneantibiotika und Vertreter der ersten Generation sind Nalidixinsäure, Oxolinsäure, Pipemidsäure oder Cinoxacin. Sie hatten nur eine schwache Wirkung gegen gramnegative Bakterien, sowie eine geringe orale Resorption und eine schnelle Resistenzentwicklung (Abb. 2.1).

Durch eine Fluorsubstitution in Position 6 der 4-Chinolonecarbonsäure konnte eine große Wirkungsverbesserung erzielt werden (STEIN, 1988). Die dadurch geschaffene zweite Generation der Fluorochinolone besteht mit einem breiteren Wirkungsspektrum, geringen Resistenzentwicklungen und besseren pharmakokinetischen

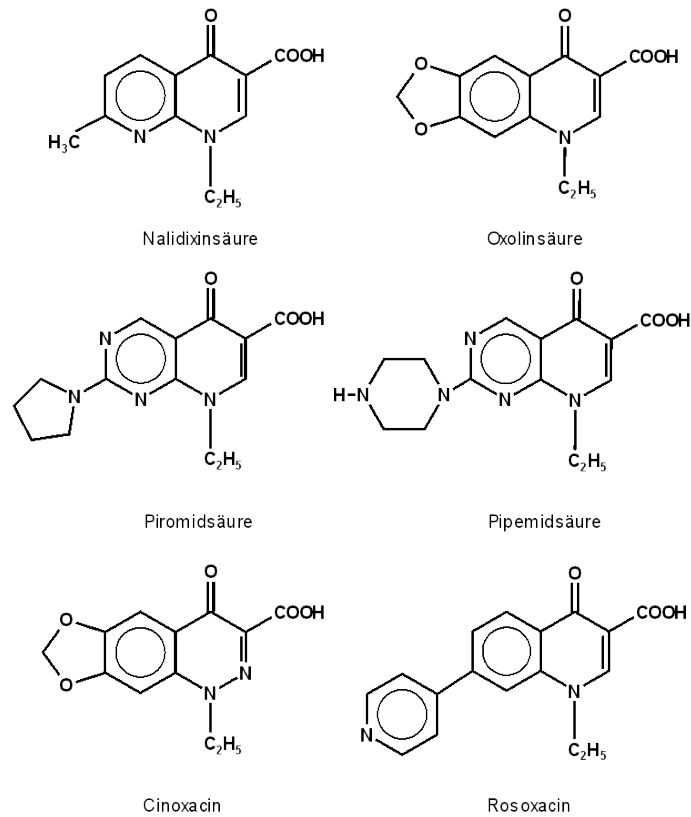


Abbildung 2.1 Chemische Struktur der alten Fluorochinolone

Eigenschaften (FREY und LÖSCHER, 2010). Das erste Breitspektrum-Fluorochinolon war Norfloxacin, das in Position 7 zusätzlich durch einen Piperazinring substituiert ist, genau wie Ofloxacin, Ciprofloxacin oder Enrofloxacin, wobei Ciprofloxacin und Ofloxacin als potenteste Mittel dieser Gruppe bezeichnet werden können, da sie auch wirksam gegen grampositive Keime sind (STEIN, 1988; FREY und LÖSCHER, 2010). Vertreter der dritten Generation sind Moxifloxacin und Gatifloxacin die gut verträglich und zusätzlich zu der Wirkung gegen gramnegative und grampositive auch noch gegen atypische Erreger (Chlamydia, Mycoplasma, Legionellen u.a.) sowie Anaerobier wirksam sind (FREY und LÖSCHER, 2010; PETERSEN, 2001) (Abb. 2.2).

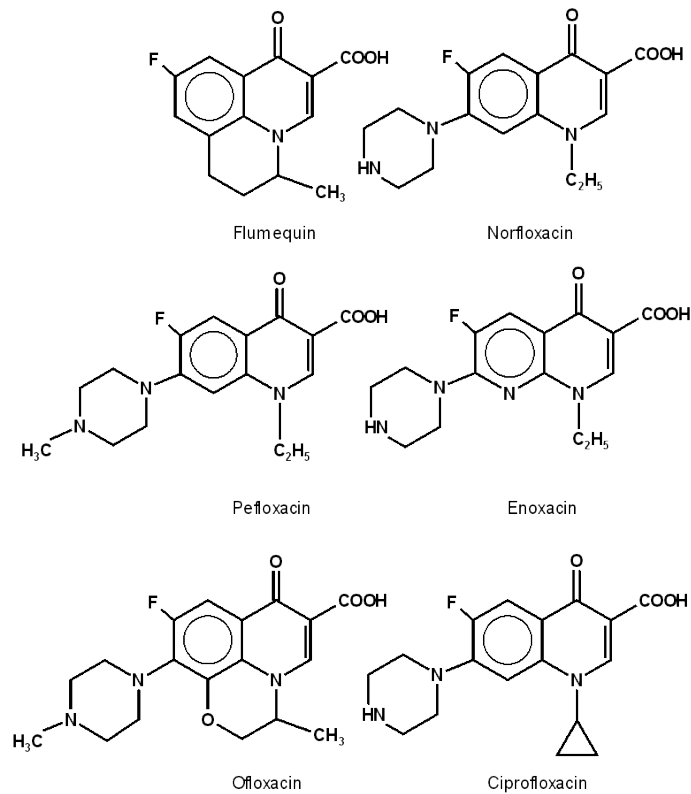


Abbildung 2.2 Chemische Struktur der neuen Fluorochinolone

2.3.3 Wirkungsspektrum

Die 4-Chinolone der 2. Generation wurden von der Paul-Ehrlich-Gesellschaft in vier Gruppen steigender Wirksamkeit eingeteilt (PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT, 1998), wie in Tabelle 2.2 aufgeführt.

2.3.4 Wirkungsprinzip

Der Wirkungsmechanismus ist bei allen Fluorochinolonen gleich und beruht auf der Hemmung des bakteriellen Enzyms Gyrase (PAPICH et al., 2002). Daher werden die 4-Chinolone auch als Gyrasehemmer bezeichnet. Die Gyrase gehört zu den Topoisomerasen, von denen es mehrere Arten gibt. Die Gyrase ist eine bakterielle Topoisomerase II und besteht aus je zwei A- und B-Untereinheiten (HAWKEY, 2003). Die A-Untereinheit zerschneidet die DNA-Stränge bevor die B-Untereinheit die Überspiralisierung (Supercoiling) einführt, woraufhin die A-Untereinheit die

Tabelle 2.2 Einteilung der 4-Chinolone nach Gruppen (Empfehlung der PEG)

Gruppe	Indikation	Keime	4-Chinolone
1. Orale 4-Chinolone zum Einsatz bei Harnwegsinfektionen	Harnwegsinfekte, bakterielle Enteritiden, Gonorrhoe, Prostatitis	gramnegative Bakterien	Norfloxacin, Perfloxacin
2. Systemisch anwendbare 4-Chinolone mit breiter Indikation	Harnwegsinfekte, Atemwegsinfekte (gramnegativ), Haut-, Weichteil- und Knocheninfektionen	gramnegative Bakterien und Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Enterokokken	Enoxacin, Fleroxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin, Enrofloxacin
3. 4-Chinolone mit verbesserter Aktivität gegen grampositive und atypische Erreger	(Harnwegsinfekte), Atemwegsinfekte (Primärtherapie!), Gonorrhoe, Urethritis, Zervizitis	wie Gruppe 1+2 und Chlamydien, Mykoplasmen	Levofloxacin, Sparfloxacin
4. 4-Chinolone mit verbesserter Aktivität gegen grampositive atypische Erreger sowie gegen Anaerobier	Haut-, Weichteil-, Knocheninfektionen, abdominale Infektionen, systemische Infektionen, Sepsis, Meningitis	wie Gruppe 1-3 und Anaerobier	Gatifloxacin, Moxifloxacin

DNA-Stränge wieder verbindet (FREY und LÖSCHER, 2010). Durch etliche solcher Reaktionen entsteht ein stark in entgegengesetzter Drehrichtung gewundenes DNA-Molekül. Durch die starke Verdrillung ist das DNA-Molekül wesentlich kompakter und passt so in die Bakterienzelle (STEIN, 1988; FREY und LÖSCHER, 2010). Die A-Untereinheit ist hier die Zielstruktur der Gyrasehemmer, die dadurch das Wiederverschließen der DNA-Stränge verhindert (MUTSCHLER et al., 2008). Desweiteren hemmen Fluorochinolone, vor allem in grampositiven Bakterien, die Topoisomerase IV, die eine wichtige Rolle bei der Entspannung und Aufteilung der DNA während der Zellteilung spielt (DRLICA und ZHAO, 1997; FREY und LÖSCHER, 2010). Im Falle einer Hemmung dieses Enzyms wird die DNA nicht getrennt und kann in der Tochterzelle nicht verteilt werden (WIEDEMANN und HEISIG, 1999). Die Chinolone wirken, indem sie sich an Komplexe binden, die zwischen DNA und Gyrase oder Topoisomerase IV gebildet werden (FREY und LÖSCHER, 2010). Beide Enzyme sind für das Zellwachstum und die Zellteilung nötig, was zu der bakteriziden Wirkung der Chinolone führt (DRLICA und ZHAO, 1997; CHEN und LO, 2003).

2.3.5 Resistenzen

Resistenzen gegen Fluorochinolone sind vor allem chromosomal vermittelt (PAPICH et al., 2002; FREY und LÖSCHER, 2010). Hauptmechanismen, die zu Fluorochinolone-resistenzen führen, sind Veränderung der Angriffspunkte durch Abänderung der DNA Gyrase und/oder Topoisomerase IV und reduzierte intrazelluläre Wirkstoffakkumulationen, die durch verminderte Wirkstoffpermeabilität und/oder erhöhter Efflux entstehen (CHEN und LO, 2003).

2.3.6 Pharmakokinetik

Im Vergleich zu den Gyrasehemmern der ersten Generation, haben Enrofloxacin und die anderen neueren Wirkstoffe aus der Gruppe der Fluorochinolone bessere pharmakokinetische Eigenschaften (FREY und LÖSCHER, 2010). HAINES et al. (2000) gab eine Bioverfügbarkeit von Enrofloxacin von bis zu 80 % nach oraler Gabe an, wobei Propylenglycol die Absorption von Enrofloxacin negativ beeinflussen kann. Bei einer intramuskulären (i. m.) Applikation ist die Verweil- und Absorptionszeit des Wirkstoffes lang und führt zu starken Gewebereaktionen (KAARTINEN et al., 1997). Die Plasmaproteinbindung beträgt 10-20 % (FREY und LÖSCHER, 2010). Enrofloxacin ist gut gewebebegänglich und verteilt sich rasch in alle Gewebe (KAARTINEN et al., 1997; FREY und LÖSCHER, 2010; PAPICH et al., 2002). Nach einer oralen Gabe von 5 mg/kg wird nach einer Stunde in der Leber mit 49,7 µg/g, in der Milz mit 33,2 µg/g und in den Nieren mit 28,9 µg/g eine 5 - 10-fach höhere Konzentration als im Serum (5,5 µg/g) erreicht (GIGUÈRE und BÉLANGER, 1997). Enrofloxacin wird in der Leber durch Dealkylierung zu Ciprofloxacin, einem wirksamen Metaboliten, umgewandelt (FREY und LÖSCHER, 2010). In einer Studie von KAARTINEN et al. (1997) betrug die Ciprofloxacin-Konzentration im Serum 20-35 % der Enrofloxacin-Konzentration. Die im Kammerwasser gemessene Ciprofloxacin-Konzentration betrug 2 % der dort gemessenen Enrofloxacin-Konzentration (DIVERS et al., 2008). Fluorochinolone werden vor allem renal, teils auch biliär, ausgeschieden (FREY und LÖSCHER, 2010).

2.3.7 Unerwünschte Wirkungen

Zellen höherer Lebewesen sind für Fluorochinolone relativ unempfindlich, da sich ihre Topoisomerase II von der ihr entsprechenden bakteriellen Gyrase unterscheidet und ca. 1000-fach weniger empfindlich für den Wirkstoff ist. Mit Ausnahme der anscheinend für Fluorochinolone typischen Schädigung der Gelenkknorpel konnten bei Haustieren keine irreversiblen toxischen Wirkungen festgestellt werden (FREY und LÖSCHER, 2010).

2.4 Blut-Augen-Schranke

Paul Ehrlich wies 1885 durch eine Färbung mit Trypanblau die Existenz einer Blut-Hirn-Schranke nach. Nach intravenöser Injektion färbten sich sämtliche Gewebe der untersuchten Tiere an, nur das Gehirn nahm den Farbstoff nicht auf. In den 1940er Jahren kamen erstmals Studien über eine ähnliche Schranke des Auges auf (AMSLER, 1946).

2.4.1 Aufbau der Blut-Augen-Schranke

CUNHA-VAZ (1979, 1997) beschrieb den Aufbau der Blut-Augen-Schranke nach vorangegangenen Studien an unterschiedlichen Tieren, wie Katzen, Kaninchen und Ratten folgendermaßen:

Man kann zwei Teile der Blut-Augen-Schranke unterscheiden: die Blut-Kammerwasser-Schranke und die Blut-Retina-Schranke.

