

Untersuchungen zur Kammerwassergängigkeit von Enrofloxacin bei Hühnern

von Katrin Fuchs

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

**Untersuchungen zur Kammerwassergängigkeit von
Enrofloxacin bei Hühnern**

von Katrin Fuchs
aus Eisenhüttenstadt

München 2023

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Klinik für Vögel, Kleinsäuger, Reptilien und Zierfische

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. Rüdiger T. Korbelt

Mitbetreuung durch:
Prof. Dr. Monika Rinder

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

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

Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Rüdiger T. Korbel

Korreferent/en: Univ.-Prof. Dr. Hermann Ammer

Tag der Promotion: 22. Juli 2023

Meiner Familie gewidmet

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden in folgender Publikation am
23.12.2022 veröffentlicht:

Katrin Fuchs, Monika Rinder, Richard Dietrich, Leena Banspach, Hermann Ammer
und Rüdiger Korbel

Penetration of Enrofloxacin in Aqueous Humour of Avian Eyes

Vet. Sci. 2023, 10, 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci10010005>

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung	1
II. Literaturverzeichnis	3
1. Der Vogel als optisch orientiertes Lebewesen	3
2. Infektiöse Augenerkrankungen beim Vogel	4
2.1. Entzündungen und Infektionen des Auges	4
2.1.1. <i>Escherichia coli</i>	5
2.1.2. <i>Salmonella</i> spp.	5
2.1.3. <i>Pasteurella multocida</i>	6
2.1.4. <i>Mycoplasma</i> spp.	6
2.1.5. <i>Chlamydia psittaci</i>	6
2.1.6. <i>Riemerella anatipestifer</i>	6
2.1.7. <i>Nocardia</i> spp.	6
2.1.8. <i>Staphylococcus</i> spp.	7
2.1.9. Andere Rein- oder Mischinfektionen	7
3. Die Blut-Augen-Schranken	8
3.1. Aufbau der Blut-Augen-Schranken	8
3.1.1. Säugetiere	8
3.1.1.1. Die Blut-Retina-Schranke	8
3.1.1.2. Die Blut-Kammerwasser-Schranke	9
3.1.2. Vögel	9
3.1.2.1. Die Blut-Retina-Schranke	9
3.1.2.2. Der Pecten oculi	9
3.1.2.3. Die Blut-Kammerwasser-Schranke	10
3.2. Störungen der Funktion der Blut-Augen-Schranken	10
4. Enrofloxacin	11
4.1. Struktur	11
4.2. Wirkmechanismus	12
4.3. Wirkspektrum	12
4.4. Pharmakokinetik	13

4.4.1. Absorption	16
4.4.2. Verteilung	16
4.4.3. MRT	17
4.4.4. Wirkstoffspiegel	18
4.4.4.1. Maximale Wirkstoffkonzentrationen in Serum/ Plasma (C_{\max}) und Zeit der maximalen Wirkstoffkonzentration (T_{\max})	18
4.4.4.2. Fläche unter der Plasmakonzentration–Zeit–Kurve (AUC)	19
4.4.5. Proteinbindung	19
4.4.6. Metabolisierung	20
4.4.7. Ausscheidung	20
4.4.8. Pharmakodynamik	21
4.4.9. Resistenzen	23
4.4.10. Nebenwirkungen, Toxizität	24
5. Fluorchinolone in der Ophthalmologie	26
III. Veröffentlichung	29
IV. Diskussion	43
1. Studienaufbau	43
2. Fluorchinolon-Analytik	45
3. Auswahl des Antibiotikums	46
4. Pharmakokinetik	49
4.1. Pharmakokinetik im Serum	49
4.2. Metabolisierung von Enrofloxacin zu Ciprofloxacin	50
4.3. Pharmakokinetik im Kammerwasser	51
5. Pharmakodynamik	54
6. Anwendbarkeit von Enrofloxacin bei der Behandlung intraokulären Infektionen beim Vogel	55
7. Schlussfolgerungen für die Praxis	56

V. Zusammenfassung	59
VI. Summary	61
VII. Resumen	63
VIII. Literaturverzeichnis	65
IX. Danksagung	73

Abkürzungsverzeichnis

AUC	area under the curve (Fläche unter der Konzentration-Zeit-Kurve)
CL _B	Gesamtkörperclearance
C _{max}	maximale Wirkstoffkonzentration in Serum/Plasma
ERU	Equine rezidivierende Uveitis
F	Bioverfügbarkeit
IM	intramuskulär
IV	intravenös
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
l	Liter
mg	Milligramm
MHK	Minimale Hemmkonzentration
ml	Milliliter
MRT	Mean residence time (mittlere Verweildauer)
ng	Nanogramm
PAE	Postantibiotischer Effekt
PO	peroral
S.	Seite
SPF	specific pathogen free
T _{max}	Zeit der maximalen Wirkstoffkonzentration
t _{1/2β}	Eliminationshalbwertszeit
V _d	Verteilungsvolumen
vs.	versus
µg	Mikrogramm

I. Einleitung

In der Vogelmedizin besitzen Augenerkrankungen eine große Bedeutung. Als Ursache kommen häufig Traumata in Betracht, aber auch eine Reihe von Infektionserregern, welche in der Lage sind, im Rahmen einer systemischen Erkrankung pathologische Veränderungen am und im Auge hervorzurufen (KORBEL, 1992; BAYÓN et al., 2007). So können Salmonellen beim Vogel infektiöse Uveitiden verursachen. Im Zuge von Mykoplasmen-Infektionen kommt es häufig zu Synechien und dadurch zu Schwellungen der Iris. Infektionen mit *Chlamydia psittaci*, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bordetella avium*, *Erysipelotrix rhusiopathiae* und *Listeria monocytogenes* sind ebenfalls mit Augenerkrankungen und Veränderungen der vorderen Augenkammer in Zusammenhang zu bringen (KORBEL, 1992; WILLIS und WILKIE, 1999; MOORE et al., 2022).

Vögel orientieren sich primär optisch und sind daher kaum in der Lage, selbst eine nur teilweise eingeschränkte Sehfähigkeit durch andere Sinnesleistungen zu kompensieren. Die meisten Vögel sind für einen erfolgreichen Nahrungserwerb auf einen uneingeschränkt funktionierenden Visus angewiesen. Auch das Fliegen oder die Flucht vor Beutegreifern und selbst die Fortpflanzung erfordern beim Vogel eine hohe visuelle Leistungsfähigkeit. Je nach Haltungs- und Lebensbedingungen des jeweiligen Tieres stellen bleibende Schäden am Auge daher häufig eine Indikation zur Euthanasie dar (KORBEL, 1992). Eine gezielte Therapie, die auch das Augeninnere erreicht und bleibenden okularen Schäden vorbeugen kann, ist daher für die Prognose von essenzieller Bedeutung.

Die antibiotische Behandlung von bakteriell bedingten Uveitiden und anderen Veränderungen des Augeninneren ist schwierig, da durch die Blut-Augen-Schranken das Eindringen und Wirken vieler pharmakologisch aktiver Substanzen im Auge verhindert wird (CUNHA-VAZ, 1997). Nur wenige Antibiotika sind in der Lage, diese natürlichen Schutzbarrieren des Auges zu überwinden. Neben Chloramphenicol, dessen Anwendung aufgrund möglicher schwerer Nebenwirkungen in der Humanmedizin seit längerem stark diskutiert wird (YUNIS, 1989; MCGHEE und ANASTAS, 1996), gelten Gyrasehemmer als eine Gruppe von Wirkstoffen, die auch im Auge eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration erreichen kann. Bei einigen Säugetierspezies, zum Beispiel Hunden oder Pferden, wurden bereits Studien zur Anwendbarkeit von Enrofloxacin bei der Behandlung von intraokulären Infektionen durchgeführt (KRASDEV et al., 2011; POPP et al., 2013).

In der Vogelmedizin findet Enrofloxacin bereits bei vielen Indikationen Anwendung. So ist es das einzige Antibiotikum, für welches eine explizite Zulassung für Ziervögel für die Behandlung von Infektionen des Digestions- und Verdauungstraktes besteht. Bei Geflügel (Hühner und

Puten, exklusive Tiere, deren Eier für den menschlichen Verzehr vorgesehen sind) besteht eine Zulassung zur Behandlung von Infektionen mit *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Pasteurella multocida* und *Avibacterium paragallinarum* (ausschließlich für Hühner) (VETIDATA, 2023). Aufgrund seiner chemischen und pharmakokinetischen Eigenschaften stellt Enrofloxacin auch bei Vögeln einen vielversprechenden Kandidaten bei der Behandlung von intraokulären Infektionen dar. Zulassungen oder Studien zu einer Anwendbarkeit von Enrofloxacin am Auge bei Vögeln gibt es jedoch bisher nicht.

Die Weltorganisation für Tiergesundheit (WOAH) zählt die Fluorchinolone der 2. Generation, zu denen auch Enrofloxacin gehört, in ihrer „List of Antimicrobial Agents of Veterinary Importance“ zu den Wirkstoffen der Kategorie „Veterinary Critically Important Antimicrobial Agents“ (WOAH, 2023). Das breite Spektrum der Anwendungen und die Art der behandelten Krankheiten, zu denen Septikämien, Atemwegs- und Darmerkrankungen gehören, machen die Fluorchinolone für die Veterinärmedizin besonders bedeutsam. Daher ist es von essenzieller Bedeutung, möglichst viele Daten zur Anwendbarkeit und Wirksamkeit von Fluorchinolonen bei konkreten Indikationen zu sammeln.

In der vorliegenden Studie soll daher untersucht werden, ob bei intramuskulärer Verabreichung von Enrofloxacin in einer Dosis von 25 mg/kg Körpermasse eine für die Behandlung von Infektionen mit empfindlichen Bakterien ausreichende Enrofloxacin-Konzentration im Kammerwasser von Hühnern erreicht wird. Die Studie soll damit zu einem verantwortungsvollen und gezielten Einsatz von Enrofloxacin bei Vogelpatienten beitragen, den unsachgemäßen Einsatz von Antibiotika verringern und Daten für einen rationalen und wissenschaftlich fundierten Einsatz von Enrofloxacin in der Vogelmedizin bereitstellen.

II. Literaturübersicht

1. Der Vogel als optisch orientiertes Lebewesen

Vögel orientieren sich primär optisch und sind kaum in der Lage, selbst eine nur teilweise eingeschränkte Sehfähigkeit durch andere Sinnesleistungen zu kompensieren. V.a. das Fliegen, aber auch der Nahrungserwerb, die Flucht vor Beutegreifern oder die Jagd, und selbst die Fortpflanzung erfordern beim Vogel eine hohe visuelle Leistungsfähigkeit (KORBEL, 1992).

Als Anpassung an die besonderen Anforderungen ihrer Lebensweise haben Vögel spezielle visuelle Fähigkeiten entwickelt, welche sich z. T. stark von denen der Säugetiere unterscheiden. Das retinale Auflösungsvermögen ist 2- bis 8-mal höher als das von Säugetieren und dient dem Erkennen von Futterquellen aus großer Entfernung. Der Sehwinkel kann bis zu 360° betragen. Die daraus resultierende Rundumsicht ermöglicht ein rasches und rechtzeitiges Erkennen von potenziellen Beutegreifern. Der Bereich des stereoskopischen Sehens liegt zwischen 0° und 70°, je nach Positionierung der Augäpfel am Kopf. Die maximale Flickerfusions-Frequenz, also die Fähigkeit, einen Bewegungsablauf in einzelne Bilder aufzulösen, beträgt beim Vogel bis zu 160 Bilder pro Sekunde. Im Vergleich dazu beträgt die Flickerfusions-Frequenz des Menschen lediglich 10 bis 15 Bilder pro Sekunde. Eine hohe Auflösung von Bewegungsabläufen ist bei der Jagd auf sich sehr schnell bewegende Beutetiere wichtig und erlaubt beispielsweise einem Greifvogel das visuelle Fixieren eines einzelnen Beutetieres aus dem Schwarm heraus. Im Gegensatz dazu steht die Fähigkeit, auch extrem langsame Bewegungen von nur 15° pro Stunde wahrzunehmen. Vögel können damit zum Beispiel den Verlauf der Sonne erkennen und diesen zur Orientierung während der Migration nutzen (KORBEL, 2011). Dank spezieller Stäbchen auf der Retina sind tagaktive Vögel in der Lage, ultraviolettes Licht wahrzunehmen. Diese besondere Fähigkeit spielt sowohl bei der Partner-, als auch bei der Nahrungssuche, bei der Jungtierfütterung und zur Orientierung eine wesentliche Rolle (BENNETT und CUTHILL, 1995).

Je nach Haltungs- und Lebensbedingungen des jeweiligen Tieres stellen bleibende Schäden am Auge daher häufig eine Indikation zur Euthanasie dar (KORBEL, 1992; BAYÓN et al., 2007; KORBEL, 2011).

2. Infektiöse Augenerkrankungen beim Vogel

In einer Studie aus dem Jahre 1994 (KORBEL, 1995) zeigten 7,6 % von 10.745 untersuchten Vögeln pathologische Veränderungen am Auge. Bei Greifvögeln konnten sogar Prävalenzen zwischen 14 und 30 % ermittelt werden (MURPHY et al., 1982; BAYON et al., 2005; BAYÓN et al., 2007).

2.1. Entzündungen und Infektionen des Auges

Als Ursache für pathologische Augenerkrankungen bei Vögeln kommen neben nicht septischen Entzündungen einschließlich immunvermittelter Prozesse und traumatischen Verletzungen auch eine Reihe von Infektionserregern infrage, welche in der Lage sind, sowohl durch primäre Augenerkrankungen als auch im Rahmen einer systemischen Infektion pathologische Veränderungen am und im Auge hervorzurufen (KORBEL, 1995; WILLIS und WILKIE, 1999; BAYÓN et al., 2007). So manifestieren sich beispielsweise Infektionskrankheiten der Atemwege (Mykoplasmosen, Chlamydiose, Erkrankungen durch *Bordetella avium*, *Haemophilus paragallinarum* u.a.) sehr häufig auch in Form von Augenerkrankungen (SHIVAPRASAD, 1999). Bakterien können als primäre Erreger oder als sekundäre Opportunisten eine Rolle spielen. Die physiologische Bakterienflora des Auges enthält gram-positive Bakterien, während gram-negative Bakterien als ein Indikator für pathologische Zustände anzusehen sind (KORBEL, 2011). Viele Augenerkrankungen verursachende Bakterien tun dies im Zuge einer Septikämie oder als sekundäre Erreger zu anderen Erkrankungen (viral, mykotisch, parasitär) (SHIVAPRASAD et al., 2022).

Intraokuläre Erkrankungen wie Uveitis, also eine von der mittleren Augenhaut (Tunica media bulbi, einschließlich Aderhaut, Ziliarkörper und Iris) ausgehende Entzündung, oder Chorioretinitis (Entzündung von Netzhaut (Retina) und Aderhaut (Choroidea)) sind dabei häufig die Folge von systemischen Erkrankungen. So kann es im Zuge einer Septikämie zu Entzündung der inneren Augenstrukturen inkl. der Blut-Augen-Schranken kommen, wodurch ein Eindringen der Erreger in das Augeninnere ermöglicht wird. Bei Greifvögeln beispielsweise ist eine septische Uveitis oder Chorioretinitis im Zusammenhang mit schweren bakteriellen systemischen Erkrankungen wie z. B. einer Salmonellose nicht ungewöhnlich und sollte bei Tieren, die lebende Beutetiere oder Aas fressen, immer als Differenzialdiagnose in Betracht gezogen werden (MOORE und MONTIANI-FERREIRA, 2022).

Zu den typischen klinischen Symptomen von Uveitis und Chorioretinitis gehören Photophobie, Blepharospasmus, Hornhautödem, Kammerwassertrübung, Miosis, Verdickung oder Verfärbung der Iris und vordere oder hintere Synechien. Weiterhin kann es zu Netzhautödem, mit Einblutung oder Ablösung ebendieser, oder einer Glaskörpertrübung kommen. Die

Veränderungen können zum Erblinden des Patienten führen (DAVIDSON, 1997; POWERS und HUNTERSVILLE, 2015).

Im Folgenden werden Bakterien mit Bedeutung in der aviären Medizin und die von ihnen hervorgerufenen pathologischen Veränderungen beschrieben. Dabei werden primär Erreger aufgelistet, die therapierelevant sind und aufgrund der ophthalmologischen Strukturen, die sie schädigen, häufig auch eine systemische Behandlung erforderlich machen.

2.1.1. *Escherichia coli*

Die durch *Escherichia coli* (*E. coli*) verursachten okulären Läsionen sind meist unilateral und beinhalten eitrige Ophthalmitis, welche zu Photophobie und Blindheit führt.