Die Blut-Kammerwasser-Schranke reguliert vor allem den Austausch zwischen Blut und intraokularen Flüssigkeiten und befindet sich überwiegend im Ziliarkörper. In diesem Teil sind nach innen gerichtete Strömungen vom Blut in das Auge vorherrschend. Das Kammerwasser wird durch den Ziliarkörper gebildet und in die hintere Augenkammer sekretiert, von wo es durch die Pupille in die vordere Augenkammer fließt und schließlich das Auge durch den Kammerwinkel verlässt. Es findet Diffusion zwischen dem Kammerwasser, dem umgebenden Gewebe, der hinteren Augenkammer und auch dem Glaskörperraum statt.

Bei der zweiten Schranke, der Blut-Retina-Schranke, finden überwiegend nach außen gerichtete Strömungen von der Retina ins Blut statt. Nur wenigen wichtigen metabolischen Produkten ist eine nach innen gerichtete Penetration möglich. So werden essentielle Nährstoffe über selektive Transportmechanismen und diverse andere Transportsysteme, wie aktive energieabhängige Prozesse, in die Retina transportiert. Aufgabe dieser Schranke ist, das Umfeld und die Homeostase der Retina und der Sehzellen aufrecht zu erhalten.

Zwischen den extrazellulären Flüssigkeiten der Retina und dem anliegenden Glaskörper besteht keine Diffusionsbarriere und auch der Glaskörper selber behindert keinen Austausch zwischen der hinteren Augenkammer und den extrazellulären Flüssigkeiten der Retina. Dies bedeutet, dass sich die beiden Blut-Augen-Schranken in ihren Funktionen gegenseitig beeinflussen und in einem Gleichgewicht arbeiten wobei sie die Mängel der anderen Schranke ausgleichen. Siehe hierzu auch Abb. 2.3..

Die Blut-Augen-Schranken müssen nicht nur ein passendes, streng reguliertes chemisches Umfeld für die avaskulären und transparenten Strukturen des Auges schaffen, sondern auch als Ausscheideroute für Abfallprodukte des metabolisch aktiven Augengewebes dienen. Sie sind so aufgebaut, dass sie das perfekte Umfeld für die Funktion der Sehzellen schaffen und aufrechterhalten können.

Die Blut-Kammerwasser-Schranke besteht aus zwei Teilen:

Erstens einer epithelialen Schranke, die in der unpigmentierten Schicht des ziliaren Epithels und im posterioren iridialen Epithel lokalisiert ist und zweitens einer endothelialen Schranke, die die molekulare Passage durch die Wände der iridialen Gefäße begrenzt. Diese Zellschichten schließen Substanzen, wie Blutproteine, von dem Kammerwasser und dem Glaskörper aus, die die Transparenz des Auges herabsetzen und das osmotische und chemische Gleichgewicht stören würden. Die Schranke ist allerdings nicht komplett dicht, was für die geringe Menge an Plasmaproteinen im Kammerwasser verantwortlich sein könnte. Es ist zu erwähnen, dass die „Tight junctions“ der Irisgefäße weniger stabil sind als die der retinalen Gefäße und sich z. B. relativ schnell nach einer Parazentese öffnen (SHAKIB 1966, SZALAY 1975).

Ähnlich setzt sich auch die Blut-Retina-Schranke zusammen:

Sie befindet sich im hinteren Teil des Auges und setzt sich aus einem komplexen zellulären System aus Endothel der retinalen Blutgefäße, Pigmentepithel der Retina und retinalen Gliazellen zusammen. Das retinale Endothel hat enge Tight-junction-Strukturen, die so nur in den Gefäßen des Gehirns und der Retina zu finden sind. Das Pigmentepithel der Retina bildet als vorwiegende Struktur den äußeren

Teil und die endotheliale Membran der retinalen Gefäße den inneren Teil der Blut-Retina-Schranke.

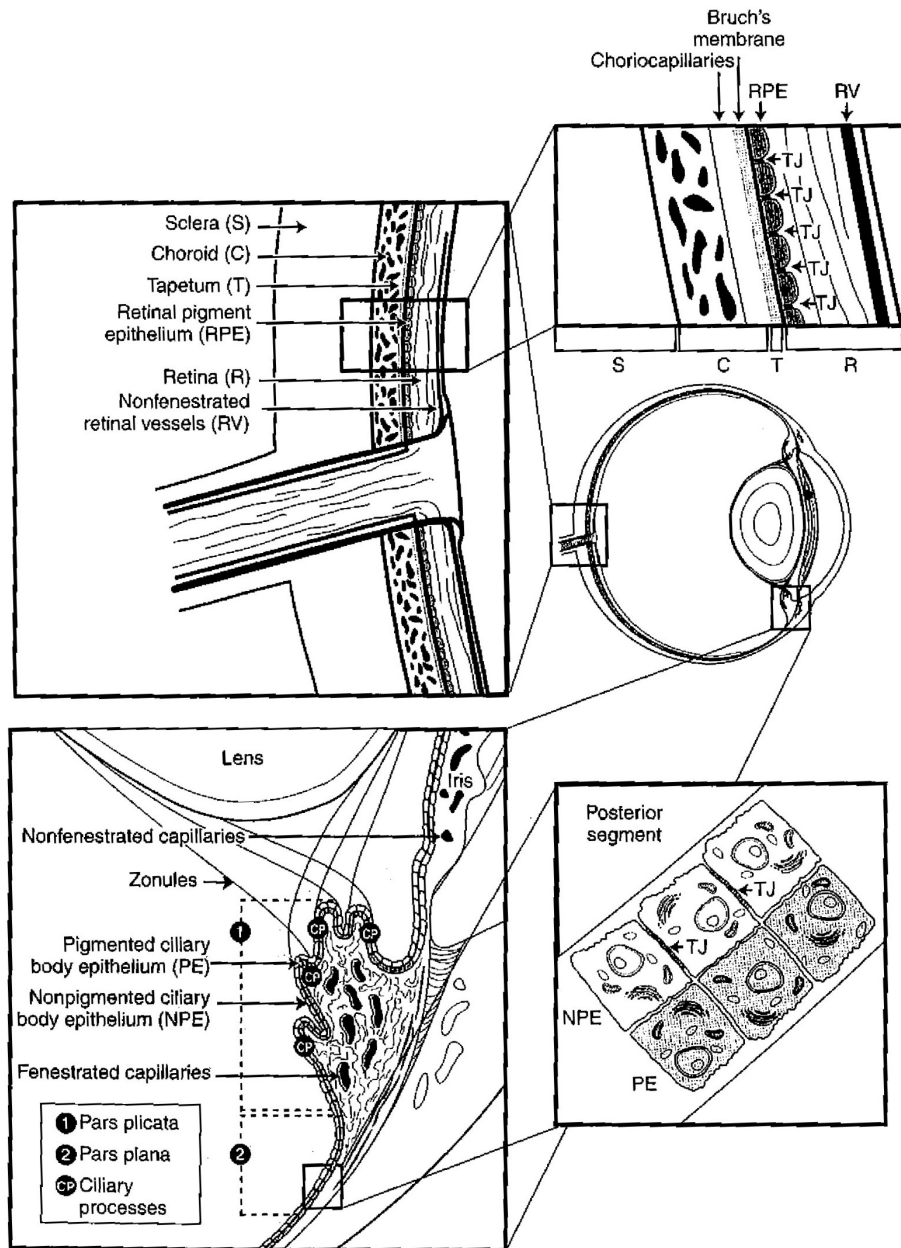


Abbildung 2.3 Aufbau der Blut-Augen-Schranke aus: Equine Ophthalmology, 2005, B. C. Gilger

2.4.2 Permeabilität der Blut-Augenschranke

Die Blut-Kammerwasser-Schranke wird von vielen wasserlöslichen Substanzen passiert. Fettlösliche Substanzen erreichen höhere Konzentrationen, da sie noch schneller als wasserlösliche Substanzen durch die Zellmembranen der Blut-Kammerwasser-Schranke diffundieren. Proteine sind größtenteils vom Kammerwasser ausgeschlossen, können jedoch Konzentrationen bis zu 1/200 der dazugehörigen Plasmakonzentration erreichen (CUNHA-VAZ, 1979).

Im Allgemeinen kommen Substanzen, die zuvor intravenös verabreicht wurden, im Glaskörper in minimalen Mengen an und erreichen wiederum höhere Konzentrationen im vorderen Teil des Glaskörpers, da sie eher durch die hintere Augenkammer oder die ziliare Zirkulation eintreten als über die Blut-Retina-Schranke (DAVSON et al., 1949; BLEEKER und MAAS, 1958). DAVSON et al. (1949) zeigte, dass fettlösliche Substanzen nach intravenöser Injektion frei durch die Blut-Retina-Schranke in den Glaskörper eindringen. RODRIGUEZ-PERALTA (1975) stellte nach einer Injektion von Acrivlavin in die Augenkammer ebenfalls eine freie Diffusion in den Glaskörperraum fest. Auch in dieser Studie konnte eine Abnahme der Konzentration von der Zonula-Region zum hinteren Teil des Glaskörpers dargestellt werden. BLEEKER und MAAS (1958) untersuchten die Konzentrationen von verschiedenen Antibiotika im Auge und fanden heraus, dass die erreichten Konzentrationen in direktem Zusammenhang zu ihrem Öl-Wasser-Verteilungskoeffizient stehen. Zusätzlich finden auch aktive Transportprozesse statt, allerdings ist der genaue Mechanismus des retinalen Transports noch nicht vollständig erforscht.

Im Falle eines Traumas oder einer Entzündung können die Blut-Augen-Schranken unterbrochen werden und den Übertritt von Blutprodukten und Zellen in das Auge ermöglichen (DWYER und GILGER, 2005). Schleier, Trübungen und Zelleinlagerungen im Glaskörper und Kammerwasser können als klinisch feststellbare Anzeichen einer Störung der Blut-Augen-Schranken während einer Erkrankung an ERU gesehen werden.

3 Material und Methoden

3.1 Untersuchungsgut

Das Untersuchungsgut umfasste Glaskörperproben und Serumproben von an ERU erkrankten Pferden, die in der Klinik für Pferde der Ludwig-Maximilians-Universität München zur Vitrektomie eingestellt wurden.

Im Untersuchungszeitraum von Juli 2008 bis April 2009 wurden Glaskörperproben von 60 an ERU erkrankten Augen untersucht:

- in der ersten Zeit (von Juli 2008 bis Dezember 2008) wurden Augen von 35 Pferden, die keine Infektionsprophylaxe durch Enrofloxacin erhalten haben (Gruppe I) untersucht
- im Anschluss daran (von Dezember 2008 bis April 2009) wurden Augen von 25 Pferden, die zur Infektionsprophylaxe mit Enrofloxacin behandelt wurden (Gruppe II) untersucht

Das Alter der Tiere lag in der Gruppe I zwischen 1 und 15 Jahren, im Durchschnitt 7 Jahre. In der Gruppe II befanden sich Tiere im Alter zwischen 4 und 19 Jahren. Hier lag das Durchschnittsalter bei 9 Jahren. Tiere, die jünger als vier Jahre waren, wurden von der Enrofloxacintherapie, aufgrund der Gefahr von Nebenwirkungen bei wachsenden Tieren, ausgeschlossen. Bei der mit Enrofloxacin vorbehandelten Gruppe (Gruppe II) wurden zusätzlich zur Überprüfung des Therapieerfolgs Serumproben gewonnen.

3.2 Anamnese

Bei den erkrankten Pferden wurde, soweit nachvollziehbar, die Dauer der Erkrankung und die Schwere, Häufigkeit und Lokalisation der erlittenen Schübe festgehalten. Ebenso wurden im Vorfeld durchgeführte Behandlungen notiert.

3.3 Einteilung der an ERU erkrankten Pferdeaugen mittels des Vorberichtes

Es wurde für einen Teil der statistischen Auswertung eine Einteilung der Augen anhand der (laut Vorbericht soweit bekannt) Anzahl der erlittenen Entzündungsschübe vorgenommen.

3.4 Augenuntersuchung

Es wurde das Verhalten und die Haltung des Pferdes beobachtet, um schon hier Hinweise auf eventuelle Beeinträchtigungen der Sehfähigkeit zu erhalten. Desweiteren wurden Tests wie Auslösung des Drohreflexes, Lidschlussreaktion durch Lichteinfall und Auslösung des Pupillenreflexes angewandt. Nach sorgfältiger Adspektion der Augenumgebung, der Lider, des Augapfels, der Bindehäute und Sklera fand die weitere Untersuchung der Augen in einem abgedunkelten Raum statt. Mit einer fokalen Lichtquelle wurden Hornhaut, vordere Augenkammer, Iris und Linsenvorderfläche betrachtet. Die Linsenrückfläche, der Glaskörper und der Augenhintergrund wurden bei weitgestellter Pupille untersucht und mittels eines direkten Ophthalmoskopes betrachtet. Der Grad der Glaskörpertrübung und der Grad der Glaskörpereinlagerungen wurden wie in Tabelle 3.1 eingeteilt. Bei Bedarf wurde ein Mydriatikum (Tropicamid, Atropin) appliziert. In einigen Fällen, bei denen eine verminderte Einsehbarkeit eine vollständige Beurteilung des hinteren Augenabschnittes unmöglich machte, wurde eine transpalpebrale Ultraschalluntersuchung des Auges mit einem 7,5 MHz-Linearschallkopf durchgeführt.

Tabelle 3.1 Einteilung des Grades der Glaskörpertrübung und der Glaskörpereinlagerungen

Grad d. Trübung	keine
	geringgradig
	mittelgradig
	hochgradig
Grad d. Einlagerungen	keine
	geringgradig
	mittelgradig
	hochgradig

3.5 Behandlung

Die Pferde der Gruppe II erhielten Enrofloxacin (Baytril 10% der Firma Bayer) in einer Dosierung von 7,5 mg/kg einmal täglich. Die Pferde wurden mit einer drei- bis viermaligen Gabe von Enrofloxacin behandelt. Zwei Pferde wurden aufgrund eines besonders schweren akuten Schubes sechsmalig mit Enrofloxacin behandelt. Die Verabreichung erfolgte mit einer Venenverweilkanüle (Vasuflo-T, Dispomed) nach vorhergegangener gründlicher Rasur und Desinfektion in die Vena jugularis externa. Das Medikament wurde aufgrund seiner venenreizenden Eigenschaften zur besseren Verträglichkeit zu gleichen Teilen mit Aqua ad injectabilia (Braun) verdünnt und langsam als Kurzzeitinfusion über 2-3 min verabreicht. Am Tag der Operation erfolgte die Medikamentengabe durch den zur Einleitung der Narkose gelegten Venenverweilkanüle (Vygonüle S). Die Zeit zwischen der Verabreichung des Wirkstoffes und der Probennahme variierte aufgrund des nicht immer vorhersehbaren Ablaufes in einer Klinik und kann der Tabelle 3.2 entnommen werden.

Tabelle 3.2 Übersicht über die Behandlungsdauer und den zeitlichen Abstand (in Minuten) zwischen Enrofloxacingabe und den Probenentnahmen

Tier Nr.	Enrofloxacingaben	Zeitl. Abstand zw. Gabe u. Serumentnahme in Minuten	Zeitl. Abstand zw. Gabe u. Glaskörperentnahme in Minuten
1	3	37	47
2	4	135	145
3	4	33	43
4	3	35	45
5	3	23	33
6	3	35	45
7	3	45	55
8	3	27	37
9	3	110	120
10	6	60	70
11	3	50	60
12	4	30	40
13	3	29	39
14	3	65	75
15	4	20	30
16	3	30	40
17	4	30	40
18	3	48	58
19	4	83	93
20	6	40	50
21	4	45	55
22	3	60	70
23	3	30	40

3.6 Probengewinnung

Alle Proben wurden unter sterilen Verhältnissen entnommen.

3.6.1 Serumproben

Blut für die Serumproben wurden aus der Vena jugularis externa gewonnen. Hierfür wurde eine im Rahmen der Vollnarkose und zur Narkoseeinleitung ohnehin notwendige Venenverweilkanüle (Vygonüle S) verwendet. Die Serumproben wurden während des Anschließens der Infusion und erneuter Blutabflussüberprüfung beim auf dem Operationstisch gelagerten Pferd gewonnen.

Nach Gerinnung und Zentrifugation von ca. 10 ml Vollblut wurde das Serum in ein Kunststoffröhrchen zur Aufbewahrung und zum Transport abgefüllt und bis zur weiteren Untersuchung eingefroren (bei -8°C).

3.6.2 Glaskörperproben

Während der Vitrektomien wurden die Glaskörperproben zu Beginn der Operation mittels eines Dreiwegehahnes entnommen. Somit konnten 3-5 ml unverdünnten Glaskörpermaterials mit einer 5 ml-Spritze steril gewonnen werden. Die Glaskörperentnahme fand ca. 10 Minuten nach der Serumnahme statt.

Anschließend wurde ein Teil des gewonnenen Glaskörpers unter sterilen Verhältnissen in zwei Ansätzen von 0,5 ml und 1 ml auf Transportmedien (8 ml umfassend) verimpft und für eine anschließende Kultivierung an das Leptospirenlabor des Bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL) in Oberschleißheim (SAL-akkreditiertes Prüflaboratorium, Reg.-Nr.: SAL-BY-L20-04-03) geschickt. Bei den Transportmedien handelt es sich um ein EMJH- Medium mit bovinem Serum-Albumin (BSA) Tween80/40 Enrichment sowie $100 \mu\text{g/ml}$ 5-Fluorouracil.

Ein weiterer Teil der Proben wurde für die immunologischen Untersuchungen in sterile Plastikgefäße gefüllt und ebenfalls an das Leptospirenlabor des LGLs zur Untersuchung verschickt.

Für die Bestimmung der Enrofloxacin-Konzentration im Glaskörpermaterial wurde nochmals ein Teil des gewonnenen Materials ebenfalls in kleine Plastikgefäße abgefüllt und bis zur weiteren Untersuchung eingefroren.

3.7 Mikrobiologische Untersuchung auf Leptospiren

Die mikrobiologischen Untersuchungen der Glaskörperproben fanden im LGL statt. Die genaue Beschreibung der dort angewandten und etablierten Untersuchungsmethoden kann bei BREM et al. (1988), KETTNER (1997) und GESELL (2004) gefunden werden.

3.7.1 Mikroagglutinationsreaktion (MAR)

Die gewonnenen Glaskörperproben wurden am LGL mittels MAR auf Antikörper gegen Leptospiren untersucht. Bei den Untersuchungen wurden die Richtlinien des Office international des épizooties (O.I.E.) und der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) eingehalten (FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE (DGHM), 1984; INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES (O.I.E.), 2008). Ein Titer von 1:100 wurde als positives Ergebnis angesehen.

3.7.2 Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)

Für den Antikörpernachweis in dem erlangten Glaskörpermaterial mittels ELISA wurde das von KETTNER (1997) dargelegte Verfahren mit Leptospiren-Vollantigen angewendet. Kam die zuvor durchgeführte MAR-Untersuchung zu keinem positiven Ergebnis wurde im Anschluss eine ELISA-Untersuchung mit einem Grippotyphosa- und einem Bratislava-Antigen durchgeführt.

3.7.3 Leptospirenkultur

Die unter sterilen Bedingungen auf Transportmedium verimpften Glaskörperproben erreichten bei Raumtemperatur das Leptospirenlabor des LGLs und wurden noch am Ankunftstag subkultiviert. Teilproben (0,5 ml) in ihrem Transportmedium wurden in ein Rinderalbumin-Tween-Medium ohne Hemmstoffzusatz oder unter Zusatz von 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 5-Fluorouracil oder 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 5-Fluorouracil und 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Vancomycin verimpft. Die Kulturen wurden bei 29°C bebrütet. Zu Beginn wurden die Ansätze alle zwei Wochen, später alle vier Wochen, über einen Zeitraum von sechs Monaten mittels Dunkelfeldmikroskopie auf ein Leptospirenwachstum untersucht. Bei einem negativen MAR- sowie ELISA-Ergebnis wurde die kulturelle Untersuchung abgebrochen.

3.8 Untersuchung der Glaskörper- und Serumproben auf ihren Enrofloxacingehalt

3.8.1 Einleitung

Zur Bestimmung der Enrofloxacinkonzentration in dem gewonnenen Glaskörpermaterial und Serum wurde ein direkter kompetitiver ELISA, wie von GÄRTNER (2006) entwickelt, angewandt.

Beim direkten kompetitiven Enzymimmunoassay mit einem zweiten Antikörper wird dieser als Festphase verwendet, ein als „Double Antibody Solid Phase“-Technik (DASP-Technik) beschriebenes Verfahren. Die gegen Enrofloxacin gerichteten Antikörper werden an den zweiten, gegen Mäuse gerichteten Antikörper (Rabbit-Anti-Maus-IgG), der als Festphase dient gebunden. Bei diesem kompetitiven Verfahren konkurrieren freies und enzymmarkiertes Antigen bei gleichzeitiger Inkubation um die Antikörperbindungsstellen.

3.8.2 Materialien und Geräte

Chemikalien und Biochemika

- Clina-Meerrettichperoxidase (Clina-HRP)
- Enrofloxacin (Sequoia Research Products Ltd, SRP 01088e)

Puffer und Lösungen

- 0,05 mol/l Bicarbonatpuffer (ph 9,6)
- 3%(g/V) Casein-PBS-Lösung
- 1 mol/l Schwefelsäure
- Tetramethylbenzidilösung TMB(1 mmol 3,3'-5,5'-Tetramethylbenzidin in 5 ml Aceton und 45 ml Methanol)
- Waschlösung (0,15 mol/l Natriumchlorid-Lösung mit Zusatz von 0,025 % Tween 20)

Immunreagenzien

- Kaninchen-Anti-Maus-Ig-Antikörper (RamIg) (DAKO Z0259)
- Antikörper Norflox-GODIII mAk 1F7 (Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der LMU München)

Probenmaterial

- Glaskörperproben von an ERU erkrankten Pferden
- Serumproben von an ERU erkrankten Pferden

Geräte

- Mikrotiterplattentaumelgerät Polymax 1040 (Heidolph Instruments)
- Zentrifuge (Biofuge pico, Haereus-Christ GmbH)
- ELISA-Reader Sunise (Tecan Deutschland GmbH)

- Vortex Genie-Rüttler (Bender u. Hobein)
- Variable Pipetten 0,5-10 μ l, 10-100 μ l und 100-1000 μ l (Eppendorf Gerätebau GmbH)

Sonstige Materialien

- Mikrotiterplatten (Immunoplate, Nuc GmbH)
- Filter (MILLEX-GV, Syringe Driven Filter Unit, PVDF 0,22 μ m)

3.8.3 Verfahren

96-Loch-Mikrotiterplatten wurden mit RamIg in einer Konzentration von 10 μ g/ml in Bicarbonatpuffer (100 μ l/Kavität) beschichtet und über Nacht im Kühlschrank inkubiert. Nach Ausschlagen der Platten wurden freie Bindungsstellen mit 3% Casein/PBS-Lösung (150 μ l/Kavität) 30 min lang abgesättigt. Nach dreimaligem Waschen der Platten mit Waschlösung und Ausschlagen wurde der Antikörper Norflox-GODIII mAk 1F7 (100 μ l/Kavität) hinzugegeben und eine weitere Stunde inkubiert. Das Probenmaterial wurde nach vorangegangener Zentrifugation und Verdünnung sterilfiltriert. Nach erneutem viermaligen Waschen und Ausschlagen der Platte wurde der Enrofloxazinstandard, bzw die Proben mit Clina-HRP-Enzymkonjugat (jeweils 50 μ l/Kavität) nochmals für eine Stunde inkubiert. Die Kavitäten wurden im Anschluss abgesaugt und abermals fünf mal gewaschen und ausgeschlagen. Danach folgte die Zugabe von Wasserperoxidpuffer mit TMB (100 μ l/Kavität) und die Inkubation bis zur Farbtintensität, die einer Extinktion von ca. 1,0 entspricht. Die Umsatzreaktion wurde mit 100 μ l/Kavität Schwefelsäure (1 mol/l) gestoppt und die Farbtintensität bei 450 nm gemessen. Mittels diesem Verfahren wurden sowohl die Glaskörperproben als auch die Serumproben untersucht.

3.8.4 Wiederfindbarkeit

Bei den Serumproben wurde eine Wiederfindbarkeit von 97,36% erreicht. In den Glaskörperproben konnte eine Wiederfindbarkeit von 91,6% (82,85) erreicht werden.

3.9 Statistische Auswertung

Die Auswertung der Proben erfolgte mit Microsoft Excel und SPSS (Version 18). Die Daten wurden visuell auf Normalverteilung untersucht und mit nichtparametrischen Tests auf Unterschiede untersucht (Mann-Whitney-U-Test und Kruskal-Wallis-Test). Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha=0,05$ festgesetzt.

Häufigkeitsverteilungen der Werte für die unterschiedlichen Gruppen wurden graphisch durch Boxplots (Box-/Whiskerdiagramme) dargestellt. Diese eignen sich gut um mehrere Verteilungen miteinander zu vergleichen. Eine Box beinhaltet 50% der Werte (zwei Quartile) inklusive des Medians. Die Länge der Box entspricht dem Interquartilbereich. Extremwerte werden durch die „Whiskers“ (T-Balken) dargestellt wodurch ein Eindruck vermittelt wird, wie weit die übrigen 50% der Werte (Extremwerte innerhalb des 1,5-fachen Interquartilabstandes) streuen (HARMS, 1998). Extremwerte, die außerhalb des 1,5-fachen Interquartilbereichs fallen werden als milde Ausreißer in Form eines ° dargestellt. Als extreme Ausreißer werden Werte außerhalb des dreifachen Interquartilabstandes bezeichnet und durch * dargestellt.

4 Ergebnisse

Die Versuchs- und die Kontrollgruppe wurden mittels Chi-Quadrat-Test und Mann-Whitney-U-Test auf Unterschiede in den stattgefundenen Augenveränderungen (Glaskörperverflüssigung, Glaskörpertrübung, Glaskörpereinlagerungen, stattgefundenene Entzündungsschübe) untersucht. Als Signifikanzgrenze wurde $p=0,05$ angesetzt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede der beiden Gruppen festgestellt werden.