Bei experimentell durch Inokulation von *E. coli* in die abdominalen Luftsäcke infizierten Hühnern traten mit einer Inzidenz von ca. 2 % pathologische, meist unilaterale Augenveränderungen auf, die früher auch schon bei natürlichen Infektionen mit *E. coli* beobachtet worden waren. Dabei zeigten v. a. Tiere mit besonders schwerwiegender Bakteriämie eine Panophthalmitis mit Beteiligung des gesamten Uvealtraktes (GROSS, 1957). Diese Ergebnisse wurden in weiteren Studien bestätigt. So konnten ebenfalls nach experimenteller Infektion über Inokulation der Luftsäcke mit *E. coli* bei SPF-Hühnern verschiedener Altersgruppen okuläre Läsionen wie Hyphäma, Hämorrhagien der Iris, Hypopyon, Keratitis und Uveitis makroskopisch und histologisch nachgewiesen und beschrieben werden (NAKAMURA und ABE, 1987).

2.1.2. *Salmonella* spp.

Auch Infektionen mit *Salmonella* spp. können zu pathologischen Augenveränderungen führen. Okulare Läsionen finden sich v. a. in Verbindung mit chronischen Verlaufsformen. Dabei können Blepharitis, Konjunktivitis, Epiphora, Iridozyklitis und Panophthalmitis, die im Endstadium bis hin zu einer Phthisis bulbi führen können, auftreten (KORBEL, 1995; FRIEND et al., 1999b). Die vordere Uvea ist am häufigsten betroffen und zeigt dabei auf mikroskopischer Ebene Infiltration von Heterophilen in den Ziliarkörper, den *Processus ciliaris*, und die Iris, was zu einer Endophthalmitis mit Beteiligung aller Schichten, v. a. aber der Choroidea, der Retina und des Glaskörpers führen kann. Weitere Veränderungen bestehen in Entzündungen des Pecten oculi, Netzhautablösung und Katarakt (SHIVAPRASAD et al., 2022).

EVANS et al. (1955) wiesen *Salmonella* Typhimurium (Tauben-Serotyp) in den Augen einseitig erblindeter Hühner nach. In einem natürlichen Ausbruch von *Salmonella* Arizonae bei Broilern zeigten alle erkrankten Tiere ebenfalls entsprechende Augenläsionen (SILVA et al., 1980).

2.1.3. *Pasteurella multocida*

Im Zusammenhang mit *Pasteurella multocida*- (*P. multocida*) Infektionen wurden diverse pathologische Augenveränderungen beschrieben, die häufig das vordere Augenkompartment betreffen (Epiphora, Trübungen der Kornea, Ulzerationen der Kornea, Linsenluxation) (FRIEND et al., 1999a). Allerdings können sich die Veränderungen auch auf die inneren Augenstrukturen ausweiten. OLSON (1981) beschreiben beispielsweise Fälle von Hypopyon, Uveitis und Keratitis bei Puten.

2.1.4. *Mycoplasma* spp.

In vielen Fällen beschränken sich ophthalmologische Veränderungen, die durch Mykoplasmen verursacht werden, auf ein- oder beidseitige Schwellungen der Gesichtshaut, periokuläre Schwellungen und Schwellungen der Augenlider mit Lidödemen, Epiphora und Konjunktivitis. Allerdings wurden auch Uveitiden mit lymphozytärer Infiltration in Iris, Ziliarkörper und Choroidea beobachtet. Des Weiteren kommt es im Zuge von Mykoplasmeninfektionen häufig zu Synechien und dadurch zu Schwellungen der Iris (Napfkucheniris oder Iris bombé) (NUNOYA et al., 1995).

2.1.5. *Chlamydia psittaci*

Die Chlamydiose wurde bereits in über 100 Vogelspezies nachgewiesen (SHIVAPRASAD et al., 2022). In den meisten Erkrankungsfällen mit Augenbeteiligung sind die äußeren Augenstrukturen wie Augenlider, Konjunktiven und in schwereren Verläufen die Kornea entzündlich verändert. Doch auch hier ist im weiteren Verlauf die Beteiligung sämtlicher anatomischer Bestandteile des Auges möglich. So wurde bei Enten eine Panophthalmitis und Bulbusatrophie infolge einer Chlamydieninfektion beschrieben (STRAUSS, 1967).

2.1.6. *Riemerella anatipestifer*

Dieser Erreger verursacht eine akute oder chronische Septikämie, in deren Verlauf es auch zu einer Affektion der okulären Strukturen kommen kann. Auf histopathologischer Ebene sind die Läsionen durch eine schwere fibrinoheterophile Infiltration in die vorderen Augenkammer gekennzeichnet, meist mit Beteiligung der Hornhaut, sowie der vorderen und hinteren Uvea und des Glaskörpers (SHIVAPRASAD, 1999).

2.1.7. *Nocardia* spp.

REYNOLDS et al. (2009) beschrieben einen Fall von bilateraler, diffuser, hochgradig pyogranulomatöser Endophthalmitis mit Netzhautnekrose und -ablösung bei einem Zitronenwaldsänger (*Protonotaria citra*), die durch Nocardien verursacht wurde. Bei Tieren werden Nocardien in der Regel über den Respirationstrakt aufgenommen und gelangen so in die Lunge, wo sie zu einer granulomatösen Pneumonie mit anschließender hämatogener Verbreitung führen können (BAUMGARTNER et al., 1994; BACCIARINI et al., 1999). Der von

REYNOLDS et al. (2009) beschriebene Fall zeigte jedoch eine nokardiale Endophthalmitis ohne Anzeichen einer pulmonalen Infektion oder einer penetrierenden Wunde und ohne Nachweis einer immunsuppressiven Grunderkrankung, weshalb die Autoren folgerten, dass eine durch *Nocardien* spp. bedingte Endophthalmitis bei Vögeln möglicherweise häufiger auftritt als derzeit angenommen.

2.1.8. *Staphylococcus* spp.

Bei einem Unzertrennlichen, einem kleinen Papageienvogel (*Agapornis* sp.), mit durch Koagulase-positive Staphylokokken verursachter Septikämie wurde neben anderen klinischen Symptomen auch eine Uveitis festgestellt (WILLIS und WILKIE, 1999).

2.1.9. Andere Rein- oder Mischinfektionen

Infektionen mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus paragallinarum*, *Streptococcus* spp., *Mycobacterium* spp., *Micrococcus* spp., *Bordetella avium*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Moraxella* spp., *Proteus* spp., *Aeromonas hydrophila* und *Listeria monocytogenes* sind ebenfalls mit Augenerkrankungen und Veränderungen der vorderen und hinteren Augenkammer in Zusammenhang gebracht worden (KORBEL, 1995; MOORE et al., 2022). Die durch diese Erreger ausgelösten Erkrankungen sind oft unspezifisch, sehr variabel in ihrem klinischen Bild und können sowohl leichte als auch sehr schwerwiegende Affektionen der intra- und peribulbären Strukturen verursachen (KORBEL, 1992).

Eine antimikrobielle Therapie kann bei Vögeln mit bakteriellen Infektionen wirksam sein, vorausgesetzt, es wird ein geeignetes Mittel verwendet, welches die betroffenen Strukturen erreicht und auch intraokulär ausreichend hohe Wirkstoffkonzentrationen erzielt.

3. Die Blut-Augen-Schranken

Die Blut-Augen-Schranke ist eine physiologische Barriere des Auges. Sie trennt zum Ersten die vordere Augenkammer, den Glaskörper und die Blutgefäße und hält damit die unterschiedliche biochemische Zusammensetzung der Augenkompimente Kammerwasser und Glaskörperflüssigkeit, sowie des Plasmas aufrecht. Zum Zweiten besitzt sie eine Funktion bei der Versorgung der avaskulären Strukturen des Auges mit Nährstoffen und zum Dritten wird das Eindringen von Krankheitserregern oder Giftstoffen aus der Blutlaufbahn verhindert (CUNHA-VAZ, 1997).

3.1. Aufbau der Blut-Augen-Schranken

Die Struktur und gewebliche Zusammensetzung der Blut-Augen-Schranke von Säugetieren und Vögeln weisen deutliche Unterschiede auf, die für den Stoffaustausch und auch für die Durchgängigkeit von Pharmaka von Bedeutung sind.

3.1.1. Säugetiere

Bei Säugetieren besteht die Blut-Augen-Schranke aus zwei Hauptkomponenten: der Blut-Retina-Schranke und der Blut-Kammerwasser-Schranke.

3.1.1.1. Die Blut-Retina-Schranke

Bei den Säugetieren erfolgt die Blutversorgung der Retina durch zwei verschiedene Blutgefäßsysteme: die retinalen Blutgefäße, welche die inneren Netzhautschichten versorgen und die choroidalen Blutgefäße, die per Diffusion für die Nährstoffversorgung der äußeren Netzhautschichten zuständig sind. Demnach wird bei Säugern zwischen einer inneren und einer äußeren Blut-Retina-Schranke unterschieden (GUM et al., 1999; CUNHA-VAZ et al., 2011).

Die innere Blut-Retina-Schranke wird durch das Endothel der Netzhautkapillaren gebildet. Es ist nicht fenestriert und seine Zellen weisen untereinander sehr enge Verbindungen (tight junctions) auf. Die äußere Blut-Retina-Schranke wird vom retinalen Pigmentepithel gebildet, welches ebenfalls sehr enge zelluläre Verbindungen aufweist und die relativ undichten Aderhautgefäße von der darunter liegenden Netzhaut trennt (CUNHA-VAZ et al., 1966). Da diese beiden Barrieren zugleich die Durchlässigkeit von Substanzen zum Glaskörper regulieren, bildet die Blut-Retina-Schranke zeitgleich auch die Blut-Glaskörper-Schranke (GUM et al., 1999).

3.1.1.2. Die Blut-Kammerwasser-Schranke

Die Blut-Kammerwasser-Schranke befindet sich primär im Strahlenkörper (Ziliarkörper, Corpus ciliare). Dieser geht, ebenso wie die Aderhaut (Choroidea) und die Iris, aus der mittleren Augenhaut (Uvea) hervor. Der Strahlenkörper bildet im vorderen Bereich leistenartige Erhebungen aus, die Ziliarfortsätzen (Processus ciliares). Diese Ziliarfortsätze schließen lockeres Bindegewebe und ein dichtes Kapillarnetz ein, dessen Funktion in der Bildung des Kammerwassers besteht (LIEBICH, 2010). Die Blut-Kammerwasser-Schranke des Auges wird auf dieser Ebene durch sehr enge Verbindungsstellen zwischen den nicht pigmentierten Epithelzellen des Ziliarkörpers gebildet.

Weiterhin sind das nicht fenestrierte Gefäßendothel der Iris und das Innenwandendothel des Schlemm'schen Kanals Teil der Blut-Kammerwasser-Schranke. Über die besonders engen Verbindungen zwischen den Zellen in diesen Bereichen wird der parazelluläre Transport durch selektive Diffusion von Ionen und kleinen gelösten Stoffen durch den Raum zwischen benachbarten Zellen begrenzt und reguliert (COCA-PRADOS, 2014). Die meisten großen Moleküle, insbesondere Proteine, sind nicht in der Lage, durch oder zwischen den Zellen dieses Barriersystems zu passieren (GUM et al., 1999).

3.1.2. Vögel

Das Vogelauge weist im Vergleich zum Säugetierauge einige wesentliche anatomische und physiologische Unterschiede auf, die auch Unterschiede im Aufbau der Blut-Augen-Schranke mit sich bringen.

3.1.2.1. Blut-Retina-Schranke-Vogel

Ein bedeutender anatomischer Unterschied zu den Säugetieren ist die bei Vögeln avaskuläre Retina. Ihre Versorgung mit Nährstoffen wird durch Diffusion aus den bei Vögeln besonders dichten Kapillarnetzen der Lamina choroidocapillaris der Aderhaut und durch den Augenfächer (Pecten oculi) sichergestellt. (LIEBICH, 2010).

3.1.2.2. Der Pecten oculi

Eine herausragende Eigenart des Vogelauges ist der Pecten oculi (Augenkamm, Augenfächer). Er besteht aus einem bindegewebigen, stark pigmentierten Stützgerüst, welches direkt aus dem Nervus opticus hervorgeht und von einem dichten Netz aus Kapillaren durchzogen ist. Seiner Form nach werden bei den Vögeln drei verschiedene Typen unterschieden: der Faltentyp, der Flügel- oder Fahnentyp und der Konustyp.

Dem Pecten wurden über 30 verschiedene Funktionen zugeschrieben (LIEBICH, 2010; REESE et al., 2016). Neben einer presso- und thermoregulatorischen Funktion hat der Augenfächer jedoch v.a. eine nutritive Funktion für das Corpus vitreum und die avaskuläre Retina (HOLMBERG, 2013). Mit Hilfe von fluoreszenzangiografischen Untersuchungen konnte

der Übertritt von Stoffen aus den Kapillaren des Pecten oculi in den Glaskörper bestätigt werden (KORBEL und BRAUN, 1996). Auch die Beschaffenheit der Kapillarendothelien des Pecten oculi spricht für einen aktiven transepithelialen Stofftransport zwischen Blut und Glaskörperflüssigkeit. Der Augenfächer schwingt im Zuge von Augenbewegungen nach und sorgt damit zusätzlich für eine Verteilung der nutritiven Substanzen im Glaskörper (LIEBICH, 2010).

3.1.2.3. Die Blut-Kammerwasser-Schranke

Der Aufbau der Blut-Kammerwasser-Schranke beim Vogel ist im Wesentlichen der gleiche wie beim Säugetier. Auch bei Vögeln bildet der Strahlenkörper Ziliarfortsätze aus. Diese werden von einem zweischichtigen retinalen Epithel überzogen, welches das Kammerwasser produziert und sezerniert. Dieses fließt über den Ziliarspalt in den Sinus venosus sclerae und von dort über den Schlemm'schen Kanal wieder ab (LIEBICH, 2010).

3.2. Störungen der Funktion der Blut-Augen-Schranke

V. a. die Uvea (mittlere Augenhaut inkl. Choroidea, Iris und Strahlenkörper) betreffende Entzündungsprozesse können die Funktionalität der Blut-Augen-Schranke negativ beeinflussen, wenn infolgedessen die engen Verbindungen zwischen den Epithelzellen, die die Blut-Augen-Schranken bilden, zerstört werden (REESE et al., 1998). Barrieredysfunktionen können passiv zur Pathophysiologie entzündlicher Augenerkrankungen beitragen, indem blutübertragene Moleküle und Entzündungszellen in das vordere Augensegment austreten und ein intraokuläres Eindringen von Bakterien und nachfolgend deren Vermehrung im Augeninneren ermöglicht wird (COCA-PRADOS, 2014).

Eine systemische Behandlung solcher intraokulären Augeninfektionen ist sehr schwierig, weil die Blut-Augen-Schranke das Eindringen und Wirken der meisten pharmakologisch wirksamen Stoffe in das Innere des Auges verhindert. Es stehen nur wenige geeignete Wirkstoffe zur Verfügung, die in der Lage sind, die Blut-Augen-Schranke zu überwinden (TOMI und HOSOYA, 2010). Zusätzlich können aufgrund der anatomischen und physiologischen Unterschiede zwischen Vögeln und Säugern bereits existierende Behandlungsansätze aus der Humanmedizin oder aus der Veterinärmedizin nicht ohne weiteres auf Vögel übertragen werden.

4. Enrofloxacin

4.1. Struktur

Die Fluorchinolone sind eine Gruppe von synthetischen Breitband-Antibiotika. Chemisch gehören sie zu den Gyrasehemmern und wurden, ausgehend von der Nalidixinsäure, seit den 1960er Jahren entwickelt (Abb. 1) (EMMERSON und JONES, 2003).

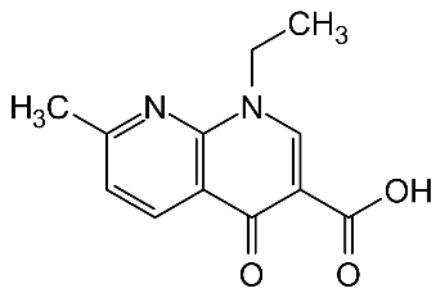


Abb. 1.: Strukturformel Nalidixinsäure

Alle Vertreter der Gyrasehemmer haben eine Carboxylgruppe in Position 3, eine Ketogruppe in Position 4, sowie ein Stickstoffatom in Position 1 gemeinsam. Die Fluorchinolone zeichnen sich zusätzlich durch eine Fluorierung in Position 6 des Grundgerüsts aus und weisen außerdem einen Piperazinsubstituenten in Position 7 auf (Abb. 2.) (RICHTER und SCHERKL, 2016b).

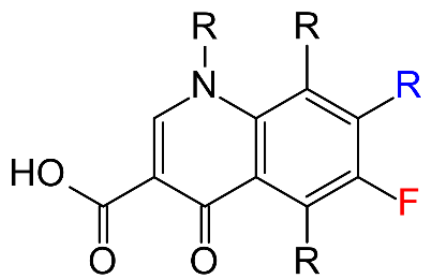


Abb. 2.: Strukturformel Fluorchinolone

Enrofloxacin ist ein Fluorchinolon der 2. Generation, welches ausschließlich für die Veterinärmedizin zugelassen ist. Chemisch betrachtet ist Enrofloxacin eine 1-Cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-(ethyl-1-piperazyl)-3-chinolon-Carbonsäure (Abb. 3.) (ALTREUTHER, 1987; LOPEZ-CADENAS et al., 2013).