4.1 Kulturelle Anzuchtbarkeit der Leptospiren

Bei den Kulturversuchen der intraokularen Proben aus den Augen der Kontrollgruppe konnte bei 15 von 33 Proben kein Wachstum festgestellt werden. Das entspricht 45,5% der Proben (95% Konfidenzintervall: 29,8-61,0%). Von den behandelten Tieren stellte sich bei 16 von 23 intraokularen Proben kein Wachstum ein. Dies entspricht 69,6% der Proben (95% Konfidenzintervall: 49,1-84,4%). Dieses Ergebnis ist nicht signifikant. Es ist jedoch eine Tendenz zu erkennen, dass die Kulturversuche der Proben der behandelten Tiere schlechter gelingen.

4.2 Enrofloxacinnachweis

4.2.1 Enrofloxacinnachweis im Glaskörper und im Serum

Der Mittelwert der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper der 23 untersuchten Proben liegt bei $1,06 \mu\text{g/ml}$ ($0,47- 2,20 \mu\text{g/ml}$). Im Serum erreicht die Enrofloxainkonzentration einen Mittelwert von $5,48 \mu\text{g/ml}$ ($3,08-8,209 \mu\text{g/ml}$). Der Glaskörper-Serum-Quotient beträgt $0,1938 \mu\text{g/ml}$ ($0,0761-0,5456 \mu\text{g/ml}$). 19,38% der Enrofoxacinkonzentrationserumkonzentration sind somit durchschnittlich im Glaskörper zu finden. Die häufigste prozentuale Verteilung der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper liegt bei 10-30% der dazugehörigen Enrofloxacinkonzentration im Serum (Abb. 4.1). Der Enrofloxacingehalt in den Glaskörperproben nimmt mit größerem zeitlichen Abstand zur Gabe zu (Abb. 4.2). Die prozentuale Glaskörperenrofloxacinkonzentration steigt linear mit dem zeitlichen Abstand zwischen Gabe und Probennahme (Abb. 4.3).

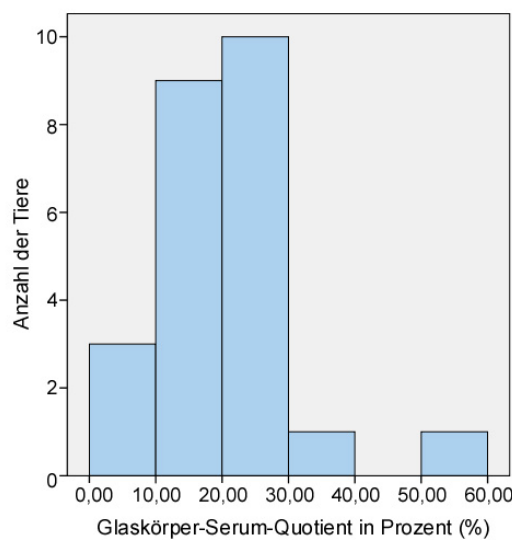


Abbildung 4.1 Glaskörper-Serum-Quotient in Prozent und dessen Verteilung auf die Anzahl der Tiere

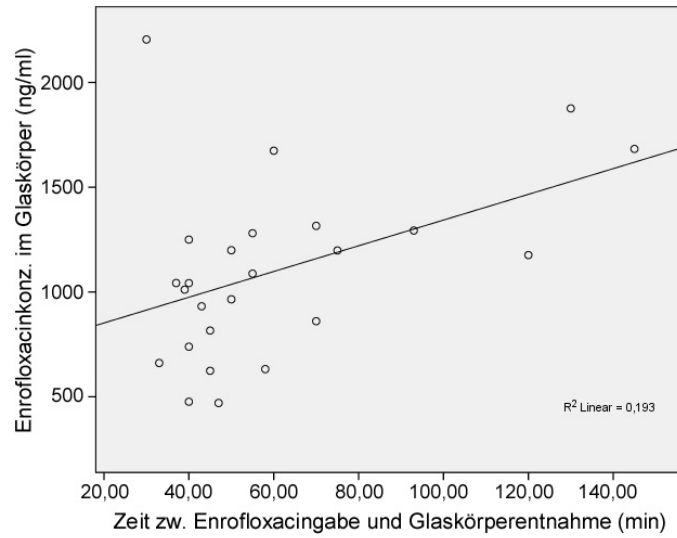


Abbildung 4.2 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper in Bezug auf den zeitlichen Abstand zur Gabe

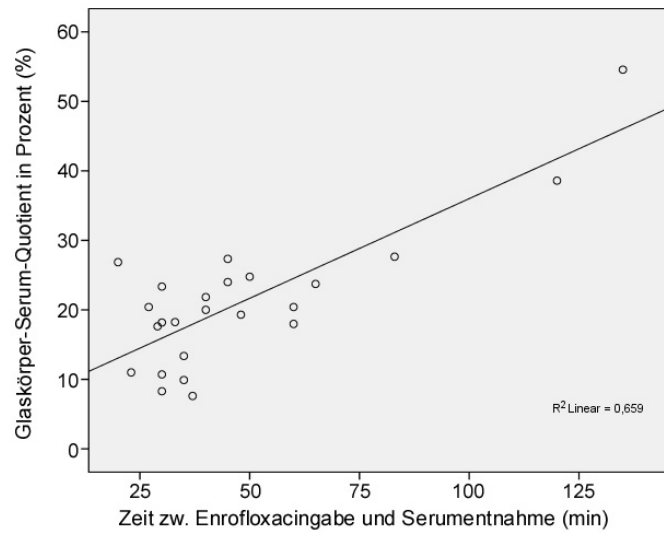


Abbildung 4.3 Glaskörper-Serum-Quotient in Prozent in Bezug auf den zeitlichen Abstand zur Gabe

4.2.2 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper und im Serum in Bezug auf die Anzahl der abgelaufenen Entzündungsschübe

Es konnte durch den Mann-Whitney-U-Test ein signifikanter Unterschied ($p=0,048$) in der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit zwei und weniger Schüben oder Tieren mit mehr als zwei erlittenen Schüben festgestellt werden (Abb.4.4). Der Mittelwert der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper der Tiere mit zwei und weniger als zwei Schüben lag bei $0,81 \mu\text{g}/\text{ml}$. Bei den Tieren, die mehr als zwei Entzündungsschübe hatten, lag der Mittelwert bei $1,14 \mu\text{g}/\text{ml}$.

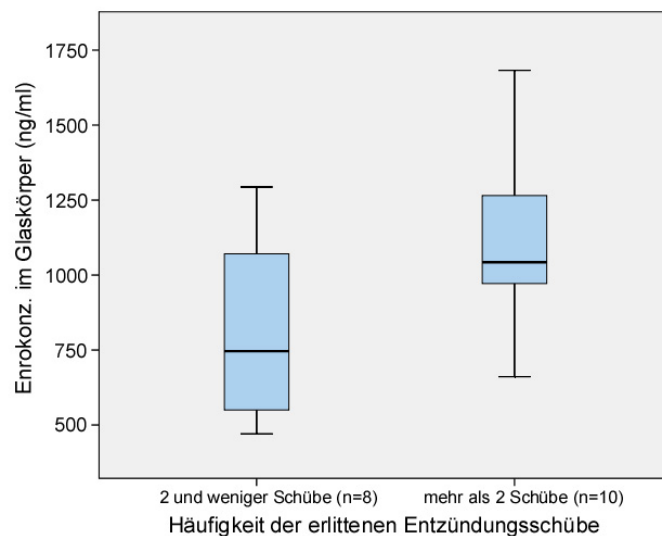


Abbildung 4.4 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit mehr oder weniger als zwei ERU-Schüben

Nach dem Mann-Whitney-Test konnte kein signifikanter Unterschied ($p=0,684$) in der Serumkonzentration zwischen Tieren mit mehr oder weniger als zwei ERU-Schüben festgestellt werden (Abb.4.5).

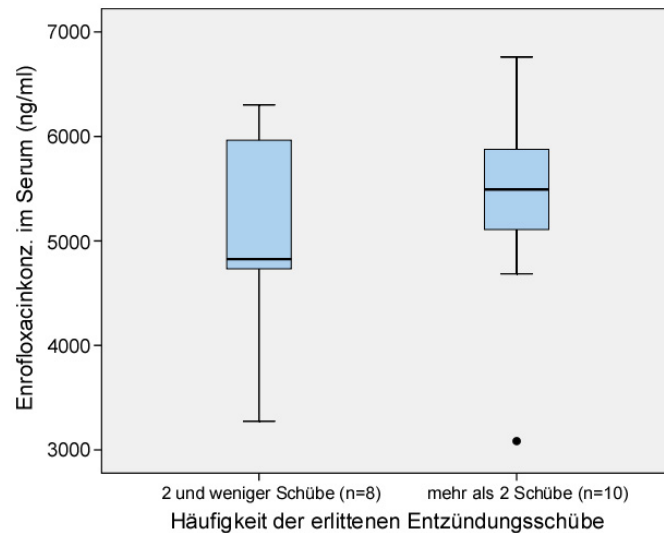


Abbildung 4.5 EnrofloxacinKonzentration im Serum bei Tieren mit mehr oder weniger als zwei ERU-Schüben

4.2.3 EnrofloxacinKonzentration in Bezug auf den Grad der entzündlichen Einlagerungen und die Glaskörpertrübung

Es konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen der EnrofloxacinKonzentration im Glaskörper und dem Grad der entzündlichen Einlagerungen festgestellt werden. Es lässt sich jedoch eine Tendenz erkennen, bei der mit höherem Grad der Einlagerungen die Konzentration von Enrofloxacin im Glaskörper steigt ($p=0,171$) (Abb.4.6).

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der EnrofloxacinKonzentration bei schwachen oder stärkeren Glaskörpertrübungen festgestellt werden. Auch eine Tendenz ließ sich nicht erkennen ($p=0,083$) (Abb.4.7).

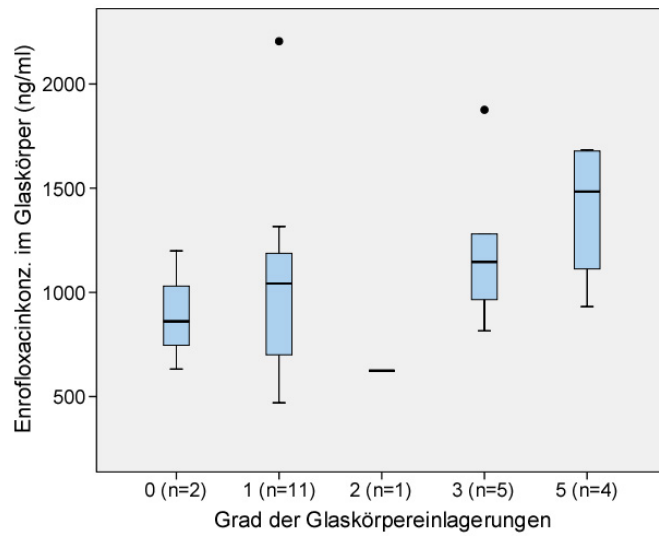


Abbildung 4.6 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit unterschiedlichen Graden von entzündlichen Einlagerungen

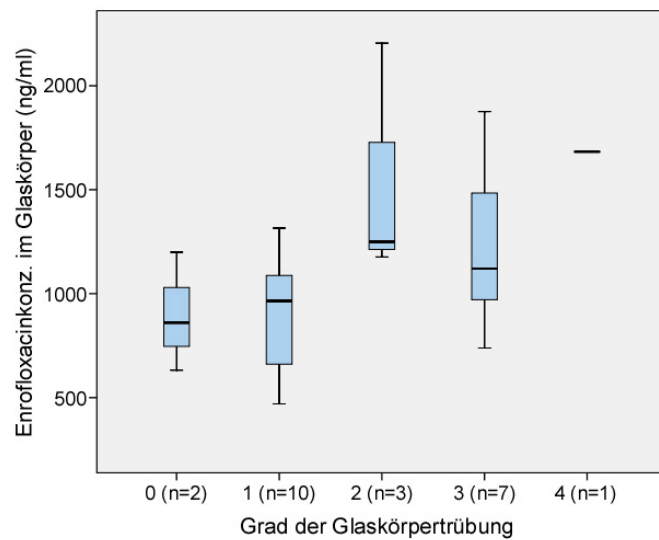


Abbildung 4.7 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit unterschiedlichen Graden von Glaskörpertrübungen

5 Diskussion

Der Schwerpunkt dieser Arbeit lag auf der Untersuchung der Enrofloxacinkonzentration in erkrankten Augen und ihrer Auswirkung auf die Anzuchtbarkeit von Leptospiren aus Glaskörperproben. Die erkrankten Augen der Versuchs- und Kontrollgruppe wiesen im Vergleich ihrer pathologischen Veränderungen keine signifikanten Unterschiede auf. Deshalb ist anzunehmen, dass ein Vergleich der beiden Gruppen, trotz ihrer geringen Größe, berechtigt ist.

5.1 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper und im Serum. Enrofloxacin und zeitlicher Abstand zur Gabe

Die Enrofloxacinkonzentration im Serum betrug nach intravenöser Verabreichung von 7,5 mg/kg Enrofloxacin im Mittel 5,48 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Die Serumproben wurden im Durchschnitt 50 min nach der Enrofloxacingabe gewonnen. Im Glaskörper wurde ein Mittelwert von 1,06 $\mu\text{g}/\text{ml}$ erreicht. Bei den Glaskörperproben lag der Entnahmezeitpunkt im Durchschnitt 60 min nach der Enrofloxacingabe. Dies entspricht in etwa Ergebnissen früherer Studien. GIGUÈRE und BÉLANGER (1997) konnten in einer Studie über Enrofloxacinanreicherung im Gewebe von Pferden eine Stunde nach oraler Enrofloxacingabe bei zwei Pferden 5,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Enrofloxacin im Serum und 0,5 und 1,7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ im Glaskörper messen. Die Autoren konnten im Glaskörper von Pferden höhere Konzentrationen als im Kammerwasser erreichen. Sie gaben für Konzentrationen von Enrofloxacin in Gehirn, Linse, Glaskörper und Kammerwasser einen Wert von 10-20% der Serumkonzentration an. DIVERS et al. (2008) erreichten bei Untersuchungen an gesunden Pferden im Kammerwasser

Enrofloxacinkonzentrationen mit einem Mittelwert von 0,319 $\mu\text{g}/\text{ml}$ nach drei Enrofloxacingaben. Nach vier Gaben und vorangegangener Parazentese konnten sie 0,548 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Enrofloxacin im Kammerwasser nachweisen. Die Enrofloxacinkonzentrationen im Kammerwasser entsprachen bei DIVERS et al. (2008) 6-11% der Serumkonzentrationen.

In der vorliegenden Studie lag in Glaskörperproben die häufigste prozentuale Verteilung der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei 10-30% der Serumkonzentration. Die größere Breite der Werte dieser Studie könnte zum einen auf den divergierenden Abstand zwischen Medikamentengabe und Probenahme und zum anderen auf der unterschiedlichen Schädigung der Augen beruhen. Außerdem erhielten die Pferde der Studie von GIGUÈRE und BÉLANGER (1997) 5,0 mg/kg Enrofloxacin alle 12 Stunden oral, während in dieser Studie und bei DIVERS et al. (2008) die Pferde einmal täglich 7,5 mg/kg Enrofloxacin intravenös verabreicht bekamen. Bei Betrachtung des zeitlichen Abstandes zwischen Enrofloxacingabe und Probenentnahme konnte bei größerem zeitlichen Abstand eine Zunahme des prozentualen Anteils der Enrofloxacinserumkonzentration im Glaskörper beobachtet werden. Es kann also davon ausgegangen werden, dass bei einem Großteil der schon relativ kurzzeitig nach Wirkstoffgabe gewonnenen Glaskörperproben die maximale Wirkstoffkonzentration noch nicht erreicht war.

Sowohl der in anderen Studien oft verwendete Bioassay als auch der in dieser Arbeit verwendete ELISA, unterscheiden nicht zwischen Enrofloxacin und Ciprofloxacin. Dieser ELISA besitzt allerdings eine höhere Affinität zu Enrofloxacin als zu Ciprofloxacin. KAARTINEN et al. (1997) verglichen in ihrer Studie den chemisch und antimikrobiell bestimmten Wirkstoffgehalt und kamen zu dem Schluss, dass der Hauptteil der antimikrobiellen Wirkung von der Ausgangssubstanz ausgeht. Eine andere Studie zeigt, dass ein Bioassay die kombinierten Enrofloxacin- und Ciprofloxacinkonzentrationen überbewerten kann (CESTER et al., 1996). In einer Studie von PAPICH et al. (2002) an Stuten und der Studie von DIVERS et al. (2008) erreichte die Ciprofloxacinkonzentration im Blut nur einen geringen Teil der entsprechenden Enrofloxacinkonzentration. So konnte im Serum eine Ciprofloxacinkonzentrationen von 12% der dazugehörigen Enrofloxacinkonzentration nachgewiesen werden. Im Kammerwasser wurden noch geringere Konzentrationen von nur 2% der Enrofloxacinkonzentration gemessen. In einer klinischen Studie

wie dieser sollte daher der hier verwendete ELISA, aufgrund der geringen Ciprofloxacinkonzentrationen, ausreichend sein, um eine Enrofloxacinkonzentration zu bestimmen. Natürlich muss ein Vergleich von Werten, die mit unterschiedlichen Methoden nachgewiesen wurden, mit Vorsicht betrachtet werden.

5.1.1 Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper in Bezug auf die Anzahl der Entzündungsschübe, den Grad der entzündlichen Glaskörpereinlagerungen und den Grad der Glaskörpertrübung

Es konnte ein signifikanter Unterschied ($p=0,048$) in der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper von Tieren mit zwei und weniger und von Tieren mit mehr als zwei abgelaufenen Entzündungsschüben festgestellt werden. Bei dem Vergleich des Grades der entzündlichen Einlagerungen ließ sich eine Tendenz beobachten, dass in Augen mit stärker ausgeprägten Einlagerungen höhere Enrofloxacinkonzentrationen erreicht wurden. Es wäre denkbar, dass dies auf eine weiter fortgeschrittene Schädigung der Blut-Augen-Schranke zurückzuführen ist. Schon HALLIWELL und HINES (1985) wiesen bei an ERU erkrankten Pferden höhere Albuminwerte im Auge nach, was sie mit einer Schädigung der Blut-Augen-Schranke durch Entzündungen begründeten. DERNOUCHAMPS und MICHIELS (1977) nehmen nach Untersuchungen bei Menschen mit unterschiedlichen Graden von Uveitis an, dass die Durchlässigkeit der Blut-Augen-Schranke in Proportion zu der Schwere der Uveitis steht. DIVERS et al. (2008) konnten nach einer Parazentese bei Pferdeaugen höhere intraokulare Wirkstoffkonzentrationen erreichen, was die Autoren ebenfalls mit einer Schädigung der Blut-Augen-Schranke begründeten. JAMPEL et al. (1992) zeigten ebenfalls bei einer Studie an Affen, dass eine Parazentese der vorderen Augenkammer zu einer kurzzeitigen Unterbrechung der Blut-Augen-Schranke führt.

ALFARO et al. (1996) wiesen in traumatisierten Augen von Kaninchen und Schweinen höhere Konzentrationen an Antibiotika, wie zum Beispiel Ciprofloxacin und Cefazolin, als in ungeschädigten Augen nach. ÖZTÜRK et al. (1999) konnten bei

traumatisierten Augen von Kaninchen höhere und länger anhaltende Konzentrationen von Ofloxacin, eines anderen Fluorochinolons, als in gesunden Augen nachweisen. Diese Beobachtung könnte dafür sprechen, dass die hier erreichten hohen Enrofloxacinkonzentrationen, in durch Entzündungen veränderten Augen, auf eine Schädigung der Blut-Augen-Schranke zurückzuführen ist. Auf andere Antibiotika wie Gentamicin scheinen Entzündungen einen entgegengesetzten Effekt zu haben. So konnten in anderen Studien an Kaninchen niedrigere Gentamicinkonzentrationen in entzündeten Augen als in gesunden Augen festgestellt werden. Vermutlich ist dies auf unterschiedliche Ausscheidungs- und Transportwege zurückzuführen (KANE et al., 1981; BARZA et al., 1993).

Eine zunehmende Glaskörpertrübung konnte nicht mit erhöhten Wirkstoffkonzentrationen in Zusammenhang gebracht werden. Sie scheint hier nicht mit einer eventuellen Schädigung der Blut-Augen-Schranke in Verbindung zu stehen.

5.2 Kultureller Nachweis von Leptospiren nach Behandlung mit Enrofloxacin

Bei dem Versuch Leptospiren aus den intraokularen Proben anzuzüchten, ließ sich in dieser Studie eine Tendenz zu einer geringeren Anzüchtbarkeit bei mit Enrofloxacin behandelten Pferden erkennen. Bei Proben aus behandelten Augen konnte bei 69,9% der Proben kein Leptospirenwachstum festgestellt werden, während bei den Kulturen aus der Kontrollgruppe ein geringerer Prozentsatz von 45,5% kein Leptospirenwachstum zeigte. Der Unterschied erreichte kein Signifikanzniveau. Die Minimal inhibitory concentration (MIC) von Enrofloxacin gegen Leptospiren spp. wird mit 0,05-0,39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ angegeben, ebenso wie auch die Minimal bacterial concentration (MBC) bei 0,05-0,39 $\mu\text{g}/\text{ml}$ liegen soll (KIM et al., 2006). Die Enrofloxacinkonzentrationen, die in dieser Untersuchung im Glaskörper erreicht wurden, liegen mit einem Mittelwert von 1,06 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0,47- 2,20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) deutlich über den angegebenen Werten.

Die in dieser Studie erreichten Enrofloxacinkonzentrationen im Glaskörper sprechen für eine Schädigung der Blutaugenschranke. Auch lässt sich daraus schließen,

dass Enrofloxacin wie auch vermutlich Ofloxacin über den retinalen oder auch posterioren Weg ausgeschieden wird (ÖZTÜRK et al., 1999). In durch Entzündungen geschädigten Augen wurden bei Antibiotika, die über den posterioren Weg eliminiert werden, längere Halbwertszeiten erreicht. Entzündungen haben hier einen doppelten Effekt und erhöhen zum einen die Durchlässigkeit der Blut-Augen-Schranke und verzögern zum anderen den Abtransport über die retinalen Pumpen. Dies führt zu höheren und länger anhaltenden Wirkstoffspiegeln in geschädigten Augen (FICKER et al., 1990; BARZA et al., 1993; ÖZTÜRK et al., 1999).

HAINES et al. (2000) zweifeln an der Wirksamkeit einer ein- oder zweimaligen, oralen Gabe von Enrofloxacin, um Bakterien mit einer MIC größer $0,25 \mu\text{g/ml}$ zu bekämpfen. KAARTINEN et al. (1997) hielt eine dreimalige Behandlung für ausreichend, um einen Steady State zu erreichen. In dieser Studie erhielt der Großteil der Tiere drei intravenöse Gaben Enrofloxacin. Die Proben mit positiven Kulturergebnissen stammten von Tieren, die vier intravenöse Gaben und einem Tier, das sechs intravenöse Gaben Enrofloxacin erhalten hatten. Bei diesen Proben lagen die Konzentrationen alle über der angegebenen MIC. Der Konzentrationsverlauf konnte in der vorliegenden Arbeit nicht weiter verfolgt werden, jedoch könnten auch die niedrigeren Konzentrationen eine ausreichende Wirksamkeit besitzen, da Fluorochinolone einen langen postantibiotischen Effekt besitzen sollen. Es könnte daher eine effektive Wirkung vorhanden sein, ohne eine dauerhafte Aufrechterhaltung der MIC zu gewährleisten (ATHAMNA et al., 2004). Diese Ergebnisse werfen die Frage auf, ob sich die MIC in vivo gegebenenfalls von der in In-Vitro-Studien herausgefundenen Konzentration unterscheidet, und ob Leptospiren im Auge über einen zusätzlichen Schutzmechanismus verfügen könnten.

5.3 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit wurden Enrofloxacinkonzentrationen in Glaskörperproben von durch ERU geschädigten Augen nach intravenöser Gabe von $7,5 \text{ mg/kg}$ Enrofloxacin nachgewiesen. Im Glaskörper konnten Enrofloxacinkonzentrationen mit einem Mittelwert von $1,06 \mu\text{g/ml}$ erreicht werden. Ähnliche Werte konnten GIGUÈRE und BÉLANGER (1997) in einer Studie über Enrofloxacinanreicherung im

Gewebe von Pferden im Glaskörper messen. Auch DIVERS et al. (2008) konnten in ihrer Studie über Enrofloxacin im gesunden Pferdeauge hohe Enrofloxacinkonzentrationen im Kammerwasser erreichen. Die erreichten Enrofloxacinkonzentrationen der vorliegenden Arbeit lagen deutlich über der in vitro bestimmten MIC und MBC von Leptospiren. Der relativ große Anteil an positiven Kulturergebnissen (30,1%) der Proben aus Augen von behandelten Pferden wirft die Frage nach einer höheren Unempfindlichkeit gegenüber Enrofloxacin von Leptospiren im Auge als in In-vitro-Studien auf.

Bei einer höheren Anzahl von abgelaufenen Entzündungsschüben und Veränderungen im Augenninneren, wie entzündliche Einlagerungen, konnten höhere Enrofloxacinkonzentrationen im Glaskörper nachgewiesen werden, was vermutlich auf eine Schädigung der Blut-Augen-Schranke zurückzuführen ist. Dieses Ergebnis könnte auch bei der Behandlung von anderen infektiösen Endophthalmitiden von Vorteil sein.

Fraglich ist weiterhin, ob eine Enrofloxacintherapie die Immunkomponente der ERU beeinflussen kann. DEEG et al. (2001) halten eine Immunreaktion auf okuläre Antigene für den Schlüssel der Aufrechterhaltung der Augenentzündungen. Auch andere Autoren sprechen einer abnormalen Immunantwort eine Rolle in der ERU zu (PARMA et al., 1985; ROMEIKE et al., 1998). Bei einer operativen Therapie durch eine Vitrektomie wird zusätzlich zu den Leptospiren auch das strukturelle Gitterwerk des Glaskörpers entfernt, das von Autoren als „Immunspeicher“ oder auch „immunologisches Gedächtnis der chronischen Uveitis“ bezeichnet wird (KLÖTLI, 1981; WERRY und HONEGGER, 1987). Dieser Effekt, der für die guten Therapieerfolge mit ausschlaggebend sein könnte, kann durch eine medikamentöse Therapie nicht erreicht werden.