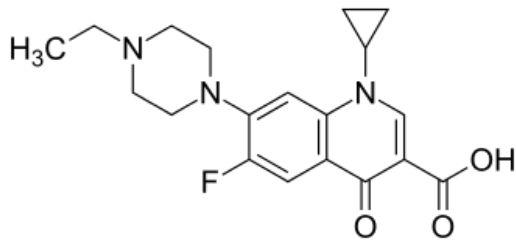


Abb. 3.: Strukturformel Enrofloxacin

4.2. Wirkmechanismus

Wie bei allen Fluorchinolonen beruht die Wirkung von Enrofloxacin auf der Hemmung der den Bakterien eigenen Gyrase und der Topoisomerase IV. Bei der Gyrase handelt es sich um eine bakterielle Topoisomerase II. Dieses Enzym ist im Zellkern lokalisiert und für eine Überspiralisierung („Supercoiling“) der bakteriellen DNA und damit für die Unterbringung des bakteriellen Chromosoms in der Bakterienzelle verantwortlich. Außerdem ist die Überspiralisierung für DNA-Funktionen wie Replikation, Transkription und Reparatur von essenzieller Bedeutung. Die Topoisomerase II besteht aus einem Tetramer von je zwei A- und B-Untereinheiten. Enrofloxacin wirkt auf den *nalA*-Locus der Untereinheit A und verhindert damit den Wiederverschluss der DNA-Stränge, was zu einer Hemmung der DNA-Polymerasenreaktion führt. Die bakterielle DNA-Gyrase ist der Hauptangriffspunkt von Enrofloxacin bei gramnegativen Bakterien wie z. B. *E. coli*. Des Weiteren wird v. a. bei grampositiven Bakterien, wie *Staphylococcus aureus*, die Topoisomerase IV gehemmt, die ebenfalls bei der bakteriellen Zellteilung eine wichtige Rolle spielt.

Die Hemmung der verschiedenen Topoisomerasen erklärt jedoch lediglich einen bakteriostatischen Effekt der Fluorchinolone und nicht ihre bakterizide Wirkung, weshalb von weiteren, bisher noch nicht geklärten Wirkmechanismen ausgegangen wird (BROWN, 1996; PALLO-ZIMMERMAN et al., 2010; RICHTER und SCHERKL, 2016b).

4.3. Wirkspektrum

Enrofloxacin zeichnet sich durch ein ausgesprochen breites antibakterielles Spektrum und eine hohe bakterizide Aktivität gegen wichtige pathogene Bakterien, sowohl im grampositiven als auch gramnegativen Bereich und einige atypische Erreger (Chlamydien, Mykoplasmen) aus. So beinhalten die Anwendungsgebiete bei Hühnern und Puten Infektionen mit *Mycoplasma gallisepticum* und *Mycoplasma synoviae*, *Pasteurella multocida* und *Avibacterium paragallinarium*. Bei Ziervögeln ist Enrofloxacin allgemein für die Behandlung von Infektionen des Digestions- und Respirationstraktes zugelassen (VETIDATA, 2023).

Viele der eingangs erwähnten mit Augenerkrankungen bei Vögeln in Zusammenhang zu bringenden Erreger, wie *E. coli*, *Salmonella* spp., *P. multocida*, *Aeromonas hydrophila*,

Proteus spp., *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Chlamydia* spp., u. a. sind gegenüber Enrofloxacin sensibel (PRESCOTT und YIELDING, 1990; HEINEN et al., 1997). Enrofloxacin ist wenig wirksam gegen Anaerobier und sollte bei Infektionen mit entsprechenden Erregern nicht angewandt werden (RICHTER und SCHERKL, 2016b).

4.4. Pharmakokinetik

Bei Vögeln wird Enrofloxacin intramuskulär, oral oder über das Trinkwasser verabreicht. Die in Deutschland zugelassene Dosierung für Geflügel ist 10 mg/kg Körpergewicht (KGW). Für Ziervögel gibt der Hersteller je nach Präparat eine Dosierungsempfehlung von einmal täglich 20 mg/kg KGW intramuskulär (Baytril-Das Original- 25 mg/ml Injektionslösung, Elanco Animal Health, Monheim) oder zweimal täglich 10 mg/kg KGW oral (Orniflox 25 mg/ml, Dechra, Aulendorf) an. Die pharmakokinetischen Eckdaten sind z. T. zwischen unterschiedlichen Vogelspezies und auch zwischen verschiedenen Studien recht unterschiedlich und werden zwecks besserer Übersichtlichkeit in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1. Pharmakokinetik von Enrofloxacin bei unterschiedlichen Vogelarten (Daten nach unterschiedlichen pharmakokinetischen Modellen errechnet)

Spezies	n	Dosis mg/kg	Appl.	F (%)	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (h)	AUC _{0-∞} (µg·h/ml)	Vd/Vdss (l/kg)	MRT (h)	t _{1/2β} (h)	CL _B (ml/min/kg)	Quelle
Broiler (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	-	10 mg/kg	IV PO	- 64,0 ± 0,2	- 2,44 ± 0,06	- 1,64 ± 0,04	34,5 -	2,77 4,40	9,65 ± 0,48 15,30 ± 0,53	10,29 ± 0,45 14,23 ± 0,46	4,8* -	Anadon et al., 1995
Broiler (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	29	10 mg/kg	IV IM PO SC	- 87,51 ± 4,47 59,58 ± 4,16 80,78 ± 4,56	- 2,45 ± 0,1 1,69 ± 0,08 2,41 ± 0,06	- 1,43 ± 0,02 2,52 ± 0,08 1,45 ± 0,06	27,60 ± 1,44 22,46 ± 0,44 16,60 ± 0,55 22,53 ± 0,50	2,43 ± 0,19 - - -	- - - -	4,16 ± 0,19 4,06 ± 0,06 4,29 ± 0,1 4,43 ± 0,04	2,20 ± 0,09* 0,38 ± 0,01* 0,36 ± 0,01* 0,35 ± 0,01*	Abd El-Azziz et al., 1997
Broiler (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	18	5 mg/kg	IV IM PO	- 98,6 80,1	- 2,10 ± 0,21 0,99 ± 0,08	- 0,79 ± 0,10 2,50 ± 0,86	21,7 ± 1,59 21,4 ± 3,9 17,4 ± 2,04	2,92 ± 0,23 2,28 ± 0,36 2,52 ± 0,28	12,5 ± 0,77 12,5 ± 1,03 13,7 ± 1,97	10,96 ± 10,6 - -	4,17 ± 5,17* 4,17 ± 7,67* -	Bugyei et al., 1999
Broiler (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	7	5 mg/kg	IV	-	-	-	26,76 ± 2,55	1,98 ± 0,18	10,24 ± 0,73	6,99 ± 0,48	3,30 ± 0,35	Ovando et al., 1999
Broiler (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	6	10 mg/kg	IV PO	- 89,2	- 1,88 (1,54 ± 2,58)	- 1,5	16,17 14,42	3,9 -	6,38 7,58	5,56 5,81	10,3 -	Knoll et al., 1999
Hühner (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	6	2,5 mg/kg	IV	-	-	-	4,06 ± 1,28*	4,55 ± 1,08	6,99 ± 1,05	5,54 ± 1,07	11,11 ± 3,26	Haritova et al., 2004
Puten (<i>Meleagris gallopavo Linnaeus f. domestica</i>)	6	5 mg/kg 2,5 mg/kg	PO IV	87,94 ± 49,53	0,99 ± 0,34	1,71 ± 1,12	6,22 ± 2,10*	4,06 ± 0,94	7,59 ± 1,35	4,92 ± 0,94	-	Haritova, et al., 2004
Puten (<i>Meleagris gallopavo Linnaeus f. domestica</i>)	12	5 mg/kg 10 mg/kg	PO IV PO	69,85 ± 30,85 69,20 ± 0,43	0,87 ± 0,20 1,23 ± 0,30	2,29 ± 0,90 6,33 ± 2,54	6,74 ± 1,88* 25,91 ± 5,12 18,11 ± 3,33	- 3,57 ± 0,59 3,66 ± 0,48	8,67 ± 2,45 8,96 ± 1,18 11,91 ± 1,87	5,98 ± 2,03 6,64 ± 0,90 6,92 ± 0,97	- 6,80 ± 1,77 9,54 ± 2,08	Dimitrova et al., 2007
Jap. Wachteln (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	18	10 mg/kg	IV PO	- 15,16	- 0,29	- 0,35	6,59 1,00	5,63 ± 0,68 -	3,53 -	2,45 2,56	25,3 ± 2,17 -	Haritova et al., 2013
Jap. Wachteln (<i>Coturnix coturnix japonica</i>)	38	10 mg/kg	IV PO	- 26,4	- 0,2 ± 0,02	- 1,0 ± 0,35	7,1 ± 0,58 1,5 ± 0,63	4,6 ± 0,49 -	- -	2,3 ± 0,35 2,8 ± 0,08	23,3 ± 2,17	Lashev et al., 2015
Jagdfasane (<i>Phasianus colchicus</i>)	12	10 mg/kg	IV PO	- 84,9	- 1,3 ± 0,09	- 2,2 ± 0,81	18,1 ± 2,07 2,8 ± 1,7	3,7 ± 0,33 -	- -	4,6 ± 0,64 6,6 ± 0,33	10 ± 1 -	Lashev et al., 2015
Moschusenten (<i>Cairina moschata</i>)	16	10 mg/kg	IM PO	- -	1,67 ± 0,29 0,99 ± 0,08	0,94 ± 0,18 1,38 ± 0,18	10,11 ± 0,87 6,65 ± 0,54	- -	8,35 ± 0,65 6,01 ± 0,54	- -	1,03 ± 0,07* 1,56 ± 0,14*	Intorre et al., 1997

Fortsetzung Tabelle 1.

Spezies	n	Dosis mg/kg	Appl.	F (%)	C _{max} (µg/ml)	T _{max} (h)	AUC _{0→∞} (µg·h/ml)	Vd (l/kg)	MRT (h)	t _{1/2β} (h)	CI (ml/min/kg)	Quelle
Rotschwanzbussard (<i>Buteo jamaicensis</i>)	8	15 mg/kg	IV	-	6,7 ± 0,7	-	62,2 ± 9,9	2,3 ± 0,2	-	19,4 ± 2,4	-	Harrenstien et al., 2000
			IM	87	4,5 ± 0,6	1,1 ± 0,4	54,0 ± 20,5	2,4 ± 0,6	-	11,0 ± 2,8	-	
Virginia-Uhu (<i>Bubo virginianus</i>)	5	15 mg/kg	PO	76	2,8 ± 0,5	5,4 ± 1,5	47,2 ± 15,2	4,2 ± 1,0	-	8,9 ± 2,0	-	Harrenstien et al., 2000
			IM	-	3,8 ± 0,3	2,1 ± 0,4	65,3 ± 11,0	3,4 ± 0,2	-	11,4 ± 3,6	-	
Kragentrappe (<i>Chlamydotis undulata macquensis</i>)	8	10 mg/kg	PO	-	2,6 ± 0,5	7,1 ± 3,0	44,0 ± 10,7	4,2 ± 0,6	-	7,2 ± 3,1	-	Bailey et al., 1998
			IV	-	-	1,72 ± 0,19	29,8 ± 1,74	2,98 ± 0,32	8,13 ± 0,78	5,63 ± 0,54	5,71 ± 0,41	
Afrikan. Strauß (<i>Struthio camelus</i>)	5	5 mg/kg	IM	97,3 ± 13,7	2,75 ± 0,11	0,66 ± 0,05	27,5 ± 3,67	3,18 ± 0,32	9,5 ± 1,83	6,39 ± 1,49	6,56 ± 0,95	De Lucas et al., 2004
			PO	62,7 ± 11,1	1,84 ± 0,16	-	18,3 ± 1,81	5,12 ± 0,51	10,1 ± 1,14	6,80 ± 0,79	9,21 ± 0,94	
Emu (<i>Dromaius novaehollandiae</i>)	8	10 mg/kg	IV	-	0,44 ± 0,12	1,05 ± 0,57	-	3,4 ± 0,41	0,7 ± 0,12	0,78 ± 0,06	76 ± 5,3*	Senthil et al., 2015
			IM	91 ± 4,8	-	-	-	-	1,55 ± 0,35	0,87 ± 0,37	-	
Kongo-Graupapagei (<i>Psittacus erithacus</i>)		15 mg/kg	IV	-	2,4 ± 0,05	2,17 ± 0,28	20,09 ± 3,49	-	5,11 ± 0,22	4,36 ± 0,18	10,5 ± 2,67	Flammer et al., 1991
			PO	79,94 ± 7,15	-	-	16,06 ± 1,44	-	6,62 ± 0,48	4,13 ± 0,36	8,5 ± 0,05	
		30 mg/kg	IV	-	3,87 ± 0,27	1	-	-	-	-	-	
			IM	-	1,12 ± 0,11	2	-	-	4,28	-	-	
			PO	48	1,69 ± 0,23	4	12,84	-	-	-	-	

n = Anzahl der in der Studie verwendeten Probanden; F = Bioverfügbarkeit; C_{max} = Spitzenkonzentrationen in Serum oder Plasma; T_{max} = Zeit der maximalen Konzentration in Serum oder Plasma; AUC_{0→∞} = Fläche unter der Plasmakonzentration-Zeit-Kurve; Vd = Verteilungsvolumen; MRT = Mean Residence Time; t_{1/2β} = Halbwertszeit; CI = Werte für die Clearance, mit * gekennzeichnete Werte entsprechen nicht der CL_R, sondern einem anderen Clearance - Parameter

4.4.1. Absorption

Enrofloxacin zeigt bei den meisten Tierarten nach parenteraler und oraler Verabreichung mit Werten von 60 % bis über 90 % eine gute Resorption, also einen guten Übergang in den Blutkreislauf. Dieser Vorgang wird in der Pharmakokinetik über die Bioverfügbarkeit (F) ausgedrückt (RICHTER und SCHERKL, 2016b).

Die Bioverfügbarkeit von Enrofloxacin ist beim Vogel allgemein hoch. So war beispielsweise die Resorption von Enrofloxacin nach intramuskulärer (IM) Verabreichung von 5 mg/kg bei Hühnern mit 98,6 % nahezu vollständig (BUGYEI et al., 1999). Ein ähnlich hoher Wert von 97,3 % konnte ebenfalls nach IM-Applikation von 10 mg/kg Enrofloxacin bei Kragentrappen (*Chlamydotis undulata macqueenii*) gemessen werden (BAILEY et al., 1998). Für die meisten an Vögeln durchgeführten Studien ergab sich eine Bioverfügbarkeit zwischen 80 und 90 %. So konnten in weiteren an Hühnern durchgeführten Untersuchungen nach intramuskulärer oder peroraler (PO) Applikation für F Werte zwischen 80,1 und 89,2 % gemessen werden (ABD EL-AZIZ et al., 1997; BUGYEI et al., 1999; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004; GUO et al., 2010). Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den für Jagdfasane (*Phasianus colchicus*) mit 84,9 % (LASHEV et al., 2015) oder für Rotschwanzbussarde (*Buteo jamaicensis*) mit 87 % (HARRENTIEN et al., 2000) ermittelten Werten. Bei Laufvögeln (Ratiten) wurden ebenfalls hohe Werte für F gemessen. Strauße (*Struthio camelus*) wiesen nach einmaliger IM-Applikation von 5 mg/kg Enrofloxacin eine Bioverfügbarkeit von ca. 91 % auf (DE LUCAS et al., 2004). Bei Emus (*Dromaius novaehollandiae*) lag die Bioverfügbarkeit nach oraler Administration von 10 mg/kg bei 79,9 % (SENTHIL KUMAR et al., 2015).

Die Bioverfügbarkeit nach oraler Medikamentenapplikation war allgemein etwas niedriger und lag bei den meisten Vogelarten für Enrofloxacin zwischen 60 und 80 % (Hühner: 64 % (ANADÓN et al., 1995), 59,58 % (ABD EL-AZIZ et al., 1997); Puten (*Meleagris gallopavo Linnaeus f. domestica*): 69,85 % (HARITOVA et al., 2004), 69,20 % (DIMITROVA et al., 2007). Bei Kongo-Graupapageien (*Psittacus erithacus*) wurde ebenfalls nach oraler Verabreichung von 15 mg/kg Enrofloxacin eine Bioverfügbarkeit von 48 % ermittelt (FLAMMER et al., 1991). Eine vergleichsweise niedrige Bioverfügbarkeit wurde bei japanischen Wachteln (*Coturnix coturnix japonica*) gemessen. Bei dieser Vogelart lagen die Werte nach oraler Administration von 10 mg/kg KGW lediglich bei 26,4 % (LASHEV et al., 2015) bzw. 15,16 % (HARITOVA et al., 2013).

4.4.2. Verteilung

Enrofloxacin dringt aufgrund seiner hohen Fettlöslichkeit und geringen Proteinbindung allgemein gut in unterschiedliche Gewebe ein. Bei Geflügel hat Enrofloxacin eine gute Gewebeverteilung und Penetration durch biologische Membranen. Die gute Gewebepenetration zeigt sich dadurch, dass in Leber, Niere, Herz, Lunge, Milz und Muskel

höhere Konzentrationen erreicht werden als im Serum (INTORRE et al., 1997; LOPEZ-CADENAS et al., 2013). Das Verteilungsvolumen (V_d) ist bei Geflügel (Hühner, Puten) nach intravenöser (IV) Verabreichung hoch und lag zwischen 1,98 l/kg und 4,55 l/kg (ANADÓN et al., 1995; ABD EL-AZIZ et al., 1997; BUGYEI et al., 1999; GARCÍA OVANDO et al., 1999; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004; DIMITROVA et al., 2007). Diese Werte stimmen mit denen nach intramuskulärer und nach oraler Verabreichung überein (ANADÓN et al., 1995; BUGYEI et al., 1999; DIMITROVA et al., 2007).

Auch bei Jagdfasanen (LASHEV et al., 2015), Greifvögeln und Eulen (HARRENSTIEN et al., 2000) sowie bei Straußen (DE LUCAS et al., 2004) lag die V_d in vergleichbaren Bereichen zwischen 2,3 l/kg und 4,2 l/kg. Etwas höhere Werte ergaben sich nach IV-Applikation von 10 mg/kg Enrofloxacin mit einer V_d von 4,6 l/kg und 5,63 l/kg bei japanischen Wachteln (HARITOVA et al., 2013; LASHEV et al., 2015). Auch bei Kragentrappen war mit 5,12 l/kg die V_d nach oraler Administration von 10 mg/kg (BAILEY et al., 1998) vergleichsweise hoch.

4.4.3. MRT

Werte für die Mean-Residence-Time (MRT) nach intravenöser, intramuskulärer und oraler Verabreichung sind beim Huhn ähnlich und lagen meist bei 10-15 Stunden (ANADÓN et al., 1995; BUGYEI et al., 1999; GARCÍA OVANDO et al., 1999). In einzelnen Studien wurden für Hühner (KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004) etwas niedrigere Werte im Bereich zwischen 6-8 Stunden gemessen. Eine ähnliche Zeitspanne ergab sich auch bei Moschusenten (INTORRE et al., 1997). Ungewöhnlich war in dieser Studie, dass die MRT nach peroraler Administration (6 Stunden) kürzer war als nach IM-Applikation (8 Stunden). Geringgradig höhere MRT-Werte von 8–12 Stunden wurden bei Puten gemessen (HARITOVA et al., 2004; DIMITROVA et al., 2007).

Stark übereinstimmende Werte finden sich auch bei Kragentrappen mit 8–10 Stunden wieder (BAILEY et al., 1998). Die beim Kongo-Graupapagei ermittelte MRT war deutlich kürzer und lag lediglich bei 4,28 Stunden (nach Gabe von 15 mg/kg PO) (FLAMMER et al., 1991). Noch kürzer war die MRT bei japanischen Wachteln, bei denen ein Wert von 3,5 Stunden ermittelt wurde (LASHEV et al., 2015). Die kürzeste MRT wurde bei Straußen gemessen. Bei diesen Vögeln betrug die MRT nach intravenöser und intramuskulärer Verabreichung von 5 mg/kg KGW lediglich 42 bzw. 93 Minuten (DE LUCAS et al., 2004). Im Vergleich dazu entsprachen die bei Emus gemessenen MRT-Werte mit 5 und 6,5 Stunden den niedrigen bei Hühnern gemessenen Ergebnissen (SENTHIL KUMAR et al., 2015).

4.4.4. Wirkstoffspiegel

4.4.4.1. Maximale Wirkstoffkonzentrationen in Serum/ Plasma (C_{\max}) und Zeit der maximalen Wirkstoffkonzentration (T_{\max})

Die maximale Wirkstoffkonzentration in Serum oder Plasma (C_{\max}) und der Zeitpunkt der maximalen Konzentration (T_{\max}) sind unter anderem direkt von der verabreichten Ausgangsdosierung und der gewählten Applikationsform abhängig. So sind nach IM-Applikation nach kürzerer Zeit höhere Plasmaspitzenkonzentrationen zu erwarten als nach PO-Administration. Die maximalen Plasmakonzentrationen sollten außerdem mit Erhöhung der verabreichten Dosis ansteigen.

In Bezug auf die T_{\max} bestätigt sich dies bei fast allen in Tabelle 1 aufgeführten Studien. Einzige Ausnahme bildet die an Kragentrappen durchgeführte Studie von Bailey et al (1998). Hier war die C_{\max} nach IM-Applikation von 10 mg/kg mit 2,75 µg/ml zwar höher als nach oraler Verabreichung der gleichen Dosis (1,84 µg/ml), wurde aber mit 1,7 h später erreicht als die orale T_{\max} mit 0,6 Stunden (h). Der direkte Einfluss des Applikationsweges mit niedrigeren C_{\max} nach peroraler Administration im Vergleich zu parenteraler Applikation lässt sich in allen geeigneten Studien anhand der in der Tabelle 1 genannten Daten nachvollziehen (ABD EL-AZIZ et al., 1997; INTORRE et al., 1997; BAILEY et al., 1998; BUGYEI et al., 1999; HARRENTSTIEN et al., 2000).

Eine Erhöhung der Ausgangsdosis von 5 mg/kg auf 10 mg/kg bewirkte im Vergleich der Ergebnisse unterschiedlicher Studien eine Erhöhung der C_{\max} (BUGYEI et al., 1999; HARITOVA et al., 2004) vs. (ANADÓN et al., 1995; ABD EL-AZIZ et al., 1997) oder (HARITOVA et al., 2004) vs. (DIMITROVA et al., 2007). Bei verschiedenen Vogelarten sind bei gleicher Ausgangsdosierung z. T. sehr unterschiedliche C_{\max} zu beobachten. Bei Hühnern lagen nach einer Applikation von 10 mg/kg KGW PO die Konzentrationen C_{\max} zwischen 1,69 und 2,44 µg/ml (ANADÓN et al., 1995; ABD EL-AZIZ et al., 1997; KNOLL et al., 1999). Ein ähnlicher Wert (C_{\max} 1,84 µg/ml) wurde bei gleichem Applikationsschema für Kragentrappen ermittelt (BAILEY et al., 1998). Bei Puten und Jagdfasanen waren die entsprechenden Werte der C_{\max} mit jeweils 1,23 µg/ml und 1,3 µg/ml geringgradig niedriger (DIMITROVA et al., 2007; LASHEV et al., 2015).

Sehr niedrige Ergebnisse wurden für die C_{\max} nach oraler Verabreichung von 10 mg/kg mit 0,2 und 0,29 µg/ml in beiden Studien an Wachteln ermittelt (HARITOVA et al., 2013; LASHEV et al., 2015). Auch bei Straußen war die C_{\max} mit 0,44 µg/ml nach oraler Administration von 5 mg/kg vergleichsweise niedrig (DE LUCAS et al., 2004).

Bei den Emus jedoch, obwohl derselben taxonomischen Ordnung zugehörig, wurde nach PO-Administration von 10 mg/kg mit 2,4 µg/ml eine C_{\max} ermittelt, die eher den Ergebnissen der Hühner entsprach (SENTHIL KUMAR et al., 2015).

Für Rotschwanzbussarde und Virginia-Uhus wurde die C_{\max} für eine etwas höhere Dosierung von 15 mg/kg ermittelt. Bei den Bussarden wurde eine C_{\max} von 4,5 µg/ml (nach IM-Applikation) und 2,8 µg/ml (nach PO-Applikation) ermittelt. Die entsprechenden Werte lagen bei Virginia-Uhus bei 3,8 µg/ml (IM) und 2,6 µg/ml (PO) (HARRENTIEN et al., 2000). Kongo-Graupapageien zeigten nach einer einmaligen 15 mg/kg-Applikation maximale Plasmakonzentrationen von 3,87 µg/ml nach einer Stunde (T_{\max}). Die C_{\max} von Enrofloxacin betrugen 2 bis 4 Stunden nach oralen Dosen von 3, 15 und 30 mg/kg 0,31, 1,12 bzw. 1,69 µg/ml bei dieser Spezies (FLAMMER et al., 1991).

4.4.4.2. Fläche unter der Plasmakonzentration–Zeit–Kurve (AUC)

Die Area under the curve (AUC) stellt in der Pharmakologie den Zeitverlauf der Wirkstoffkonzentration im Blutplasma von Verabreichung bis Elimination eines Arzneimittels dar (FINK und FREY, 2016b). Sie hängt demnach ebenfalls direkt mit der verabreichten Dosis und dem gewählten Applikationsweg zusammen. So resultieren auch für diese Werte höhere Ausgangsdosierungen und eine parenterale Verabreichung in einer höheren AUC. Die Werte korrelieren dem zufolge mit den zu C_{\max} und T_{\max} dargestellten Ergebnissen. Genauere Angaben zu AUC–Einzelwerten verschiedener Vogelarten aus unterschiedlichen Studien können der Tabelle 1 entnommen werden.

Auffällig waren die für die AUC vergleichsweise niedrigen Ergebnisse aus den Studien von Haritova et al (2004) bei Hühnern und Puten. Nach PO–Administration von 5 mg/kg Enrofloxacin konnte für Hühner ein Wert von 6,22 µg·h/ml und für Puten ein ähnlicher Wert von 6,74 µg·h/ml gemessen werden, während in vergleichbaren Studien für Hühner eine AUC von $17,4 \pm 2,04$ µg·h/ml (BUGYEI et al., 1999) und eine AUC von $18,11 \pm 3,33$ µg·h/ml (nach 10 mg/kg PO) bei Puten (DIMITROVA et al., 2007) gemessen wurden.

Ebenfalls eher niedrige AUC–Werte von 2,8 µg·h/ml wurden nach peroraler Verabreichung bei Jagdfasanen gemessen (LASHEV et al., 2015). Für Kongo-Graupapageien wurde eine AUC von 12,84 µg·h/ml nach peroraler Administration von 30 mg/kg ermittelt (FLAMMER, 2006).

4.4.5. Proteinbindung

Lediglich der freie, ungebundene Anteil eines Arzneimittels ist in der Lage, den Intravasalraum zu verlassen und eine pharmakologische Wirkung in verschiedenen Geweben hervorzurufen (Löscher). Ist die Proteinbindung eines Arzneimittels sehr hoch, wird die Diffusion und das Eindringen des Arzneimittels in das Gewebe und somit dessen therapeutischer Effekt eingeschränkt. Für Enrofloxacin wurde bisher keine starke Proteinbindung nachgewiesen, so dass eine eingeschränkte Verteilung im Gewebe oder eine proteinbindende Interaktion nicht zu vermuten ist (LOPEZ-CADENAS et al., 2013). So wurde die Proteinbindung bei Hühnern

mit 22-24 % als niedrig eingestuft (ABD EL-AZIZ et al., 1997; BUGYEI et al., 1999) und dürfte die therapeutische Wirkung von Enrofloxacin nicht wesentlich beeinträchtigen.

4.4.6. Metabolisierung

Enrofloxacin wird in der Leber durch Deethylierung der Ethylgruppe am Piperazinring zu Ciprofloxacin metabolisiert. Der dabei zunächst entstehende aktive Hauptmetabolit Ciprofloxacin wird weiter zu vier anderen Metaboliten verstoffwechselt, nämlich Formyl-Ciprofloxacin, Oxociprofloxacin, Desethyl-Ciprofloxacin und Sulfociprofloxacin. Diese vier Metaboliten tragen jedoch, im Gegensatz zu Ciprofloxacin, nicht zur antibakteriellen Wirkung bei. Der Anteil an Enrofloxacin, der zu Ciprofloxacin metabolisiert wird, variiert zwischen und sogar innerhalb von Tierarten sehr stark (VANCUTSEM et al., 1990; MITCHELL, 2006; RICHTER und SCHERKL, 2016b).

Studien an Geflügel (Hühner, Moschusenten und Truthähne) haben gezeigt, dass bei diesen Spezies die Ciprofloxacin-Konzentrationen in Plasma und Gewebe nach einmaliger Verabreichung von Enrofloxacin mit weniger als 10 % Ciprofloxacin-Bildung minimal sind (ANADÓN et al., 1995; INTORRE et al., 1997; KNOLL et al., 1999; DIMITROVA et al., 2007). Auch bei Straußen wurde eine Metabolisierungsrate von weniger als 10 % zu Ciprofloxacin bestimmt (DE LUCAS et al., 2004). Bei 9 Tage alten Masthähnchen, die für 5 Tage oral mit 15,5 mg/kg Enrofloxacin behandelt worden waren, wurde 25 % in Form des Hauptmetaboliten Ciprofloxacin wieder ausgeschieden (SLANA et al., 2014).

Für andere Vogelarten ergaben sich jedoch höhere Metabolisierungsraten. Bei Kongo-Graupapageien wurden nach oraler und intramuskulärer Applikation Ciprofloxacin-Plasmakonzentrationen von 3 bis 78 % des Ausgangswertes für Enrofloxacin gemessen (FLAMMER, 2006). Lashev et. al. (2015) beobachteten bei Wachteln und Fasanen nach intravenöser Verabreichung von 10 mg/kg Enrofloxacin relativ hohe Werte für Ciprofloxacin, deren AUC etwa 13 % bzw. 20 % der entsprechenden Werte für Enrofloxacin erreichten. Nach peroraler Gabe derselben Dosis lagen die Werte sogar bei 43 % für Wachteln und 20 % für Fasane.

4.4.7. Ausscheidung

Wie bei Säugetieren wird Enrofloxacin auch bei Vögeln hauptsächlich über tubuläre Sekretion der Nieren und glomeruläre Filtration ausgeschieden, weshalb eine Anwendung bei Patienten mit Nierenerkrankungen vermieden werden sollte (RICHTER und SCHERKL, 2016b). Ein zweiter wichtiger Abbaumechanismus von Enrofloxacin ist, wie oben bereits beschrieben, die Metabolisierung in der Leber.

Die Eliminationshalbwertszeit ($t_{1/2\beta}$) bezeichnet die Zeitspanne, in der die Konzentration eines Arzneimittels im Plasma auf die Hälfte des ursprünglichen Wertes abgesunken ist. Sie hängt

vom Verteilungsvolumen und der Gesamtkörperclearance (CL_B) ab. Da die Ausscheidung eines Arzneimittels i.d.R. über mehrere Mechanismen erfolgt (renale Ausscheidung, Verstoffwechslung über Leber etc.), entspricht die Summe aller Organclearancewerte der Gesamtkörperclearance (CL_B), also der Eliminationsleistung des Organismus (FINK und FREY, 2016a).

Die für Hühner angegebenen $t_{1/2\beta}$ variierten sehr stark. Nach intravenöser und oraler Verabreichung einer Enrofloxacin-Dosis von 10 mg/kg schwankte die $t_{1/2\beta}$ bei Geflügel (Hühner und Puten) zwischen 4,16 und 10,29 Stunden (IV) bzw. zwischen 4,3 und 14,23 Stunden (PO) (ANADÓN et al., 1995; ABD EL-AZIZ et al., 1997; KNOLL et al., 1999; DIMITROVA et al., 2007).

Bei einer Studie mit Rotschwanzbussarden wurde festgestellt, dass die Applikationsform einen großen Einfluss auf die Eliminationshalbwertszeit hat. So war sie nach IV-Applikation mit 19,4 Stunden etwa doppelt so lang wie 8,9 Stunden nach per os-Gabe. Der Wert nach IM-Gabe lag mit 11,0 Stunden dazwischen. Für Virginia- Uhus lagen die $t_{1/2\beta}$ -Werte mit 11,4 und 7,2 Stunden nach IM- bzw. PO-Applikation in sehr ähnlichen Bereich wie bei den Rotschwanzbussarden (HARRENTSTIEN et al., 2000). Die in beiden Studien an Wachteln gemessenen $t_{1/2\beta}$ waren niedrig und lagen zwischen 2,3 und 2,45 Stunden (IV), bzw. zwischen 2,56 und 2,8 Stunden (HARITOVA et al., 2013; LASHEV et al., 2015). Die kürzesten $t_{1/2\beta}$ wurden mit 0,78 Stunden (IV) und 0,87 Stunden (IM) bei Straußen ermittelt (DE LUCAS et al., 2004). Auch wichen die bei Emus (SENTHIL KUMAR et al., 2015) gemessenen Werte mit 4,36 Stunden (IV) und 4,13 (PO) stark von den Straußen ab und waren eher mit den Ergebnissen einiger Studien an Hühnern vergleichbar (ABD EL-AZIZ et al., 1997; KNOLL et al., 1999).

Die Werte für die CL_B sind in den verschiedenen Studien ebenfalls sehr variabel. Für Hühner und Puten wurden Ergebnisse im Bereich von 3,3–11,11 ml/min/kg gemessen (GARCÍA OVANDO et al., 1999; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004; DIMITROVA et al., 2007). Wachteln wiesen eine sehr lange CL_B von 25,3 und 23,3 ml/min/kg auf (HARITOVA et al., 2013; LASHEV et al., 2015).

4.4.8. Pharmakodynamik

Fluorchinolone gehören zu den primär konzentrationsabhängigen Antibiotika. Ihre Aktivität nimmt mit steigender Konzentration an ihren Wirkorten zu. Daraus leitet sich ab, dass die Menge des Wirkstoffes, also die Höhe der Dosierung und nicht die Häufigkeit der Verabreichungen entscheidend für dessen Wirksamkeit ist (CRAIG, 1993).