Es wird hier vor einem Verlass auf eine alleinige Enrofloxacintherapie bei einer Erkrankung an ERU gewarnt, so lange ein Therapieerfolg durch Langzeitstudien nicht belegt ist.

Die Enrofloxacininfusionen wurden in dieser Studie gut vertragen. Es sollte bei einer Enrofloxacintherapie dennoch über eine mögliche orale Gabe nachgedacht werden. HAINES et al. (2000) berichten von einer möglichen Bioverfügbarkeit von 80% nach einer oralen Enrofloxacingabe. Bei einer oralen Verabreichung wäre

außerdem der instrumentelle Aufwand geringer und es könnte das Risiko einer möglichen Venenreizung umgangen werden.

6 Zusammenfassung

Hintergrund Die equine rezidivierende Uveitis (ERU) ist die weltweit am häufigsten auftretende und oft zur Erblindung führende Augenerkrankung der Pferde. Sie ist gekennzeichnet durch eine akut auftretende, chronisch rezidivierende fibrinöse-serohaemorrhagische Entzündung der Uvea. In an ERU erkrankten Augen konnten Leptospiren (in bis zu 75%) und Antikörper gegen Leptospiren (in bis zu 90%) nachgewiesen werden. Bisher bestand eine Therapie in einer konservativen Behandlung des akuten Stadiums. Mit großem Erfolg konnte ein wiederholtes Auftreten der Entzündungsschübe durch eine Entfernung des Glaskörpers und eine Spülung des Augeninneren (Vitrektomie) verhindert werden. Eine antibiotische Therapie bei akuter Uveitis, die sich bei vermuteter Leptospirenätiologie anbieten würde, konnte sich bisher nicht etablieren. Eine Schwierigkeit in der antibiotischen Behandlung von Augenkrankheiten liegt in der Blut-Augen-Schranke, die eine natürliche Barriere zum Schutz des Auges darstellt und ein Hindernis für viele pharmakologische Substanzen bildet.

Ziel Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die Untersuchung der Auswirkungen einer intravenösen Enrofloxacinverabreichung auf die Anzüchtbarkeit von Leptospiren in Glaskörperproben aus uveitischen Pferdeaugen. Desweiteren wurde eine Überprüfung der EnrofloxacinKonzentration im Glaskörper und Serum vorgenommen und eine etwaige Therapiemöglichkeit bei ERU mit Enrofloxacin betrachtet.

Patienten und Methoden 25 an ERU erkrankte Pferde erhielten eine mehrmalige Gabe von Enrofloxacin in einer Dosierung von 7,5 mg/kg. Von dieser Gruppe wurden in Serum- und Glaskörperproben mittels ELISA die EnrofloxacinKonzentration ermittelt. Die EnrofloxacinKonzentration wurde in Bezug auf die Schädigung der Augen und den bisherigen Verlauf der Erkrankung gesetzt. Desweiteren wurde

durch MAR und ELISA auf eine intraokulare Leptospireninfektion getestet und bei positivem Ergebnis das Leptospirenwachstum in den Glaskörperproben mittels Kultur untersucht. Proben von 35 ERU erkrankten Pferden, die kein Enrofloxacin erhielten, dienten als Kontrollgruppe und wurden nach voran gegangenem Nachweis einer Leptospireninfektion mittels MAR und ELISA ebenfalls kulturell untersucht.

Ergebnisse Leptospirenkulturversuche aus Glaskörperproben von mit Enrofloxacin behandelten Pferden gelangen schlechter (bei 69,6% kein Wachstum) als Kulturen der Proben der Kontrollgruppe (bei 45,5% kein Wachstum). Die Werte erreichten kein Signifikanzniveau. Hier lässt sich allenfalls eine Tendenz zu geringerem Wachstum erkennen.

Der Mittelwert der Enrofloxacinkonzentration lag in den Glaskörperproben bei $1,06 \mu\text{g/ml}$ ($0,47\text{-}2,20 \mu\text{g/ml}$). Im Serum wurde ein Mittelwert von $5,48 \mu\text{g/ml}$ ($3,08\text{-}8,209 \mu\text{g/ml}$) erreicht. Durch den Mann-Whitney-Test konnte ein signifikanter Unterschied in der Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit zwei und weniger oder Tieren mit mehr als zwei erlittenen Schüben festgestellt werden. Es ließ sich eine Tendenz erkennen, bei der die Enrofloxacinkonzentration mit höherem Grad der entzündlichen Einlagerungen im Glaskörper zunimmt.

Schlussfolgerung Die in der vorliegenden Arbeit erreichten Enrofloxacinkonzentrationen im Glaskörper und im Serum lagen deutlich über der in vitro bestimmten MIC und MBC von Leptospiren. Der relativ große Anteil der positiven Leptospirenkulturen aus Proben von behandelten Pferden könnte auf eine größere Unempfindlichkeit der Leptospiren im Auge gegenüber Enrofloxacin hinweisen. Die Zunahme der Enrofloxacinkonzentration in Augen mit mehreren durchlittenen Entzündungsschüben und Augen mit zunehmenden entzündlichen Einlagerungen könnte mit einer stärkeren Schädigung der Blut-Augen-Schranke zu begründen sein. Es ist fraglich ob eine Enrofloxacinbehandlung als alleinige Therapie einer ERU ausreichend ist, da bei dieser Erkrankung auch von einer Immunkomponente neben der Leptospireninfektion ausgegangen wird.

7 Summary

Introduction Equine recurrent uveitis (ERU) is the most common ocular disease in horses worldwide and often leads to blindness. The ERU represents an acute manifestation of a chronic recurrent fibrinous-serohemorrhagic inflammation of the uvea. In equine eyes with recurrent uveitis it was possible to isolate leptospire (up to 75%) as well as detect leptospire specific antibodies (up to 90%). So far the disease has been treated conservatively in the acute attack of inflammation. Vitrectomy was used with great success to prevent recurrent uveitis episodes. Antimicrobial therapy of acute uveitis is not yet established, despite being a favorable therapy if an association of leptospirosis in ERU is assumed. A difficulty in the antimicrobial treatment of ocular diseases is the blood-ocular-barrier, a natural protection of the eye, which forms an obstacle to many drugs.

Objective Objective of this study was to examine the effects of intravenously administered enrofloxacin on cultures for detection of leptospire in vitreous samples. Furthermore, an examination of enrofloxacin concentrations in the vitreous humor and serum was made and a possible treatment for ERU with enrofloxacin was considered.

Materials and methods 25 horses diagnosed with ERU received repeated administrations of enrofloxacin in a dosage of 7,5 mg/kg. In this group serum enrofloxacin concentrations and vitreous humour enrofloxacin concentrations were determined using ELISA. Enrofloxacin concentrations were related to the damage of the eyes and the previous course of the disease. Additionally the vitreous samples were subjected to MAR and ELISA testing for the presence of intraocular infection with leptospire and, if positive, cultured for leptospiral growth. Samples taken of 35 horses diagnosed with ERU, but not having been administered enrofloxacin

served as control group. The samples were cultured as well after positiv testing for intraocular infection with leptospire by MAR and ELISA.

Results There were more cultures without leptospiral growth among horses receiving enrofloxacin (69,6% without growth) than were in the control group (45,5% without growth). There is a trend, but there was no significant difference.

The mean enrofloxacin concentration in the vitreous humour was 1,06 7,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (0,47- 2,20 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Enrofloxacin concentration in the serum was 5,48 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (3,08- 8,209 $\mu\text{g}/\text{ml}$). The mann-whitney-test revealed a significant difference in the enrofloxacin concentration of horses that had suffered from two or less recurrent episodes of uveitis and horses that had suffered from more than two recurrent episodes. There is a trend for higher enrofloxacin concentrations in eyes with increasing inflammatory products (floaters).

Conclusions The vitreous humour concentrations and serum concentrations of enrofloxacin achieved in the present study were highly above the MIC and MBC for *Leptospira* determined in in-vitro studies. The high proportion of positive cultures taken from horses treated with enrofloxacin may indicate that leptospire in the eye have a heightened insensibility against enrofloxacin. Increasing enrofloxacin concentrations in eyes that had experienced several inflammatory episodes and in eyes with progressive inflammatory products may be the result of an disruption of the blood-ocular-barrier. It is questionable wether the enrofloxacin therapy as an exclusive therapy is an adequate treatment of ERU because of the immune mechanisms which are assumed to be present in addition to the leptospiral infection.

Literaturverzeichnis

- AHMAD S.N., SHAH S. und AHMAD F.M. (2005) *Laboratory diagnosis of leptospirosis*. J Postgrad Med **51**, **3**: 195–200.
- ALFARO D.V., HUDSON S.J., RAFANAN M.M., MOSS S.T. und LEVY S.D.P. (1996) *The effect of trauma on the ocular penetration of intravenous ciprofloxacin*. American Journal of Ophthalmology **122**, **5**: 678–683.
- AMSLER M. (1946) *L'épreuve clinique de la perméabilité de la barrière hémato-oculaire à la fluoresceine*. Bull Soc Ophthalmol Fr **59**: 304–310.
- APPELBAUM P.C. und HUNTER P.A. (2000) *The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives*. International Journal of Antimicrobial Agents **16**: 5–15.
- ATHAMNA A., ATHAMNA M., MEDLEJ B., BAST D.J. und RUBINSTEIN E. (2004) *In vitro post-antibiotic effect of fluoroquinolones, macrolides, betalactams, tetracyclines, vancomycin, clindamycin, linezolid, chloramphenicol, quinupristin/dalfopristin and rifampicin on Bacillus anthracis*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy **53**: 609–615.
- BARNETT K.C., CRISPIN S.M., LAVACH J.D. und MATTHEWS A.G. (1995) Uveitis. In: Color atlas and text of equine ophthalmology. Mosby-Wolfe, London, Baltimore, S. 166-170.
- BARZA M., LYNCH E. und BAUM J.L. (1993) *Pharmacokinetics of newer cephalosporins after subconjunctival and vitreal injection in rabbits*. Arch Ophthalmol **111**: 121–125.

- BERNARD W.V. (1993) *Leptospirosis*. Veterinary Clinics of North America: Equine Practice **9**, **2**: 435–444.
- BERNARD W.V., BOLIN C., RIDDLE T., DURANDO M., SMITH B.J. und TRAMONTIN R.R. (1993) *Leptospiral abortion and leptospiruria in horses from the same farm*. J Am Vet Med Assoc **202**, **8**, April **15**: 1285–1286.
- BLEEKER G.M. und MAAS E.H. (1958) *Penetration of Penethamate, a Penicillin Ester, into the Tissues of the Eye*. Archives of Ophthalmology **60**: 1013–1020.
- BOHL E.H. und FERGUSON L.C. (1952) *Leptosirosis in domestic animals*. J Am Vet Med Assoc **909**, **Dez.**: 421–428.
- BRAMEL R.G. und SCHEIDY S.F. (1956) *The Effect of Revaccination of Horses and Cattle with Leptospira Pomona Bacterin*. J Am Vet Med Assoc **15**, **April**: 399–400.
- BRANDES K., WOLLANKE B., NIEDERMAIER G., BREM S. und GERHARDS H. (2007) *Recurrent Uveitis in Horses: Vitreal Examinations with Ultrastructural Detection of Leptospirosis*. J Vet Med **54**: 270–275.
- BRAUN D. (1994) *Die Geschichte der Erforschung und Behandlung der "periodischen Augenentzündung" des Pferdes im deutschsprachigen Raum von 1750-1950*. München, LMU, Veterinärmed. Fakult. Diss.
- BREM S., GERHARDS H., WOLLANKE B., MEYER P. und KOPP H. (1998) *Intraokularer Leptospirennachweis bei 4 Pferden mit rezidivierender Uveitis (ERU)*. Berl Münch Tierärztl Wschr **111**: 415–417.
- BREM S., GERHARDS H., WOLLANKE B., MEYER P. und KOPP H. (1999a) *35 Leptospirenisolationen aus Glaskörpern von 32 Pferden mit rezidivierender Uveitis (ERU)*. Berl Münch Tierärztl Wschr **112**: 390–393.
- BREM S., KOPP H., P.MEYER und HOLLAND P. (1988) *Erste Isolation von Leptospira Serovar hardjo in der Bundesrepublik Deutschland*. Berl Münch Tierärztl Wschr **101**: 419–421.