Auch bei Enrofloxacin ist demnach die maximale Serumkonzentration im Verhältnis zur Minimalen Hemmkonzentration (MHK) des Antibiotikums (C_{max}/MHK) ausschlaggebend für dessen Wirksamkeit. Die beste antimikrobielle Effektivität wird entfaltet, wenn kurzfristig hohe

Konzentrationen am Wirkort erreicht werden. Um dies sicherzustellen, müssen möglichst hohe Einzeldosen (Einmalgabe oder zweimal täglich) verabreicht werden. Günstig ist insbesondere, wenn mit dem Dosierungsschema ein Verhältnis $C_{\max}/\text{MHK} > 10$ erreicht wird (LODE et al., 1998; WRIGHT et al., 2000; FÜSSLE, 2011). Dieser Zielwert ist auch bei der Vermeidung von bakteriellen Resistenzentwicklungen gegen Fluorchinolone bedeutsam (BLASER et al., 1987).

Enrofloxacin besitzt, wie die meisten Fluorchinolone, auch einen postantibiotischen Effekt (PAE). Das bedeutet, dass auch nach Absinken des Wirkspiegels unter die MHK des zu behandelnden Keimes eine antibiotische Wirkung gegeben ist. (RICHTER und SCHERKL, 2016b). Der PAE hängt ebenfalls direkt von den am Wirkort erreichten Spitzenkonzentrationen ab.

Bei den Fluorchinolonen ist die Effektivität außerdem vom Verhältnis der Substanzmenge im Serum zur MHK des Erregers (AUC/MHK) abhängig. Die *area under the curve* (AUC) ist dabei als Fläche unter der Konzentrations-Zeit-Kurve als Maß für die Substanzmenge im Körper ausschlaggebend (FÜSSLE, 2011).

Für Enrofloxacin ist bei hohen Wirkstoffkonzentrationen am Zielort die Bakterienabtötung fast vollständig und es kann eine ausreichende Wirksamkeit bei einmaliger Verabreichung pro Tag gegeben sein. Die Wirksamkeit kann zusätzlich durch Erhöhung der Dosis oder durch parenterale Verabreichung und damit Erhöhung der Maximalkonzentrationen verbessert werden.

So wurden bei Kongo-Graupapageien nach oraler Verabreichung von 15-25 mg/kg Wirkstoffkonzentrationen erreicht, die zur Behandlung von Bakterien mit einer MHK von $< 0,2 \mu\text{g}/\text{ml}$ geeignet waren. Eine parenterale Applikation von 15 mg/kg einmal täglich subkutan erzielte eine Erhöhung der Wirkstoffkonzentrationen und eine Effektivität gegen pathogene Keime mit einer MHK von $0,25 \mu\text{g}/\text{ml}$. Im Rahmen derselben Studie wurden durch die Erhöhung der parenteralen Dosis auf 20 bis 30 mg/kg einmal täglich Spitzenplasmakonzentrationen erzielt, die für die Behandlung von Bakterien mit einer MHK von 0,5 bis $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ wirksam waren (FLAMMER, 2006).

Fluorchinolone sind außerdem in der Lage, sich in Phagozyten anzureichern, wodurch sie für die Bekämpfung von intrazellulären Erregern besonders geeignet sind (FÜSSLE, 2011). Bei immungeschwächten Vögeln mit verminderter Phagozytenzahl kann dieser Effekt abgeschwächt und daher eine zweimal tägliche Verabreichung von Enrofloxacin wirksamer sein (FLAMMER, 2006).

4.4.9. Resistenzen

Es existieren verschiedene Mechanismen, die zur Entwicklung einer bakteriellen Resistenz gegen einen antibiotischen Wirkstoff führen können. Bei den Fluorchinolonen sind zwei grundsätzliche Resistenzmechanismen bekannt, die beide aus chromosomalen Mutationen resultieren (FISCHER, 2004):

1. Veränderungen in den Zielenzymen Gyrase und Topoisomerase IV
2. Veränderungen, die eine reduzierte Konzentration des Wirkstoffes in der Bakterienzelle bewirken

Die Zielstrukturen der Fluorchinolone, die bakterielle Gyrase und die Topoisomerase IV werden von den Genen *gyrA* und *gyrB* bzw. *parC* und *parE* kodiert. Kommt es zu Punktmutationen auf diesen Genabschnitten, können Veränderungen in der Proteinstruktur der Enzyme auftreten, sodass der Wirkstoff seine Bindungsstellen verliert und dadurch der Hauptwirkungsmechanismus nicht ablaufen kann (EVERETT et al., 1996; TAVÍO et al., 1999).

Veränderungen, die eine reduzierte Konzentration des Wirkstoffes in der Bakterienzelle bewirken, können auf einem reduzierten Eindringen in die Bakterienzelle (Influx) oder auf einem vermehrten Ausscheiden (Efflux) des Wirkstoffes aus der Zelle basieren. Da der Hauptangriffspunkt der Fluorchinolone die Struktur und Funktion der bakteriellen DNA sind, müssen sie in das Innere der Bakterienzelle gelangen, bevor sie ihre Wirkung entfalten können. In diesem Zusammenhang führen Mutationen, die in einer verminderten Durchlässigkeit der Zellwand gegenüber Fluorchinolonen resultieren, wie z. B. Veränderungen von bestimmten Porin-Proteinen, ebenfalls zu bakterieller Resistenz gegenüber den Wirkstoffen dieser Gruppe. Des Weiteren kann eine vermehrte Expression spezieller Effluxsysteme (Transmembranproteine) für ein erhöhtes, aktives Herauspumpen des Wirkstoffes aus der Bakterienzelle sorgen (PIDDOCK, 1995). Für Fluorchinolone sind aktuell auch drei plasmidkodierte und damit transferierbare Resistenzmechanismen bekannt, darunter u. a. für die Ausbildung von Gyrase/Topoisomerase IV-Schutzproteinen (SFEIR, 2018).

Resistenzen gegen Fluorchinolone wurden bei *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, *P. aeruginosa*, *Proteus* spp., Enterokokken, Streptokokken und Mikrokokken verzeichnet (FLAMMER, 2006; RICHTER und SCHERKL, 2016b). Neuere Studien hinsichtlich der Wirksamkeit von Enrofloxacin, vornehmlich bei Geflügel, ergaben außerdem eine vermehrte Resistenzentwicklung bei *Mycoplasma* spp. (CATANIA et al., 2019; MORROW et al., 2020; DE JONG et al., 2021).

Ebenfalls bei Geflügel treten seit einigen Jahren vermehrt Resistenzen bei *E. coli* und *Salmonella* spp. auf. Aus diesem Grunde und, um einer Verschärfung der Resistenzsituation

gegenüber diesen beiden bei Geflügel, aber auch für die Humanmedizin, sehr bedeutenden Erregern vorzubeugen, wurde bereits 2019 die Behandlung entsprechender Erkrankungen mit Enrofloxacin-Präparaten über das Trinkwasser aus der Zulassung gestrichen (BVL, 2019). Innerhalb der Wirkstoffklasse der Fluorchinolone besteht immer Kreuzresistenz (RICHTER und SCHERKL, 2016b), sodass sich Resistenzen aus der Tiermedizin auch auf Fluorchinolone aus der Humanmedizin übertragen und damit ein ernstzunehmendes Problem darstellen (EFSA, 2020).

4.4.10. Nebenwirkungen, Toxizität

Toxische Nebenwirkungen von Enrofloxacin wurden bei allen Tierarten selten beschrieben und traten in der Regel erst bei sehr hohen Dosierungen auf. Die der bakteriellen Gyrase entsprechende Topoisomerase II der Säugetiere ist gegenüber Fluorchinolonen 100- 1000-fach weniger empfindlich, weshalb den Wirkstoffen in Zellen höher entwickelter Lebewesen ein direkter Angriffspunkt fehlt (OOMORI et al., 1988; FORD et al., 2007; RICHTER und SCHERKL, 2016b).

Als Anzeichen einer akuten Toxikose werden vor allem gastrointestinale Störungen wie Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen oder Durchfall beschrieben. Bei Tieren mit vorliegenden Störungen des zentralen Nervensystems wie z.B. Epilepsie kann es durch die Anwendung von Enrofloxacin zu Krampfanfällen kommen. Obwohl diese nicht häufig sind und in der Regel erst bei hohen Dosierungen auftreten, sollte die Anwendung von Gyrasehemmern bei Patienten mit entsprechenden Erkrankungen aus diesem Grund vermieden werden. Außerdem wurden eine leichte Phototoxizität und allergische Reaktionen (Urtikaria, Angioödem) beschrieben (STAHLMANN, 2002; RICHTER und SCHERKL, 2016b). Bei Katzen gibt es mittlerweile diverse Berichte über Netzhautschäden nach der Anwendung von Enrofloxacin (GELATT et al., 2001; WIEBE und HAMILTON, 2002; FORD et al., 2007; ŞAROĞLU und ERDIKMEN, 2008). Ein ähnlicher Fall wird nach intramuskulärer Anwendung von 2,4 mg/kg Enrofloxacin über 14 Tage bei einem Guanaco beschrieben (HARRISON et al., 2006).

Enrofloxacin gilt für Vögel, bei Anwendung der zugelassenen Dosierungen, als äußerst gut verträglich. So werden in der Produktinformation beim Vogelpatienten keine Nebenwirkungen explizit angegeben. Die zugelassene Dosierung für Hühner und Puten beträgt 10 mg/kg KGW, bei Ziervögeln 20 mg/kg KGW, wobei bei Ziervögeln darauf verwiesen wird, dass bei komplizierten Infektionen eine höhere Dosis erforderlich sein kann.

In Studien zur Verträglichkeit von Enrofloxacin bei Vögeln zeigten sich erst ab wesentlich höheren Dosierungen klinische Nebenwirkungen bei den Probanden. So kam es in einem Versuch an 36 juvenilen Broilern von Maslanka et. al. (2009) erst ab Dosierungen von 300 mg/kg/Tag, also einer Erhöhung um das 30-fache, zu klinischen Symptomen wie

Bewegungsunlust, Koordinationsstörungen und Durchfall. Flammer et al. (1991) berichteten allerdings vom Auftreten von Polyurie und Polydipsie nach 10-tägiger oraler Behandlung von Kongo-Graupapageien mit lediglich 30 mg/kg KGW alle 12 Stunden. Diese Symptome verschwanden nach Absetzen des Medikaments schnell wieder und die Organwerte in der Blutchemie zeigten keinerlei Alteration. Darüber hinaus wurden bei Vogelpatienten nach intramuskulärer Verabreichung Reizungen an der Injektionsstelle beschrieben (FLAMMER et al., 1991), weshalb diese nur einmalig erfolgen und die Behandlung danach oral fortgeführt werden sollte.

Eine bedeutende Nebenwirkung der Fluorchinolone im Allgemeinen ist die bei heranwachsenden Säugetieren umfangreich als Folge einer Chelatbildung mit Magnesium beschriebene Chondrotoxizität, wobei der Gelenkknorpel und die epiphysäre Wachstumsplatte in Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium betroffen sind (BURKHARDT et al., 1990; MACHIDA et al., 1990; STAHLMANN, 2002). Bei Brieftaubennestlingen riefen hohe Dosen von Enrofloxacin (200 und 800 ppm über 225 Tage, oral, über Trinkwasser) ebenfalls Arthropathien und eine verzögerte Federentwicklung hervor (KRAUTWALD et al., 1990).

Diese Effekte wurden jedoch bei anderen Vogelarten nicht beschrieben, obwohl die Anwendung von Enrofloxacin auch bei Jungvögeln weit verbreitet ist. Maslanka et al. (2009) konnten toxisch bedingte Veränderungen im Gelenkknorpel von Hühnern ab Enrofloxacin-Dosen von 50 mg/kg über 5 Tage feststellen. Die Chondrotoxizität war dosis- und zeitabhängig, sodass die am Gelenkknorpel beobachteten histologischen Veränderungen mit Erhöhung der Dosis (bis auf 600 mg/kg) und des Behandlungszeitraumes (bis zu 5 Tage) zunahmen. Makroskopische Läsionen am Gelenkknorpel konnten auch nach der Höchstdosierung von 600 mg/kg über 5 Tage nicht festgestellt werden. Maslanka et. al. (2009) folgerten aus ihren Ergebnissen, dass die Anwendung von Enrofloxacin in der empfohlenen Dosierung von 10 mg/kg bei Hühnern in der Wachstumsphase sicher zu sein scheint und dass Chinolon-induzierte Arthropathien bei Vögeln deutlich weniger ausgeprägt sind als bei Säugetieren.

Bei 2 von 5 intravenös mit einer Enrofloxacinosis von 7,5 mg/kg behandelten Virginia-Uhus kam es zu einer sofortigen und dramatischen kardiovaskulären Reaktion, die Bradykardie, periphere Vasokonstriktion und Stupor umfasste (HARRENTIEN et al., 2000). Die Tiere im Vorfeld bereits oral und intramuskulär mit der gleichen Enrofloxacinosis, jedoch ohne jegliches Auftreten von Nebenwirkungen behandelt worden waren, gingen die Autoren in dieser Studie von einer Art anaphylaktischem Schockgeschehen bei den Tieren aus.

5. Fluorchinolone in der Ophthalmologie

Fluorchinolone werden in der Humanmedizin zur Vorbeugung und Behandlung einer Vielzahl von Augeninfektionen sowohl topisch als auch systemisch eingesetzt (BARZA, 1991; BLONDEAU, 2004; SCOPER, 2008). Eines der wichtigsten Anwendungsgebiete ist die postoperative Prävention und Behandlung der bakteriellen Endophthalmitis. Als häufige Erreger werden für die Humanmedizin in diesem Zusammenhang *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, Streptokokken, *Propionibacterium acnes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenza*, *Serratia marcescens* und *Bacillus cereus* genannt (CALLEGAN et al., 2002; KAMPOUGERIS et al., 2005).

Verschiedene humanmedizinische Studien haben gezeigt, dass unterschiedliche Fluorchinolone wie Ofloxacin, Ciprofloxacin oder Levofloxacin nach oraler Administration eine signifikante Kammerwassergängigkeit und in geringerem Maße eine Glaskörpergängigkeit aufwiesen, wobei die Konzentrationen in der Regel über den MHK-Werten von intraokulären Infektionserregern lagen: Ciprofloxacin: 0,53 µg/ml in Kammerwasser, 0,51 µg/ml im Glaskörper, 0,71 µg/ml in subretinaler Flüssigkeit (LESK et al., 1993); Ofloxacin: 2,77 µg/ml in Kammerwasser, 2,55 µg/ml im Glaskörper (DONNENFELD et al., 1997); Levofloxacin: in Kammerwasser 0,59 µg/ml, in Glaskörper 0,32 µg/ml (FISCELLA et al., 1999).

Auch bei verschiedenen Säugetierspezies wurde die Eignung von Fluorchinolonen zur Behandlung von intraokulären Infektionen überprüft und belegt. So ergaben Studien zur Pharmakokinetik von Moxifloxacin, einem in der Humanmedizin eingesetzten Fluorchinolon der vierten Generation, bei augengesunden Kaninchen und Tieren mit experimentell durch intravitreale Inokulation von 2 verschiedenen *Staphylococcus aureus*-Stämmen herbeigeführter Endophthalmitis eine gute Glaskörpergängigkeit des Medikaments. Den Kaninchen wurden im Experiment Dosierungen von 5 und 20 mg/kg Moxifloxacin IV verabreicht. Die C_{max} im Glaskörper stieg mit Erhöhung der Dosis bei den augengesunden Tieren von 0,45 µg/ml auf 1,67 µg/ml. Bei den experimentell mit *S. aureus* infizierten Tieren war die C_{max} höher und lag bei 0,68 µg/ml (5 mg/kg IV) bzw. 2,5 und 2,76 µg/ml (jeweils 20 mg/kg IV, jedoch verschiedene Bakterienstämme). Dabei gab es bei den infizierten Kaninchen je nach infektiösem Stamm auch leichte Unterschiede in der Pharmakokinetik. Die antibakterielle Wirksamkeit gegen die beiden im Experiment verwendeten *S. aureus*-Stämme wurde als gut bewertet (BRONNER et al., 2003).

Ein ähnlicher Versuch, ebenfalls an Kaninchen durchgeführt, beschäftigte sich mit der Kammerwasser- und Glaskörpergängigkeit einer einmaligen IV-Injektion von 4 mg/kg Marbofloxacin und dem Einfluss eines möglichen Infektionsgeschehens auf die intraokuläre Penetration des Medikaments. Bei den Versuchstieren wurde in diesem Experiment am

rechten Auge eine Endophthalmitis durch Inokulation von *E. coli*-Endotoxin ausgelöst. Das linke Auge wurde als Kontrolle verwendet. Auch in diesem Versuch war die C_{\max} in Kammerwasser und Glaskörper der entzündeten Augen höher (0,61 und 0,47 µg/ml) als bei gesunden Augen (0,33 und 0,38 µg/ml), wobei hier der Unterschied nur im Kammerwasser signifikant war (REGNIER et al., 2008). In einer weiteren Studie wurden die Enrofloxacin- und Ciprofloxacinkonzentrationen im Kammerwasser von augengesunden Hunden nach einmaliger subkutaner Verabreichung von Enrofloxacin in einer Dosierung von 7,5 mg/kg KGW bestimmt. Dabei konnten laut den Autoren potenziell therapeutische Konzentrationen von 0,18–0,22 µg/ml ermittelt werden (KRASSTEV et al., 2011).

Bei an einer Katarakt erkrankten Hunden wurde die Kammerwassergängigkeit von Marbofloxacin überprüft. Nach einmaliger intravenöser Applikation von 2 mg/kg KGW konnten im Kammerwasser C_{\max} von $0,41 \pm 0,17$ µg/ml gemessen werden. Anhand der gemessenen Daten wurde geschlussfolgert, dass eine intravenöse Injektion von 2 mg/kg Marbofloxacin eine Wirksamkeit gegen Enterobacteriaceae und bestimmte Staphylokokken-Stämme erzielen würde. Eine Erhöhung der Dosis auf 5,5 mg/kg IV könnte weiterhin das Wachstum von *Pseudomonas aeruginosa* und aller Staphylokokken-Stämme hemmen (REGNIER et al., 2003).

Bei der Anwendung von Enrofloxacin zur Behandlung von an rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankten Pferden wurden nach mehrmaliger intravenöser Gabe von 7,5 mg/kg KGW Enrofloxacinkonzentrationen im Glaskörperproben nachgewiesen, die deutlich über der in vitro bestimmten MHK von Leptospiren lagen. Die Enrofloxacinkonzentrationen im Glaskörper lagen bei durchschnittlich 1,06 µg/ml (POPP et al., 2013).



Für die Vogelmedizin liegen derartige Studien bisher noch nicht vor, wenngleich eine schnelle und effektive Behandlung von intraokulären Infektionen aus den oben genannten Gründen von z.T. existenzieller Bedeutung für den zu behandelnden Patienten ist. Die vorliegende Studie soll daher eine Grundlage für einen gezielten und gerechtfertigten Einsatz von Enrofloxacin bei der Behandlung von bakteriellen Augenerkrankungen von Vögeln schaffen.

III. Wissenschaftliche Veröffentlichung

Die folgende Publikation wurde am 23.12.2022 in der Zeitschrift Veterinary Sciences veröffentlicht (Vet. Sci. 2023, 10, 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci10010005>).

Article

Penetration of Enrofloxacin in Aqueous Humour of Avian Eyes

Katrin Fuchs ¹, Monika Rinder ^{1,*} , Richard Dietrich ², Leena Banspach ³, Hermann Ammer ⁴  and Rüdiger Korbel ¹

¹ Center for Clinical Veterinary Medicine, Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles and Ornamental Fish, Veterinary Faculty, University of Munich, 85764 Oberschleissheim, Germany

² Chair for Hygiene and Technology of Milk, Department of Veterinary Sciences, Veterinary Faculty, University of Munich, 85764 Oberschleissheim, Germany

³ Department of Veterinary Drug Residues, Bavarian Health and Food Safety Authority (LGL), 91058 Erlangen, Germany

⁴ Institute of Pharmacology, Toxicology and Pharmacy, Department of Veterinary Sciences, Veterinary Faculty, University of Munich, 80539 Munich, Germany

* Correspondence: monika.rinder@lmu.de

Simple Summary: Scientific information on the suitability of antibiotics for the treatment of intraocular bacterial infections in birds is lacking so far. Because the anatomical features of avian eyes differ from those in mammals, data obtained in mammals cannot be simply transferred to birds. Enrofloxacin, which is known to be a useful drug for the treatment of bacterial eye infections in mammals, was tested in chickens serving as a model system for birds. Our pharmacokinetic investigations revealed that single intramuscular administration of enrofloxacin at a dosage of 25 mg/kg body weight produced sustained and therapeutically active levels of enrofloxacin in the aqueous humour of chicken eyes.

Abstract: Enrofloxacin has been shown to be appropriate to treat bacterial eye infections in mammals. However, the anatomy and physiology of the avian eye substantially differ from those in mammals, and pharmacokinetic data substantiating the clinical efficacy of enrofloxacin in birds are still lacking. In total, 40 chickens (*Gallus gallus*, Lohman Selected Leghorn) received single intramuscular administration of enrofloxacin at a dosage of 25 mg/kg body weight (BW). Serial blood and aqueous humour samples were taken at 12 different time points after administration (0–60 min and 2–32 h) and were analysed for their fluoroquinolone concentrations using a competitive enzyme immunoassay. The metabolism of enrofloxacin to ciprofloxacin was determined using liquid chromatography-mass spectrometry. The maximum serum concentrations of fluoroquinolones were observed at the time point of 2.82 ± 0.1 h and amounted to 10.67 ± 0.5 µg/mL. Fluoroquinolones redistributed to a minor extent into the aqueous humour reaching maximum concentrations of 4.52 ± 1.2 µg/mL after 7.54 ± 1.0 h of drug administration. The mean residence time (MRT), volume of distribution (V_d), and terminal half-life ($t_{1/2 \beta}$) were 1.68-, 2.84-, and 2.01-fold higher in aqueous humour than in serum, indicating that fluoroquinolones were trapped in aqueous humour. Enrofloxacin was only marginally metabolized into ciprofloxacin. A single intramuscular injection of a therapeutical dose of enrofloxacin (25 mg/kg BW) thus generated sustained and therapeutically active levels of enrofloxacin in the aqueous humour of chicken eyes.

Keywords: enrofloxacin; pharmacokinetics; birds; chicken; intraocular bacterial infections



Citation: Fuchs, K.; Rinder, M.; Dietrich, R.; Banspach, L.; Ammer, H.; Korbel, R. Penetration of Enrofloxacin in Aqueous Humour of Avian Eyes. *Vet. Sci.* **2023**, *10*, 5. <https://doi.org/10.3390/vetsci10010005>

Academic Editor: Annamaria Passantino

Received: 25 November 2022

Revised: 18 December 2022

Accepted: 21 December 2022

Published: 23 December 2022



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Ocular diseases in birds frequently result from systemic infections. Many bacteria are known to induce endophthalmitis with uveitis, iris swelling, synechia, and other pathological alterations of the eye [1,2]. *Salmonella* spp. and *Mycoplasma* spp. are frequently involved; in addition, *Pasteurella multocida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp.,

Micrococcus spp., *Bordetella avium*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, and *Listeria monocytogenes* are also known for producing eye diseases and pathologies of the anterior eye chamber [1,3,4]. As vision is of fundamental importance for birds, assuring a fully functional sense of visual perception by initiating rapid and effective therapy may be vital to the avian patient [5].

Antibiotic treatment of intraocular infections is generally difficult, since the blood–ocular barrier, a natural mechanism of protection of the eye, impedes the intraocular penetration and action of many drugs [6].

A group of antibiotics commonly used in human ophthalmology comprises the fluoroquinolones [7]. Because of its favourable characteristics, enrofloxacin, a fluoroquinolone antimicrobial agent, is frequently used in avian medicine for the treatment of many types of systemic bacterial infections. It is bactericidal at low concentrations against a broad spectrum of Gram-negative and Gram-positive bacteria, as well as *Mycoplasma* or *Mycoplasma* spp. and *Chlamydia* spp. [8,9]. Furthermore, enrofloxacin is well tolerated in birds. Even at high concentrations over a long treatment period, only few side effects are observed [9]. Finally, it shows favourable pharmacokinetic properties, such as rapid absorption at the gastro-intestinal tract, resulting in high blood and tissue concentrations, even in bones and the central nervous system [10–12]. There is a growing need for the prudent use of antibiotics in order to guarantee efficacy and to prevent the development and spread of antimicrobial resistance [13]. Several studies revealed the suitability of enrofloxacin in veterinary ophthalmology and its ability to penetrate the blood–ocular barrier in mammals. Enrofloxacin concentrations above the minimal inhibitory concentrations (MICs) and the minimal bactericidal concentrations (MBCs) of *Leptospira* were obtained in the vitreous humour of horses when treating intraocular leptospirosis [14]. In addition, therapeutic concentrations of enrofloxacin in the aqueous humour of dogs were measured after a single subcutaneous application [15]. Corresponding studies in avian medicine are lacking so far, although fast and effective treatment of intraocular bacterial infections is of exceptionally high relevance in birds. However, a direct transfer of pharmacokinetic parameters of enrofloxacin from mammals to birds is not possible because of the bird-specific anatomical and physiological particularities of the blood–ocular barrier.

The anatomy and physiology of the avian eye substantially differ from those in mammals in several aspects, such as the blood supply. In mammals, the blood–ocular barrier system is formed by two main components: the blood–aqueous barrier, comprising the epithelial cells of the processus ciliaris majoris of the corpus ciliare, as well as the blood–retinal barrier, consisting of tight junctions between retinal capillary endothelial cells and retinal pigment epithelial cells. Both barriers provide a suitable, highly regulated chemical environment for the avascular transparent tissues of the eye and are a drainage route for the waste products of the ocular metabolism [6,16]. The anatomy of the blood–aqueous barrier of birds is similar to that of mammals. Aqueous humour is produced continuously by the inner epithelial layer of the ciliary processes of the ciliary body and is secreted into the posterior chamber (camera posterior bulbi). It further flows through the pupillary opening into the anterior chamber (camera anterior bulbi), where it is finally drained through the spaces of Fontana (spatia anguli iridocornialis) into the scleral venous sinus (sinus venosus sclerae) [17,18].

The main anatomical and physiological differences between birds and mammals refer to the second part, the blood–retinal barrier. In contrast to mammals, the avian retina is avascular. It is assumed that the maintenance of the intraocular milieu and the nutritional supply are mainly carried out by the capillary network of the choroid (lamina choriocapillaris) and the richly vascularised pecten oculi, a pleated, vaned, or conical projection of the retina, which is an anatomical structure unique to the avian eye and similar to the conus papillaris of reptiles. Despite extensive investigations, the function of the pecten oculi is in part unclear, but the characteristics of the capillary endothelium in the pecten are suggestive of a constant active transepithelial transport. The pecten oculi thus probably forms an important component of the avian blood–retinal barrier [18,19].

The aim of this study was to investigate whether an intramuscular injection of enrofloxacin at a dosage of 25 mg/kg BW can achieve clinically effective concentrations of enrofloxacin in the aqueous humour of clinically healthy chickens. The results provide a scientific basis for the appropriate systemic treatment of intraocular infections with sensitive bacteria in avian patients. As enrofloxacin is an antibiotic of critical importance in veterinary medicine, the present study aimed to contribute to a responsible and targeted use of enrofloxacin in avian medicine.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

The experiments were conducted in accordance with German animal welfare regulations and with permission from the German authorities (reference number ROB 55.2-2532.Vet_02-19-165). The study included 40 adult, clinically healthy roosters (*Gallus gallus domesticus*, Lohman Selected Leghorn). All birds were hatched and raised at Clinic for Birds, Small Mammals, Reptiles and Ornamental Fish of Ludwig Maximilians University, Munich, and were of the same age and genetic background. Animals were housed in two groups of 20 animals each under identical conditions. Food and drinking water were supplied ad libitum. Animals were drug naïve for at least two months prior to experimentation.

The chickens were determined to be clinically healthy based on visual inspections during daily care and a complete physical and ophthalmological examination before administration of enrofloxacin and sampling. The average body weight was 2.39 ± 0.19 kg at the beginning of the first study cycle and 2.31 ± 0.22 kg in the second cycle.

2.2. Dosing and Sample Collection Protocols

Animals were treated with a single intramuscular injection of enrofloxacin (Baytril®; 50 mg/mL; Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Germany) in the deep pectoral muscle (musculus supracoracoideus) at a dosage of 25 mg/kg body weight (BW). The experiments were conducted in two cycles.

In cycle 1, aqueous humour from the left eye and blood from the right jugular vein were collected at the time points of 2, 4, 8, 15, 30, and 60 min after administration of enrofloxacin. After a wash-out period of 3 weeks, the experiment was repeated for sampling time points of 2, 4, 8, 16, and 32 h using the right eye instead of the left one (cycle 2). Untreated animals served as controls (time point 0). For each time point, 6 individual animals were randomly assigned from the study population. Using this experimental setup, each animal was sampled once in cycles 1 and 2 in order to avoid multiple corneal punctures of the same eye in short intervals.

To further reduce stress and the risk of injury during sampling, manipulations were performed under general anaesthesia using isoflurane (initiating concentration of 5%, maintenance at 2–2.5%) starting approximately 5 min before sampling. Because of practical reasons, the roosters used for 2 and 4 min sampling were sedated with anaesthesia before enrofloxacin injection. For additional local corneal analgesia, oxybuprocaine hydrochloride (Conjucaïn® EDO®; 4.0 mg/mL; eye drops; Bausch & Lomb, Rochester, NY, USA) was applied to the conjunctival sack 1 min before sampling. The collection of aqueous humour was performed by means of paracentesis. The anterior chamber of the eye was punctured using an insulin syringe slightly dorsally of the temporal eye corner. A volume of 0.05 mL of aqueous humour was aspirated and subsequently replaced with the same volume of sterile isotonic saline solution to maintain intraocular pressure. For the determination of the serum levels, blood samples of 1 mL were collected from the right jugular vein, using a 22-gauge needle and a 2 mL syringe.

All chickens were re-examined 20 min after manipulation and for consecutive days by means of visual inspection during daily care. None of the roosters showed signs of pain, eye disorders, nor visual impairment as a consequence of paracentesis.

In cycle 2, animals were euthanized immediately after sampling with the injection of pentobarbital sodium (Release[®]; 300 mg/mL; WDT, Garbsen, Germany) at a dosage of 200 mg/kg [20] injected into the right jugular vein.

Samples of aqueous humour were stored at -18°C until analysis. Blood samples were collected in serum tubes and allowed to coagulate for at least 30 min at room temperature, before serum was collected after centrifugation at $3500\times g$ for 3 min and stored at -18°C until use.

2.3. Determination of Fluoroquinolones

Fluoroquinolone concentrations in serum and aqueous humour were determined using a generic enzyme immunoassay (EIA) with a highly sensitive monoclonal antibody as described in detail before [21]. The EIA was originally developed for the detection of fluoroquinolone residuals in milk and foodstuff. Its usefulness for serum and aqueous humour was confirmed by spiking serum and aqueous humour samples with known concentrations of enrofloxacin, resulting in recovery rates of $>90\%$.

Microtiter plates were first coated with rabbit anti-mouse antibodies (5 $\mu\text{g/mL}$; Z 0259; DAKO, Hamburg, Germany; 100 $\mu\text{L/well}$) in carbonate buffer (0.05 M; pH 9.6) overnight at room temperature and stored at 4°C for up to 3 weeks until use. Free binding sites were blocked with 3% (w/v) sodium caseinate (150 $\mu\text{L/well}$) in phosphate-buffered saline (PBS; 0.01 M phosphate buffer with 0.1 M NaCl; pH 7.3) for 30 min. Microtiter plates were washed 3 times with 146 mM NaCl solution containing 0.025% (v/v) Tween 20, before plates were incubated with 2 ng/well mouse anti-norfloxacin monoclonal antibody 5H8 [21] in phosphate-buffered saline for 60 min. After washing the plates again four times, enrofloxacin standards or appropriate dilutions of the samples (serum or aqueous humour diluted in PBS containing 0.1% bovine serum albumin) were added together with a clinafloxacin-horseradish peroxidase enzyme conjugate (50 μL each/well) and incubated for 60 min. Plates were washed again and enzyme reaction was developed with the addition of 100 μL of substrate solution [21]. After incubation in the dark for 20 min, enzyme reaction was stopped by adding 1 M sulfuric acid (H_2SO_4 ; 100 $\mu\text{L/well}$) and absorbance was measured at $\lambda = 450\text{ nm}$ with the reference wavelength of 620 nm.

2.4. Determination of Enrofloxacin/Ciprofloxacin Ratios

The EIA is group specific but does not differentiate between individual fluoroquinolones. For this, the enrofloxacin/ciprofloxacin ratio was determined in three serum and aqueous humour samples using liquid chromatography with tandem mass spectrometry (LC-MS/MS).

Enrofloxacin and ciprofloxacin were extracted stepwise from serum with acetonitrile ($2 \times 12.5\text{ mL}$) and citrate-phosphate buffer (pH 6.0; 0.1 M citric acid, 0.1 M Na_2HPO_4 , and 2 mM aqueous EDTA solution; 5 mL). Following a centrifugation step, an aliquot of 15 mL of the supernatant was transferred into a tube containing 1.0 g of sodium chloride. A volume of 3.3 mL of ethyl acetate was added, and the tube was shaken. After centrifugation, the organic phase was transferred into another tube and ethylene glycol (ethylene glycol/acetonitrile 1 + 3 (v/v); 0.8 mL) was added as keeper. The solvent was evaporated; the residue was dissolved in water; and the final extract was analysed with LC-MS/MS. The described method has been validated for the determination of antibiotics in muscle, kidney, liver, milk, egg, and cheese using LC-MS/MS according to Commission Decision 2002/657/EC and was adapted for the matrix serum.