- BREM S., STAAK C., SCHÖNBERG A., KOPP H. und MEYER P. (1999b) *Beitrag zur Leptospirenserologie des Hundes. Vergleich von MAR- und ELISA-Ergebnissen.* Tierärztliche Umschau **54**: 83–87.
- BRYANS J.T. (1955) *Studies on equine Leptospirosis.* Cornell Vet **45**: 16–50.
- BURGESS E.C., GILLETTE D. und PICKET J.P. (1986) *Arthritis and panuveitis as manifestations of Borrelia burgdorferi infection in a Wisconsin pony.* J Am Vet Med Assoc **189**: 1340–1342.
- CESTER C.C., SCHNEIDER M. und TOUTAIN P.L. (1996) *Comparative kinetics of two orally administered fluoroquinolones in dog: enrofloxacin versus marbofloxacin.* Revue Méd Vét **147**: 703–716.
- CHEN F. und LO H. (2003) *Molekular mechanisms of fluoroquinolone resistance.* J Microbiol Immunol Infect **36**: 1–9.
- CROSS R.S.N. (1966) *Equine Periodic Ophthalmia.* Veterinary Record **78**, **1**: 8–13.
- CUNHA-VAZ J. (1979) *The Blood- Ocular Barriers.* Survey of Ophthalmology **23**, **5**: 279–296.
- CUNHA-VAZ J.G. (1997) *The blood-ocular barriers: past, present, and future.* Documenta Ophthalmologica **93**: 149–157.
- DAVIDSON M.G., NASISSE M.P. und ROBERTS S.M. (1987) *Immunodiagnosis of leptospiral uveitis in two horses.* Equine Veterinary Journal **19**, **2**: 155–157.
- DAVSON H., DUKE-ELDER W.S., MAURICE D.M., ROSS E.J. und WOODIN A.M. (1949) *The penetration of some electrolytes and non-electrolytes into the aqueous humor and vitreous body of the cat.* J Physiol **108**: 203–217.
- DEEG C.A. (2008) *Ocular immunology in equine recurrent uveitis.* Veterinary Ophthalmology **11**, **Supplement 1**: 61–65.
- DEEG C.A., KASPERS B., GERHARDS H., THURNAU S.R., WOLLANKE B. und WILDNER G. (2001) *Immune Response to Retinal Autoantigens and Peptides in Equine*

- Recurrent Uveitis*. Invest Ophthalmol Vis Sci **42**, **2**: 393–398.
- DEEG C.A., MARTI E. und C. GAILLARD (2004) *Equine recurrent uveitis is strongly associated with the MHC class I haplotype ELA-A9*. Equine Veterinary Journal **36**, **1**: 73–75.
- DERNOUCHAMPS J.P. und MICHIELS J. (1977) *Molecular Sieve Properties of the Blood-Aqueous Barrier in Uveitis*. Exp Eye Res **25**: 25–31.
- DIVERS T.J., IRBY N.L., MOHAMMED H.O. und SCHWARK W.S. (2008) *Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse*. Equine Veterinary Journal **40**, **2**: 167–170.
- DIXON P. und COPPACK R. (2002) *Equine recurrent uveitis*. Veterinary Record **27**: 556.
- DRLICA K. und ZHAO X. (1997) *DNA Gyrase, Topoisomerase IV, and the 4-Quinolones*. Microbiology and Molecular Biology Reviews **61**, **3**: 377–392.
- DUTTA T.K. und CHRISTOPHER M. (2005) *Leptospirosis - An Overview*. J Assoc Physicans India **53**: 545–551.
- DWYER A. und GILGER B.C. (2005) *Equine Recurrent Uveitis, Clinical Anatomy and Physiology*. In: Brian C. Gilger (Hrsg.): *Equine Ophthalmology*, Elsevier Saunders Verlag, St. Louis, Missouri, 286-289.
- DWYER A.E., CROCKETT R.S. und KALSOW C.M. (1995) *Association of leptospiral seroreactivity and breed with uveitis and blindness in horses: 372 cases (1986-1993)*. J Am Vet Med Assoc **207**, **10**: 1327–1331.
- ELLIS W.A., BRYSON D.G., O'BRIEN J.J. und NEILL S.D. (1983) *Leptospiral infection in aborted equine fetuses*. Equine Veterinary Journal **15**, **4**: 321–324.
- ERRINGTON B.J. (1941) *Ophthalmology in Equidae*. J Am Vet Med Assoc **108**: 115–123.
- ESTHER C.J. und SCHMIDT H. (2007) *Pharmakologie und Toxicologie für Studium und Praxis*. Claus-Jürgen Esther und Harald Schmidt (Hrsg.) Schattauer GmbH, Stuttgart.

6.Auflage.

- FABER N.A., CRAWFORD M., LEFEBVRE R.B., BUYUKMIHIC N.C., MADIGAN J.E. und WILLTS N.H. (2000) *Detection of Leptospira spp. in the Aqueous Humor of Horses with Naturally Acquired Recurrent Uveitis*. J Clin Microbiol **38**: 2731–2733.
- FICKER L., MEREDITH T.A., GARDNER S. und WILSON L. (1990) *Cefszolin Levels after intravitreal injection. Effects of inflammation and surgery*. Invest Ophthal Vis Sci **31**, **3**: 502–505.
- FREY H.H. und LÖSCHER W. (2010) *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*. H.-H. Frey und W. Löscher (Hrsg.). Enke Verlag, Stuttgart. 3.Auflage. 456-460.
- FRÜHAUF B., OHNESORGE B., DEEGEN E. und BOEVÉ M. (1998) *Surgical management of equine recurrent uveitis with single port pars plana vitrectomy*. Veterinary Ophthalmology **1**: 137–151.
- GARRITY G.M. und HOLT J.G. (2001) *Taxonomic outline of the archaea and bacteria*. In: Garrity G. M. , Boone D. R. u. Castenholz R. W. (Hrsg.): *Bergey's manual of systemic bacteriology Vol. 1, 2. Aufl.*, Springer-Verlag, New York, Berlin, Heidelberg.
- GERHARDS H. und WOLLANKE B. (2001) *Uveitis bei Pferden - Diagnose und Therapie*. Pferdeheilkunde **17** **4**: 319–329.
- GERHARDS H. und WOLLANKE B. (2005) *Surgical treatment of Equine Recurrent Uveitis: Trans-Pars-plana-Vitrectomy in Horses*. in B. C. Gilger (Hrsg.). *Equine Ophthalmology*. Elsevier Saunders, 314-319.
- GERHARDS H., WOLLANKE B. und BREM S. (1999) *Vitrectomy as a diagnostic and therapeutic approach for equine recurrent uveitis (ERU)*. Proceedings 45th Ann Conv AAEP, Albuquerque 89–93.
- GESELL S. (2004) *Gibt es eine asymptomatische intraokulare Leptospireninfektion beim Pferd?* Tiermedizinische Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität.

- GIGUÈRE S. und BÉLANGER M. (1997) *Concentration of enrofloxacin in equine tissue after long term oral administration*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* **20**: 402–404.
- GILGER B.C., MALOK E., CUTTER K.V., STEWART T., HOROHOV D.W. und ALLEN J.B. (1999) *Charakterization of T-lymphocytes in the anterior uvea of eyes with chronic equine recurrent uveitis*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **71**: 17–28.
- GILGER B.C., MALOK E., STEWART T., ASHTON P., SMITH T., JAFFE G.J. und ALLEN J.B. (2000a) *Long-term effect on the equine eye of an intravitreal device used for sustained release of cyclosporine A*. *Veterinary Ophthalmology* **3**: 105–110.
- GILGER B.C., MALOK E., STEWART T., HOROHOV D., ASHTON P., SMITH T., JAFFE G.J. und ALLEN J.B. (2000b) *Effect of an intravitreal cyclosporine implant on experimental uveitis in horses*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **76**: 239–255.
- GILGER B.C. und MICHAU T.M. (2004) *Equine recurrent uveitis: new methods of management*. *Veterinary Clinics Equine Practice* **20**: 417–427.
- GILGER B.C., SALMON J.H., WILKIE D.A., CRUYSBERG L.P.J., KIM J., HAYAT M., KIM H., KIM S., YUAN P., LEE S.S., HARRINGTON S.M., MURRAY P.R., EDELHAUSER H.F., CSAKY K.G. und ROBINSON M.R. (2006) *A novel bioerodible deep scleral lamellar Cyclosporine implant for uveitis*. *Invest Ophthal Vis Sci* **47**, **6**: 2596–2605.
- GILMOUR M.A., CLARKE C.R., MCALLISTER C.G., DEDEO J.M., CAUDELL D.L., MORTON R.J. und PUGH M. (2005) *Ocular penetration of oral doxycycline in the horse*. *Veterinary Ophthalmology* **8**, **5**: 331–335.
- GÄRTNER A. (2006) *Entwicklung und Charakterisierung von Enzymimmuntests für den Nachweis von Fluorochinolonen*. Dissertation an dem Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.
- GSELL O. (1949) *Klinik der Leptospirenerkrankungen*. In: H. Assmann, A. Schittenhelm, R. Schoen, E. Glanzmann u. B. De Rudder (Hrsg.): *Ergebnisse der Inneren Medizin und*

- Kinderheilkunde. Neue Folge, Bd I. Springer-Verlag Berlin, Göttingen, 367-466.*
- GSELL O. (1950) *Leptospirose als besondere Infektionsform.* Wien Z Inn Med **31, 3**: 81–93.
- GSELL O. (1952) *Leptospirosis und Auge.* Klin Mbl Augenheilkunde **120**: 449–469.
- GSELL O. (1968) *Leptospirosen.* In Gsell, O u. W. Mohr (Hrsg.): *Infektionskrankheiten. Bd.II: Krankheiten durch Bakterien. Teil 2.* Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 826-879.
- GSELL O., REHSTEINER K. und VERREY F. (1946) *Iridocyclitis als Spätfolge von Leptospirosis Pomona (Schweinehüterkrankheit).* Ophthalmologica **112, 6**: 320–334.
- HAINES G.R., BROWN M.P., GRONWALL R.R. und MERRIT K.A. (2000) *Serum concentrations and pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous and intragastric administration to mares.* The Canadian Journal of Veterinary Research **64**: 171–177.
- HALLIWELL R.E., BRIM T.A., HINES M.T., WOLF D. und WHITE F.H. (1985) *Studies on equine recurrent uveitis. II: The role of infection with Leptospira interrogans serovar pomona.* Current Eye Research **4, 10**: 1033–1040.
- HALLIWELL R.E. und HINES M.T. (1985) *Studies on equine recurrent uveitis. I: Levels of immunoglobulin and albumin in the aqueous humor of horses with and without intraocular disease.* Current Eye Research **4, 10**: 1023–1031.
- HANNO H.A. und CLEVELAND A.F. (1949) *Leptospiral Uveitis.* American Journal of Ophthalmology **32**: 1564–1566.
- HARMS V. (1998) *Biomathematik, Statistik und Dokumentation, Harms Verlag, 7.Auflage.*
- HAWKEY P.M. (2003) *Mechanisms of Qinolone action and microbial response.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy **51, Suppl. S1**: 29–35.
- HEUSSER H. (1948) *Die periodische Augenentzündung, eine Leptospirose?.* Schw Arch Tierheilk **90, 6**: 287–314.

- HEUSSER H. (1952) *Zur Ätiologie der periodischen Augenentzündung*. Schweizer Archiv für Tierheilkunde **94**: 296–306.
- HODGIN E., MILLER D.A. und LOZANO F. (1989) *Leptospira abortion in horses*. J Vet Diagn Invest **1**: 283–287.
- HOLZGRABE U. (2004) *Antibiotika-Entwicklung gestern und heute*. Chemotherapie Journal **13**, **3**: 142–147.
- JAMPEL H.D., BROWN A., ROBERTS A., KOYA P. und QUIGLEY H. (1992) *Effect of Paracentesis Upon the Blood-Aqueous Barrier of Cynomolgus Monkeys*. Invest Ophthal Vis Sci **33**,**1**: 165–171.
- JONES T.C. (1942) *Equine Periodic Ophthalmia*. Am J Vet Res **3**: 45–71.
- KAARTINEN L., PANU S. und PYÖRLÄLÄ S. (1997) *Pharmacokinetics of enrofloxacin in horses after single intravenous and intramuscular administration*. Equine Veterinary Journal **29**, **5**: 378–381.
- KALISCH J. (1952) *Leptospirose und periodische Augenentzündung*. Berl Münch Tierärztl Wschr **65**: 5–9.
- KANE A., BARZA M. und BAUM J. (1981) *Intravitreal injections of gentamicin in rabbits. Effect of inflammation and pigmentation on half-life and ocular distribution*. Invest Ophthal Vis Sci **20**, **5**: 593–597.
- KEMENES F. und TAMAS L. (1954) *Ist die fibrinöse Iridozyklitis der Pferde eine Leptospirose?*. Monatsh Vet Med **9**: 357–358.
- KETTNER H. (1997) *Untersuchungen zur klinischen Epizootiologie und Diagnostik der Leptospireninfektion beim Pferd*. Tiermedizinische Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität.
- KIM D., KORDICK D., DIVERS T. und CHANG Y.F. (2006) *In vitro susceptibilities of Leptospira spp. and Borrelia burgdorferi isolates to amoxicillin, tetracycline and enrofloxacin*. J Vet Sci **7**, **4**: 355–359.