From aqueous humour, enrofloxacin and ciprofloxacin were isolated using immunoaffinity chromatography. Columns were prepared by conjugating a generic anti-quinolone monoclonal antibody [21] to CNBr activated sepharose 4B (GE Healthcare, Munich, Germany). PBS was used for washing. Analytes were eluted using pure methanol and directly used for enrofloxacin and ciprofloxacin determination using LC-MS/MS.

2.5. Data Analysis

Pharmacokinetic parameters for overall fluoroquinolones were calculated with a non-compartmental analysis using PK Solutions 2.0 computer software (Summit Research Services, Montrose, CO, USA) from the mean values \pm SDs of $n = 6$ individual observations. Serum data were analysed using a three-exponential model after i.m. administration of a single dose. Aqueous humour data best fitted a two-exponential model. The variables calculated from the curves using the regression analysis included the values for maximum serum concentration (C_{max} ; $\mu\text{L/mL}$), time to maximum serum concentration (T_{max} ; h), mean resident time (MRT; h), volume of distribution (V_d ; L/kg) and renal clearance (CL; L/h/kg), and terminal half-life ($t_{1/2}$; min). The area under the curve from T0 to infinity ($AUC_{0-\infty}$) was calculated using the linear trapezoidal rule. The fraction of fluoroquinolones redistributed from serum to aqueous humour as well as the overall fraction of enrofloxacin metabolized to ciprofloxacin were calculated using the AUC (0-inf).

Statistical analyses were carried out when appropriate using unpaired *t*-tests included in Graphpad Prism Version 9 (San Diego, CA, USA).

2.6. Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) of Enrofloxacin

To find relevant and substantiated data on the MIC values of fluoroquinolones against bacteria significant in avian ophthalmology, a standardized literature search in PubMed covering the publication interval from January 2015 to September 2022 was performed using the keywords birds, enrofloxacin, MIC, eye, ophthalmology, and ophthalmological, as well as the name of the respective pathogen.

3. Results

3.1. Tolerability of Enrofloxacin

No adverse effects to enrofloxacin administered as a single intramuscular dose of 25 mg/kg BW were observed in the chickens. All birds showed normal behaviour, and feed and water intake after treatment. Potential side effects described in the literature, such as increased water intake and polyuria, apathy, reduced feed intake, vomiting, and diarrhoea, or central nervous disorders were not detected during the study.

3.2. Pharmacokinetics of Fluoroquinolones in Serum and Aqueous Humour

The time course of fluoroquinolone concentrations in serum and aqueous humour detected using the EIA is shown in Figure 1.

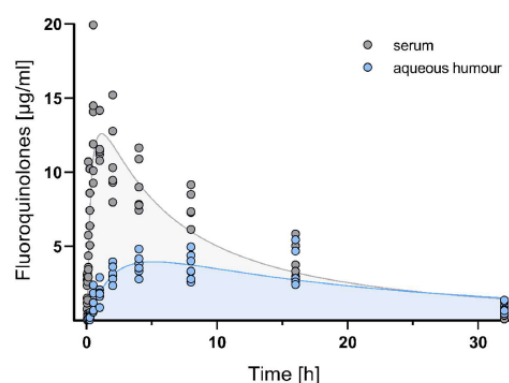


Figure 1. Time course of fluoroquinolone EIA reactivity in serum and aqueous humour after a single intramuscular injection of 25 mg/kg enrofloxacin in chickens. Each circle represents the measured serum concentration of an individual out of $n = 6$ animals per time-point.

After a single intramuscular dose of 25 mg/kg enrofloxacin, maximum serum concentrations were observed at the time point of 2.82 ± 0.1 h and amounted to 10.67 ± 0.5 µg/mL. Fluoroquinolones redistributed to a minor extent into the aqueous humour, reaching maximum concentrations of 4.52 ± 1.2 µg/mL after 7.54 ± 1.0 h of drug administration. This represents a fraction of 64.07% of fluoroquinolones penetrating from serum into the aqueous humour as calculated using $AUC_{0-\infty}$ values. The mean residence time (MRT), volume of distribution (V_d), and terminal half-life ($t_{1/2 \beta}$) were 1.68-, 2.84-, and 2.01-fold higher in aqueous humour than in serum, indicating that fluoroquinolones were trapped in aqueous humour. All pharmacokinetic parameters are summarized in Table 1.

Table 1. Pharmacokinetic parameters for fluoroquinolones in serum and aqueous humour after a single intramuscular application of 25 mg/kg body weight.

Parameter	Serum		Aqueous Humour	
	Mean \pm SD	Range	Mean \pm SD	Range
C_{max} (µg/mL)	10.67 ± 0.5	10.2–11.3	4.52 ± 1.2	3.2–6.6
t_{max} (h)	2.82 ± 0.1	2.7–2.9	7.54 ± 1.0	6.2–8.7
$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL)	155.40 ± 39.1	117.58–204.75	99.57 ± 26.8	71.88–137.83
MRT (h)	9.52 ± 1.2	8.18–11.28	16.03 ± 1.9 *	12.84–17.89
V_d (L/kg)	1.11 ± 0.2	0.88–1.46	3.16 ± 0.91 *	1.97–4.2
Cl (L/h/kg)	0.17 ± 0.04	0.18–0.21	0.27 ± 0.06 *	0.18–0.35
$t_{1/2 \beta}$ (h)	4.36 ± 0.38	4.07–5.06	8.79 ± 0.93 *	7.54–10.37

* Significantly different from serum at $p < 0.001$.

3.3. Metabolization of Enrofloxacin to Ciprofloxacin

The fluoroquinolone EIA is not specific to enrofloxacin but also detects other fluoroquinolones, including ciprofloxacin, the main metabolite of enrofloxacin. Therefore, to determine to which proportion enrofloxacin was metabolized to ciprofloxacin, additional LC-MS/MS analyses were performed for selected serum and aqueous humour samples.

Ciprofloxacin concentrations in serum were 0.17, 0.72, and 0.71 µg/mL at the time points of 1, 4, and 8 h. The corresponding enrofloxacin concentrations were 8.74, 6.53, and 4.93 µg/mL. This represents ciprofloxacin proportions of 1.9%, 9.9%, and 12.6% of the overall fluoroquinolone concentrations as found with the EIA.

Ciprofloxacin concentrations in aqueous humour were 0.02, 0.05, and 0.08 µg/mL at the time of points 1, 4, and 8 h. The corresponding enrofloxacin concentrations were 1.3, 1.46, and 1.48 µg/mL, indicating that ciprofloxacin penetrated into the aqueous humour to a smaller extent than enrofloxacin (1.4%, 3.3%, and 5.4% of total fluoroquinolone EIA reactivity).

The individual data are given in Table 2.

Table 2. Enrofloxacin (ENR) and ciprofloxacin (CPR) concentrations in serum and aqueous humour as measured using LC-MS/MS and the corresponding proportions of ciprofloxacin in the total amount of fluoroquinolones.

Time Point	Serum			Aqueous Humour		
	ENR (µg/mL)	CPR (µg/mL)	Proportion of CPR (%)	ENR (µg/mL)	CPR (µg/mL)	Proportion of CPR (%)
1 h	8.74	0.17	1.9	1.3	0.02	1.4
4 h	6.53	0.72	9.9	1.46	0.05	3.3
8 h	4.93	0.71	12.6	1.48	0.08	5.4

3.4. Fluoroquinolone Susceptibility to Relevant Bacteria

In order to evaluate the potential therapeutical applicability, the measured fluoroquinolone concentrations in aqueous humour (reaching a maximum of 4.52 µg/mL) were compared with the minimal inhibitory concentrations (MICs) of some relevant, enrofloxacin-sensitive bacteria. Table 3 shows a summary of pathogens, for which more recent data could be retrieved from PubMed. No literature related to both MIC values and avian ophthalmology was available. The evaluated data all refer to poultry.

Table 3. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of enrofloxacin-sensitive bacteria in birds. Data are based on papers found in PubMed using the keywords birds, enrofloxacin, MIC, eye, ophthalmology, and ophthalmological, and the name of the respective pathogen published between January 2015 and September 2022.

Bacteria	MIC	Avian Host	Geographic Area	References
<i>Salmonella enteritidis</i>	0.0625–1 µg/mL	Broiler	South Korea	[22]
<i>Salmonella typhimurium</i>	0.12–16 µg/mL	Chicken	China	[23]
<i>Mycoplasma</i> (<i>Mycoplasma</i>) <i>synoviae</i>	4–32 µg/mL	Chicken	China	[24]
	0.031–32 µg/mL	Poultry	Europe	[25]
	0.625–>10 µg/mL	Chicken	Asia	[26]
	1.0–>16 µg/mL	Poultry	Italy	[27]
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	0.031–16 µg/mL	Poultry	Europe	[25]
	≤0.039–5 µg/mL	Chicken	Asia	[26]
<i>Escherichia coli</i>	8–256 µg/mL	Chicken	Asia	[23]
	0.5 µg/mL	Chicken	Asia	[28]
	0.016–>16 µg/mL	Poultry	Germany	[29]

4. Discussion

The present study demonstrates that a single intramuscular injection of a therapeutical dose of enrofloxacin (25 mg/kg BW) generates sustained and high levels of enrofloxacin in aqueous humour. The concentrations detected were well above the MICs of clinically relevant bacteria causing eye infections. As shown by the LC-MS/MS results, enrofloxacin is only marginally metabolized into ciprofloxacin in chickens and thus represents the active compound in aqueous humour. Due to the long terminal half-life of enrofloxacin in aqueous humour of 8.79 h, a single daily dose of enrofloxacin is sufficient to produce sustained and therapeutically effective drug concentrations in the eye.

4.1. Study Design

The chicken eye represents a frequently used model system in ophthalmology [30]. Pharmacokinetic studies usually employ repeated sample collection at different time points after drug administration and analysis of individual time vs. concentration curves. Due to the minimum volume required for laboratory analyses, we decided to perform a randomized study using 6 individual animals out of a pool of 40. This allowed us to sample aqueous humour from intact eyes at each time point to exclude artifacts due to prior paracenteses. Because of animal welfare reasons, we decided to perform paracentesis using general anaesthesia despite the fact that this could affect the outcome of drug delivery. General anaesthesia generally causes a drop in heart rate and blood pressure. It could be thus deduced that drug concentrations might be reduced in serum and aqueous humour of anaesthetized compared with unanaesthetized birds. The results of our study might thus even underestimate the true efficacy of the drug.

4.2. Fluoroquinolone Analysis

A generic enzyme immunoassay (EIA) with a highly sensitive monoclonal antibody against fluoroquinolones was used to measure the fluoroquinolone concentrations in serum and aqueous humour samples. Compared with other standard methods, the EIA is a cheap, fast, and easy-to-learn analytical method. The assay system used in this study has

a detection limit of 0.17 ng/mL for enrofloxacin, as previously determined [21], and thus belongs to the most sensitive EIAs described so far for the detection of fluoroquinolones. In comparison, the limits of detection of enrofloxacin in milk with liquid chromatography and mass spectrometry (LC-MS/MS) range from 0.25 to 1.5 ng/mL [31,32]. The used EIA does not distinguish among different fluoroquinolones, such as enrofloxacin and its main metabolite, ciprofloxacin. The results, therefore, reflect the total amount of fluoroquinolones contained in each sample. Some subsamples of aqueous humour and serum were, therefore, additionally investigated using LC-MS/MS, confirming that enrofloxacin is only marginally metabolized into ciprofloxacin in chickens [33] and represents the main active compound in serum as well as in aqueous humour.

4.3. Pharmacokinetics

To be effective against clinically relevant intraocular bacterial infections, enrofloxacin must achieve concentrations above the MICs for the time required by the individual pharmacodynamic properties of the causative bacteria [34].

Superficial eye infections can be effectively treated with topical antibiotics. The locally effective concentration of the antibiotic can be easily maintained with frequent applications, and prior determination of the causative germs enables the targeted selection of a suitable preparation. However, the topical application of ciprofloxacin and newer fluoroquinolones failed to produce clinically relevant concentrations in the aqueous humour of humans [35] and horses [36,37]. Thus, the antimicrobial treatment of bacterial infections of the interior eye requires systemic treatment either alone or in combination with topical preparations. Due to the selectivity of the blood–aqueous barrier, which represents a special protective function in the eye, there are only a few antimicrobials that are suitable for this purpose [38]. Low-fat-soluble antibiotics such as penicillins, cephalosporins, and aminoglycosides are hardly able to pass the intact barrier and reach only marginal concentrations in the posterior eye region [39].

Fluoroquinolones are drugs of choice in the systemic treatment of intraocular infections in humans. Especially ciprofloxacin and its more lipophilic derivatives, ofloxacin, moxifloxacin, and others, have been evaluated in humans [7,40]. Because these are not available for veterinary medicine, the present study evaluated the ability of enrofloxacin to fulfil the requirements for the treatment of intraocular infections. For this, the pharmacokinetics of a single intramuscular injection of 25 mg/kg enrofloxacin were determined simultaneously in serum and aqueous humour over time. The study extends our knowledge on the pharmacokinetic parameters of enrofloxacin after intramuscular administration and shows that an increase in dose from 5 to 25 mg/kg results in an equivalent increase in maximal serum concentrations (2.1 vs. 10.67 µg/mL [41]). Dose- and route-of-application-independent parameters such as terminal half-life, MRT, Vd, and Cl were in the range of published data, demonstrating the suitability of the EIA for the reliable and sensitive measurement of fluoroquinolones in serum.

In Germany, enrofloxacin is currently approved for the treatment of digestive and respiratory diseases in companion birds and poultry caused by a variety of bacterial species, with a dosage of 10 mg/kg body weight for poultry and a dosage of 20 mg/kg body weight for ornamental birds. The approval further refers to the possible need to increase the dose in case of complicated infections. In addition, dosing regimens for a variety of indications, ranging from 5 mg/kg BW to 30 mg/kg BW once or twice daily, can be found in the literature [42–44]. Due to the lower enrofloxacin levels in aqueous humour compared with serum, off-label use at a concentration of 25 mg/kg BW appears suitable for the treatment of ophthalmic infections in birds, an off-label indication in Germany.

Our data also verify that enrofloxacin is only marginally metabolized into ciprofloxacin in chickens. At the time point of 8 h after treatment, only 12.6% of the original enrofloxacin dose had been converted into ciprofloxacin. This value is somewhat lower than the 26% metabolization rate reported for 9 d old broiler chickens orally treated for 5 days at a dose of 15.5 mg/kg/d [33]. Because the proportion of ciprofloxacin was smaller in aqueous

humour than in serum (5.4 vs. 12.6%), our results indicate that enrofloxacin represents the main pharmacologically effective substance in the eye after parenteral application in chickens.

The enrofloxacin levels in aqueous humour amounted to about 64% of serum concentrations and reached a peak of $4.52 \pm 1.2 \mu\text{g/mL}$ after 7.54 h of treatment. Enrofloxacin levels remained high, reaching $3.47 \pm 1.26 \mu\text{g/mL}$ after 16 h. Together with the calculated terminal half-life of $8.79 \pm 0.93 \text{ h}$ and the mean residence time of $16.03 \pm 1.09 \text{ h}$, these results demonstrate that a single dose of enrofloxacin is sufficient to establish continuously high drug levels in the aqueous eye compartment.

The drug concentrations in aqueous humour observed in chickens were dramatically higher than those determined for enrofloxacin in horses [45]. In that study, horses were given enrofloxacin at a dose of 7.5 mg/kg body weight once daily intravenously for 4 consecutive days. Enrofloxacin concentrations were determined in aqueous humour 1 h after the last injection. The results showed that only a fraction of 12.1% of enrofloxacin was transferred into the eye, reaching a mean concentration of $0.54 \mu\text{g/mL}$ in aqueous humour. This is about 16-fold lower than that observed in the present study. The concentrations of enrofloxacin observed in chickens are also a magnitude higher than those determined for ciprofloxacin after oral administration in humans [46]. These data suggest that enrofloxacin penetrates to a higher extent into the aqueous humour of chickens than in mammals due to anatomical and functional differences in the blood–retinal barrier. However, to confirm this assumption, corresponding dosages have to be tested in mammals in future investigations.

Inflammatory changes in the ocular structures caused by infection might change drug penetration into the eye. Especially, diseases of the uvea have been described to cause a breakdown of the blood–ocular barrier system, which could further facilitate drug entry [47]. Consequently, intraocular infections might even increase enrofloxacin penetration in aqueous humour. However, this hypothesis needs to be confirmed with further experiments, as our study included exclusively healthy chickens in order to first obtain information about the usability of enrofloxacin in the treatment of intraocular bacterial infections.

5. Conclusions

The results of the present study demonstrate that enrofloxacin readily penetrates into the aqueous humour of the eye after systemic administration of a single enrofloxacin dose. Based on pharmacokinetic/pharmacodynamic considerations, enrofloxacin appears to be suitable for the treatment of intraocular infections in chickens with strains of Gram-negative bacteria having MIC values of ≤ 1 .