- KLÖTI R. (1981) *Vitrektomie bei chronischer Uveitis und anderen entzündlichen Eintrübungen des Glaskörpers*. Ber dtsch Ophthal Ges **78**: 233–241.
- LALLEMAND F., FELT-BAEYENS O., BESSEGHIR K., BEHAR-COHEN F. und GURNY R. (2003) *Cyclosporine A delivery to the eye: A pharmaceutical challenge*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics **56**: 307–318.
- LEFEBVRE R.B. (2004) *Spiral- Curved Organisms V: Leptospira*. in: Dwight G. Hirsh, N. James Mac Lachlan, Richard L. Walker (Hrsg.) *Veterinary microbiology*. 2. Auflage, Backwell Pub Professional, 148-152.
- LEPTOSPIROSIS-REFERENCE-LABORATORY (2009) *Biomedical Research*. URL Internet-Seite:http://www.kit.nl/biomedical_research/html/leptospirosis-reference.asp.
- LESCHER G., FROELICH E., GRUET M., BAILEY J. und BRUNDAGE R. (1962) *1-8 naphthyridine derivates. A new class of chemotherapeutic agents*. J Med Pharmaceut Chem **5**: 1063–1068. (zit. nach APPELBAUM P.C. und HUNTER P.A. (2000).
- LEVETT P.N. (2001) *Leptospirosis*. Clinical Microbiology Reviews **14**, **2**: 296–326.
- LEVETT P.N. (2004) *Leptospirosis: A forgotten zoonosis?*. Clinical and Applied Immunology Reviews **4**: 435–448.
- LUCCHESI P.M., PARMA A.E. und ARROYO G.H. (2002) *Serovar distribution of a DNA sequence involved in the antigenic relationship between Leptospira and equine cornea*. BMC Microbiology **2**, **3**.
- MAIR T.S. und CRISPIN S.M. (1989) *Immunological mechanisms in uveitis*. Equine Veterinary Journal **21**, **6**: 391–393.
- MERIEN F., AMOURIAUX P., PEROLAT P., BARANTON G. und GIRONS I.S. (1992) *Polymerase Chain Reaction for Detection of Leptospira spp. in Clinical Samples*. Journal of Clinical Microbiology **30**, **9**: 2219–2224.
- MERIEN F., BARANTON G. und PEROLAT P. (1995) *Comparison of Polymerase Chain Reaction with Microagglutination Test and Culture for Diagnosis of Leptospirosis*.

- Journal of Infectious Diseases **172**, July: 281–285.
- FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE (DGHM) D.G. (1984) *Diagnostik bei Leptospiren*. Zbl Bakt Hyg A **258**: 480–491. (zit. nach BREM und SCHREYER, 1988).
- MURRAY C.K. und HOSPENTHAL D.R. (2004) *Determination of Susceptibilities of 26 Leptospira sp. Serovars to 24 Antimicrobial Agents by a Broth Microdilution Technique*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy **48**, 10: 4002–4005.
- MUTSCHLER E., GESSLINGER G., KROEMER H.K., RUTH P. und SCHÄFER-KORTING M. (2008) *Mutschler Arzneimittelwirkungen. Lehrbuch der Pharmakologie und Toxicologie*. Ernst Mutschler, Gerd Gesslinger, Heyo K. Kroemer, Peter Ruth, Monika Schäfer-Korting (Hrsg.). Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart. 9.Auflage. 834-838.
- NIEDERMAIER G., WOLLANKE B., HOFFMANN R., BREM S. und GERHARDS H. (2006) *Darstellung von Leptospiren im Glaskörper augengesunder und an ERU erkrankter Pferde mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie*. Dtsch tierärztl Wschr **113**, 11: 418–422.
- INTERNATIONAL DES ÉPIZOOTIES (O.I.E.) O. (2008) 2.1.9. *Leptospirosis*. In: *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, S.151-164. online: www.oie.int..
- PAPICH M.G., CAMP S.D.V., COLE J.A. und WHITACARE M.D. (2002) *Pharmacokinetics and endometrial tissue concentrations of enrofloxacin and the metabolite ciprofloxacin after i.v. administration of enrofloxacin to mares*. J Vet Pharmacol Therap **25**: 343–350.
- PARMA A.E., SANTISTEBAN C.G., VILLALBA J.S. und BOWDEN R.A. (1985) *Experimental Demonstration of an Antigenic Relationship between Leptospira and equine Cornea*. Veterinary Immunology and Immunopathology **10**: 215–224.
- PAUL-EHRLICH-GESELLSCHAFT (1998) *Einteilung der Fluorchinolone*. Chemotherapie Journal **7**, 1: 16–26.
- PETERSEN U. (2001) *Von der Nalidixinsäure zu den Chinolonen der dritten Generation*. Pharmazie in unserer Zeit **5**: 376–381.

- POPP L. (1967) *Laboratoriumsdiagnostik der Leptospiren*. In: J. Kathe u. H. Mochmann (Hrsg.): *Leptospiren und Leptospirosen*. Teil I. Gustav Fischer Verlag, Jena, 250-281.
- QUINN P.J., MARKEY M.E. und CARTER G.R. (1994) *Clinical Veterinary Microbiology*. Mosby Verlag, Edinburgh London, New York.
- REBHUN W.C. (1979) *Diagnosis and Treatment of Equine Uveitis*. J Am Vet Med Assoc **175**: 803–808.
- RIMPAU W. (1947) *Leptospirose beim Pferd (Periodische Augenentzündung)*. Tierärztliche Umschau **2**: 177–178.
- ROBERTS S.J. (1958) *Sequelae of Leptospirosis in Horses on a Small Farm*. J Am Vet Med Assoc **133**, **4**: 189–194.
- RODRIGUEZ-PERALTA L. (1975) *The blood-aqueous barrier in five species*. Am J Ophthalmol **80**, **4**: 713–725.
- ROHRBACH B.W., WARD D.A., HENDRIX D.V.H., CAWRSE-FOSS M. und MOYERS T.D. (2005) *Effect of vaccination against leptospirosis on the frequency, days to recurrence and progression of disease in horses with equine recurrent uveitis*. Veterinary Ophthalmology **8**,**3**: 171–179.
- ROMEIKE A., BRÜGMANN M. und DROMMER W. (1998) *Experimental Disease: Immunochemical Studies in Equine Recurrent Uveitis (ERU)*. Vet Pathol **35**: 515–526.
- SCHÖNBAUER M., WALDE I. und SCHÖNBAUER-LÄNGLE A. (1982) *Der Tierarzt als Gutachter: die innere Augenentzündung (Mondblindheit) der Pferde*. Wien tierärztl Mschr **5**: 162–168.
- SELBITZ H.J. (2002) *Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre*. Enke Verlag, Stuttgart.
- SMITH C., KETTERER P., MCGOWAN M. und CORNEY B. (1994) *A review of laboratory techniques and their use in the diagnosis of Leptospira interrogans serovar hardjo infection in cattle*. Australian Veterinary Journal **71**, **9**: 290–294.

- SPIESS B.M. (1997) *Zur equinen rezidivierenden Uveitis (ERU)*. Schw Arch Tierheilk **139**: 126–133.
- STEIN G.E. (1988) *The 4-Quinolone Antibiotics: Past, Present, and Future*. Pharmacotherapy **8**, **6**: 301–314.
- SZEMES P.A. und GERHARDS H. (2000) *Untersuchungen zur Prävalenz der equinen rezidivierenden Uveitis im Großraum Köln- Bonn*. Prakt Tierarzt **81**: 408–420.
- WERRY H. und GERHARDS H. (1991) *Möglichkeiten der und Indikation zur chirurgischen Behandlung der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU)*. Pferdeheilkunde **6**: 321–331.
- WERRY H. und GERHARDS H. (1992) *Zur operativen Therapie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU)*. Tierärztl Praxis **20**: 178–186.
- WERRY H. und HONEGGER H. (1987) *Pars-plana Vitrektomie bei chronischer Uveitis*. Klin Mbl Augenheilkunde **191**: 9–12.
- WIEDEMANN P. und HEISIG P. (1999) *Bakterielle Resistenzen gegenüber Chinolonen (Ciprofloxacin)*. Chemotherapie Journal **8**: 99–108.
- WILLIAMS R.D., MORTER R.L., FREEMAN M.J. und LAVIGNETTE A.M. (1971) *Experimental Chronic Uveitis. Ophthalmic signs following equine leptospirosis*. Invest Ophthalmol **10**: 948–954.
- WINTERBERG A. und GERHARDS H. (1997) *Langzeitergebnisse der Pars-plana-Vitrektomie bei equiner rezidivierender Uveitis*. Pferdeheilkunde **13**, **4**: 377–383.
- WITMER R., LÖHRER J. und WIESMANN E. (1953) *Zur Ätiologie, Diagnose und Therapie der periodischen Augenentzündung (p.A.) der Pferdes*. Schweizer Archiv für Tierheilkunde **95**, **8**: 419–439.
- WOLANKE B., GERHARDS H., BREM S., KOPP H. und MEYER P. (1998) *Intraokulare und Serumantikörpertiter gegen Leptospiren bei 150 wegen equiner rezidivierender Uveitis (ERU) vitrektomierten Pferden*. Berl Münch Tierärztl Wschr **111**: 134–139.

- WOLLANKE B. (1995) *Untersuchungen zur Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU). Tiermedizinische Dissertation, Ludwig-Maximilians-Universität München.*
- WOLLANKE B. (2002) *Die equine rezidivierende Uveitis (ERU) als intraokulare Leptospirose. Tiermedizinische Habilitation, Tierärztliche Fakultät der LMU München.*
- WOLLANKE B., BREMS S., MEYER P., FORBRIG T., GRASSL P., GERHARDS H. und KOPP H. (2004a) *Prophylaxe der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU): Erste Erfahrungen mit einem Leptospiren- Impfstoff bei Pferden. Pferdeheilkunde* **20**, **5**: 447–454.
- WOLLANKE B., GERHARDS H., BREMS S., KOPP E. und MEYER P. (2000) *Zur Leptospirenätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU). Tierärztl Praxis* **28** (G): 153–158.
- WOLLANKE B., GERHARDS H., BREMS S., MEYER P. und KOPP H. (2004b) *Ätiologie der equinen rezidivierenden Uveitis (ERU): Autoimmunkrankheit oder intraokulare Leptospireninfektion?. Pferdeheilkunde* **4**: 327–340.
- WOLLANKE B., ROHRBACH B.W. und GERHARDS H. (2001) *Serum and vitreous humor antibody titers in and isolation of Leptospira interrogans from horses with recurrent uveitis. J Am Vet Med Assoc* **219**, **6**: 795–800.
- WOODS A.C. und CHESNEY A.M. (1930) *The transmission of periodic ophthalmia of horses by means of a filterable agent. J Exp Med* **52**, **4**: 637–657.
- YAGER R.H., GOCHENOUR W.S. und WETMORE P.W. (1950) *Recurrent Iridocyclitis (Periodic Ophthalmia) of Horses. J Am Vet Med Assoc* **117**: 207–209.
- ZAHARIJA I., MARLOT J., CERMAK K., ANDRASIC N. und SANKOVI F. (1960) *Leptospirose und periodische Augenentzündung beim Pferd. Schw Arch Tierheilk* **102**: 400–408.
- ÖZTÜRK F., KORTUNAY S., KURT E., ÜBEYT INAN ., ILKER S.S., BASCI N.E., BOZKURT A. und KAYAALP S.O. (1999) *Ofloxacin Levels after Intravertebral Injection. Effects of Trauma and Inflammation. Ophthalmic Research* **31**: 446–451.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Chemische Struktur der alten Fluorochinolone	29
2.2	Chemische Struktur der neuen Fluorochinolone	30
2.3	Aufbau der Blut-Augen-Schranke aus: Equine Ophthalmology, 2005, B. C. Gilger	36
4.1	Glaskörper-Serum-Quotient in Prozent und dessen Verteilung auf die Anzahl der Tiere	49
4.2	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper in Bezug auf den zeitli- chen Abstand zur Gabe	50
4.3	Glaskörper-Serum-Quotient in Prozent in Bezug auf den zeitlichen Abstand zur Gabe	50
4.4	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit mehr oder weniger als zwei ERU-Schüben	51
4.5	Enrofloxacinkonzentration im Serum bei Tieren mit mehr oder we- niger als zwei ERU-Schüben	52
4.6	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit unter- schiedlichen Graden von entzündlichen Einlagerungen	53
4.7	Enrofloxacinkonzentration im Glaskörper bei Tieren mit unter- schiedlichen Graden von Glaskörpertrübungen	53

Tabellenverzeichnis

2.1	Einige Serogruppen mit zugehörigen Serovaren von <i>L. interrogans</i> .	23
2.2	Einteilung der 4-Chinolone nach Gruppen (Empfehlung der PEG) .	31
3.1	Einteilung des Grades der Glaskörpertrübung und der Glaskörper- pereinlagerungen	40
3.2	Übersicht über die Behandlungsdauer und den zeitlichen Abstand (in Minuten) zwischen Enrofloxacingabe und den Probenentnahmen	41

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Gerhards für die Überlassung des Themas und die Unterstützung, Betreuung und konstruktive Kritik bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Des Weiteren danke ich dem Institut für Hygiene und Technologie der Milch der Tierärztlichen Fakultät der LMU München für die Ermöglichung meiner Laboruntersuchungen. Besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Dietrich und Frau B. Minich für das nette Arbeitsklima und die geduldige und humorvolle Hilfe bei meinen Untersuchungen.

Ein großes Dankeschön gilt Carola Sauter-Louis für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Der Rechnerbetriebsgruppe der tierärztlichen Fakultät möchte ich herzlichst für die gute Computer- und LaTeX-Betreuung danken.

Ich danke dem Leptospirenlabor am Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit für die zuverlässige und gewissenhafte Untersuchung der zahlreichen Proben.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern, meiner Schwester, Gunther Loydl und meinen Freunden für ihre moralische Unterstützung, ihre Aufmunterungsversuche während der anstrengenden Zeit der Anfertigung dieser Dissertation und für die orthographische Durchsicht des Manuskriptes.