Author Contributions: Conceptualization, K.F., M.R. and R.K.; methodology, K.F. and H.A.; investigation, K.F., R.D. and L.B.; data curation, K.F., H.A., R.D. and L.B.; writing—original draft preparation, K.F., H.A. and R.K.; writing—review and editing, K.F., M.R., R.D., L.B., H.A. and R.K.; supervision, R.K.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The experiments were conducted in accordance with German animal welfare regulations and with permission from the German authorities (reference number ROB 55.2-2532.Vet_02-19-165).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: We would like to thank the laboratory staff of Chair for Hygiene and Technology of Milk of Veterinary Faculty of Munich, especially Brunhilde Minich, for the excellent technical support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Korbel, R. Ocular manifestations of systemic diseases in birds. Part 2. *Tierärztl. Prax.* **1992**, *20*, 483–491. [\[PubMed\]](#)
- Bayón, A.; Almela, R.; Talavera, J. Avian ophthalmology. *Eur. J. Companion. Anim. Pract.* **2007**, *17*, 253–266.
- Willis, A.M.; Wilkie, D.A. Avian ophthalmology, part 2: Review of ophthalmic diseases. *J. Avian Med. Surg.* **1999**, *13*, 245–251.
- Nakamura, K.; Abe, F. Ocular lesions in chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Can. J. Vet. Res.* **1987**, *51*, 528–530.
- Korbel, R. Ocular manifestations of systemic diseases in birds. Part 1. *Tierärztl. Prax.* **1992**, *20*, 385–394. [\[PubMed\]](#)
- Cunha-Vaz, J.G.; Shakib, M.; Ashton, N. Studies on the permeability of the blood-retinal barrier. I. On the existence, development, and site of a blood-retinal barrier. *Br. J. Ophthalmol.* **1966**, *50*, 441–453. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Smith, A.; Pennefather, P.M.; Kaye, S.B.; Hart, C.A. Fluoroquinolones. *Drugs* **2001**, *61*, 747–761. [\[CrossRef\]](#)
- Scope, A. Spezielle Antibiose. In *Kompendium der Ziervogelkrankheiten—Papageien, Tauben, Sperlingsvögel*; Kaleta, E.F., Krautwald-Junghanns, M.E., Eds.; Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG: Hannover, Germany, 2011; pp. 219–223.
- Flammer, K.; Aucoin, D.P.; Whitt, D.A. Intramuscular and oral disposition of enrofloxacin in African grey parrots following single and multiple doses. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **1991**, *14*, 359–366.
- Abd el-Aziz, M.I.; Aziz, M.A.; Soliman, F.A.; Afify, N.A. Pharmacokinetic evaluation of enrofloxacin in chickens. *Br. Poult. Sci.* **1997**, *38*, 164–168.
- Bailey, T.A.; Sheen, R.S.; Silvanose, C.; Samour, J.H.; Garner, A.; Harron, D.W.G. Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous, intramuscular and oral administration in houbara bustard (*Chlamydotis undulata macquensis*). *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **1998**, *21*, 288–297. [\[CrossRef\]](#)
- Harrenstien, L.A.; Tell, L.A.; Vulliet, R.; Needham, M.; Brandt, C.M.; Brondos, A.; Stedman, B.; Kass, P.H. Disposition of Enrofloxacin in Red-tailed Hawks (*Buteo jamaicensis*) and Great Horned Owls (*Bubo virginianus*) after a Single Oral, Intramuscular, or Intravenous Dose. *J. Avian Med. Surg.* **2000**, *14*, 228–236. [\[CrossRef\]](#)
- Kaspar, H.; Steinacker, U.; Römer, A.; Karaalp, A.; Ballhausen, B.; Kluge, M.; Gowik, P. Bericht zur Resistenzmonitoringstudie 2018—Resistenzsituation bei Klinisch Wichtigen Tierpathogenen Bakterien; Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit: Berlin, Germany, 2020; p. 98.
- Popp, M.; Gerhards, H.; Wollanke, B. Enrofloxacin-konzentrationen im Glaskörper und im Serum an equiner rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankter Pferde nach wiederholter intravenöser Verabreichung. *Pferdeheilkunde* **2013**, *29*, 574–580. [\[CrossRef\]](#)
- Krastev, Z.; Haritova, A.; Lashev, L.; Hubenov, H. Enrofloxacin disposition in aqueous humour after subcutaneous administration in dogs. *Bulg. J. Vet. Med.* **2011**, *14*, 221–230.
- Cunha-Vaz, J.; Bernardes, R.; Lobo, C. Blood-retinal barrier. *Eur. J. Ophthalmol.* **2011**, *21* (Suppl. S6), 3–9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Reese, S.; Hegner, K.; Korbel, R. Zur Anatomie des Ziliarkörpers und der Kammerwinkelregion von Greifvogelgelen als Grundlage für die Gonioskopie. In Proceedings of the XI. Tagung der DVG-Fachgruppe “Geflügelkrankheiten”, München, Germany, 5–6 March 1998; pp. 231–238.
- Reese, S.; Korbel, R.; Liebich, H.G. The eye (organum visus). In *Avian Anatomy—Textbook and Colour Atlas*; König, H.E., Korbel, R., Liebich, H.G., Eds.; 5m Publishing: Sheffield, UK, 2016; pp. 224–231.
- Salomon, F.V.; Krautwald-Junghanns, M.E. Anatomie der Vögel. In *Anatomie für Die Tiermedizin*, 2nd ed.; Salomon, F.V., Geyer, H., Gille, U., Verlag, E., Eds.; Enke Verlag: Stuttgart, Germany, 2008; pp. 754–814.
- Greenacre, C.B.; Luna, L.G.; Morishita, T.Y. Backyard Poultry and Waterfowl. In *Exotic Animal Formulary*, 5th ed.; Carpenter, J.W., Marion, C.J., Eds.; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2018; p. 411.
- Acaroz, U.; Dietrich, R.; Knauer, M.; Märtlbauer, E. Development of a generic enzyme-immunoassay for the detection of fluoro (quinolone)-residues in foodstuffs based on a highly sensitive monoclonal antibody. *Food Anal. Methods* **2020**, *13*, 780–792. [\[CrossRef\]](#)
- Kang, J.; Hossain, M.A.; Park, H.-c.; Kim, Y.; Lee, K.-j.; Park, S.-W. Pharmacokinetic and pharmacodynamic integration of enrofloxacin against *Salmonella* Enteritidis after administering to broiler chicken by per-oral and intravenous routes. *J. Vet. Sci.* **2019**, *20*, e15. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Li, J.; Hao, H.; Cheng, G.; Wang, X.; Ahmed, S.; Shabbir, M.A.B.; Liu, Z.; Dai, M.; Yuan, Z. The effects of different enrofloxacin dosages on clinical efficacy and resistance development in chickens experimentally infected with *Salmonella* Typhimurium. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 11676. [\[CrossRef\]](#)
- Zhang, X.; Guo, M.; Xie, D.; Chen, Y.; Zhang, C.; Cao, Y.; Wu, Y. Antibiotic resistance of *Mycoplasma synoviae* strains isolated in China from 2016 to 2019. *BMC Vet. Res.* **2022**, *18*, 8. [\[CrossRef\]](#)
- de Jong, A.; Youala, M.; Klein, U.; El Garch, F.; Simjee, S.; Moyaert, H.; Rose, M.; Gautier-Bouchardon, A.V.; Catania, S.; Ganapathy, K.; et al. Minimal inhibitory concentration of seven antimicrobials to *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* isolates from six European countries. *Avian Pathol.* **2021**, *50*, 161–173. [\[CrossRef\]](#)
- Morrow, C.J.; Kreizinger, Z.; Achari, R.R.; Bekö, K.; Yvon, C.; Gyuranecz, M. Antimicrobial susceptibility of pathogenic mycoplasmas in chickens in Asia. *Vet. Microbiol.* **2020**, *250*, 108840. [\[CrossRef\]](#)
- Catania, S.; Bottinelli, M.; Fincato, A.; Gastaldelli, M.; Barberio, A.; Gobbo, F.; Vicenzoni, G. Evaluation of Minimum Inhibitory Concentrations for 154 *Mycoplasma synoviae* isolates from Italy collected during 2012–2017. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0224903. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
- Xiao, X.; Jiang, L.; Lan, W.; Jiang, Y.; Wang, Z. In vivo pharmacokinetic/Pharmacodynamic modeling of Enrofloxacin against *Escherichia coli* in broiler chickens. *BMC Vet. Res.* **2018**, *14*, 9. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

29. Chuppava, B.; Keller, B.; El-Wahab, A.A.; Meißner, J.; Kietzmann, M.; Visscher, C. Resistance of *Escherichia coli* in turkeys after therapeutic or environmental exposition with enrofloxacin depending on flooring. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2018**, *15*, 1993. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
30. Wisely, C.E.; Sayed, J.A.; Tamez, H.; Zelinka, C.; Abdel-Rahman, M.H.; Fischer, A.J.; Cebulla, C.M. The chick eye in vision research: An excellent model for the study of ocular disease. *Prog. Retin. Eye Res.* **2017**, *61*, 72–97. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
31. Holtzapfle, C.K.; Buckley, S.A.; Stanker, L.H. Determination of fluoroquinolones in serum using an on-line clean-up column coupled to high-performance immunoaffinity-reversed-phase liquid chromatography. *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. Appl.* **2001**, *754*, 1–9. [\[CrossRef\]](#)
32. Suhren, G.; Hammer, P.; Heesch, W. Detection of residues of quinolones in milk. In Proceedings of the Euroresidue III: Conference on Residues of Veterinary Drugs in Food, RIVM, Bilthoven, The Netherlands, 6–8 May 1996; pp. 917–921.
33. Slana, M.; Pahor, V.; Cvitkovic Maricic, L.; Sollner-Dolenc, M. Excretion pattern of enrofloxacin after oral treatment of chicken broilers. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* **2014**, *37*, 611–614. [\[CrossRef\]](#)
34. Richter, A.; Scherkl, R. Allgemeine Charakteristika von Antibiotika und Begriffsbestimmungen. In *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin*, 4th ed.; Löscher, W., Richter, A., Eds.; Enke Verlag Stuttgart: Stuttgart, Germany, 2016; pp. 404–409.
35. Donnenfeld, E.D.; Comstock, T.L.; Proksch, J.W. Human aqueous humor concentrations of besifloxacin, moxifloxacin, and gatifloxacin after topical ocular application. *J. Cataract Refract. Surg.* **2011**, *37*, 1082–1089. [\[CrossRef\]](#)
36. Westermeyer, H.D.; Hendrix, D.V.; Ward, D.A.; Cox, S.K. Tear, cornea, and aqueous humor concentrations of ciprofloxacin and moxifloxacin after topical ocular application in ophthalmologically normal horses. *Am. J. Vet. Res.* **2011**, *72*, 398–403. [\[CrossRef\]](#)
37. Popp, M.K. Enrofloxacin im Glaskörper an Equiner Rezidivierender Uveitis Erkrankter Pferde. Ph.D. Thesis, Ludwig-Maximilians-University, Munich, Germany, 2011.
38. Bleeker, G.; Maas, E. Penetration of penethamate, a penicillin ester, into the tissues of the eye. *AMA Arch. Ophthalmol.* **1958**, *60*, 1013–1020. [\[CrossRef\]](#)
39. Barza, M. Factors affecting the intraocular penetration of antibiotics. The influence of route, inflammation, animal species and tissue pigmentation. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* **1978**, *14*, 151–159.
40. McCulley, J.P.; Caudle, D.; Aronowicz, J.; Shine, W. Fourth-generation fluoroquinolone penetration into the aqueous humor in humans. *Ophthalmology* **2006**, *113*, 955–959. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
41. Bugyei, K.; Black, W.D.; McEwen, S. Pharmacokinetics of enrofloxacin given by the oral, intravenous and intramuscular routes in broiler chickens. *Can. J. Vet. Res.* **1999**, *63*, 193–200. [\[PubMed\]](#)
42. Hawkins, M.G.; Sanchez-Migallon Guzman, D.; Beaufrère, H.; Lennox, A.M.; Carpenter, J.W. Birds. In *Exotic Animal Formulary*, 5th ed.; Carpenter, J.W., Marion, C.J., Eds.; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2018; pp. 178–179.
43. Pees, M. Medikamentenverzeichnis. In *Leitsymptome bei Papageien und Sittichen*; Pees, M., Ed.; Enke Verlag: Stuttgart, Germany, 2011; p. 323.
44. Doneley, B. Formulary. In *Avian Medicine and Surgery in Practice: Companion and Aviary Birds*, 2nd ed.; Doneley, B., Ed.; CRC Press, Taylor and Francis Group: New York, NY, USA, 2016; pp. 425–454.
45. Divers, T.; Irby, N.; Mohammed, H.; Schwark, W. Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Vet. J.* **2008**, *40*, 167–170. [\[CrossRef\]](#)
46. Çelebi, S.; Ay, S.; Aykan, U.; Bulut, V.; Alagöz, G.; Celiker, U. Penetration of oral and topical ciprofloxacin into human aqueous humor. *Acta Ophthalmol. Scand.* **1998**, *76*, 683–685. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Maggs, D.J. Chapter 3: Ocular Pharmacology and Therapeutics. In *Slatters Fundamentals of Veterinary Ophthalmology*, 5th ed.; Maggs, D.J., Miller, P.E., Ofri, R., Eds.; Elsevier Saunders: St. Louis, MO, USA, 2013; pp. 27–59.

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

IV. Diskussion

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass eine einmalige intramuskuläre Injektion einer therapeutischen Dosis von 25mg/kg KGW Enrofloxacin anhaltende und antimikrobiell wirksame Enrofloxacin-Spiegel im Kammerwasser des Huhnes erzeugt, die über der MHK für Augeninfektionen klinisch relevanter Bakterien liegen. Enrofloxacin wurde in dieser Studie beim Huhn nur geringfügig zu Ciprofloxacin metabolisiert und stellte die aktive Verbindung im Kammerwasser dar. Aufgrund der langen terminalen Halbwertszeit von 8,79 Stunden im Kammerwasser ist abzuleiten, dass eine Einzeldosis Enrofloxacin ausreicht, um anhaltend therapeutisch wirksame Wirkstoffspiegel im Auge zu erzeugen (FUCHS et al., 2022).

1. Studienaufbau

Das Hühnerauge ist ein häufig verwendetes Versuchsmodell in der Ophthalmologie (SHIVAPRASAD, 1999; WISELY et al., 2017). Das im Vergleich zu anderen Vogelarten relativ große Auge des Haushuhns macht Augenuntersuchungen sowie Probenentnahmen verhältnismäßig einfach und effektiv. Außerdem sind Haushühner in großer Zahl schnell nachzüchtbar, damit also leicht verfügbar, und in Haltung und Unterbringung nicht außergewöhnlich anspruchsvoll (WISELY et al., 2017). Das Huhn ist in dieser Studie zum einen pharmakokinetisches Modell für andere Vogelarten. Zum anderen kommen die Ergebnisse der Studie auch direkt der Zieltierart Huhn zugute. So kommen sowohl bei Intensivhaltungen als auch bei extensiv gehaltenen Hobby- und Rassehühnerbeständen häufig Infektionen mit Mykoplasmen, Salmonellen, *E. coli* und anderen Bakterien vor, welche u. a. auch mit Augenveränderungen in Verbindung zu bringen sind (EVANS et al., 1955; GROSS, 1957; SILVA et al., 1980; NAKAMURA und ABE, 1987; NAKAMURA et al., 1997; SHIVAPRASAD, 1999; BRADBURY, 2005).

Für die Behandlung von bakteriellen Augeninfektionen bei Hühnern, aber auch bei anderen Vogelarten gibt es bislang keine zugelassenen Antibiotika. Die gängige Literatur empfiehlt zwar auch bei diesen Tierarten die Verwendung von Fluorchinolonen zur Behandlung bakterieller intraokulärer Augeninfektionen (KALETA und NEUMANN, 2011; HOLMBERG, 2013), da es bisher aber keine Studien zu dem Thema gibt, ist die Anwendung hier höchstens aposteriorisch, jedoch ohne wissenschaftliche Grundlage. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie liefern den Grundstock zu einem gerechtfertigten, gezielten Einsatz von Enrofloxacin in diesem Anwendungsgebiet und leisten damit auch einen Beitrag zur Vermeidung weiterer Resistenzentwicklungen gegen diese wichtige Antibiotikaklasse.

Für die Durchführung pharmakokinetischer Studien haben sich einige Standards etabliert. So sind nach den Vorgaben des Committee for Veterinary Medicinal Products (CVMP) zur Durchführung pharmakokinetischer Studien nach den Richtlinien Guter Laborpraxis für jeden Messzeitpunkt 6 Tiere zu verwenden (CVMP, 2000). Von jedem Versuchstier werden in der Regel zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Verabreichung des Arzneimittels wiederholte Proben entnommen und individuelle Zeit-Konzentrations-Kurven erzeugt, die hinsichtlich der Wirkstoffkonzentration analysiert werden. In der vorliegenden Studie wurde von diesem Vorgehen etwas abgewichen. So wurden zwar für jeden Messzeitpunkt Proben von insgesamt 6 Tieren hinsichtlich der Fluorchinolon-Konzentrationen untersucht, aufgrund des Mindestvolumens an Material, in diesem Fall Serum und Augen-Kammerwasser, das für Laboranalysen erforderlich ist, wurde allerdings die Probennahme in Form einer randomisierten Studie mit Beprobung von 6 einzelnen Tieren aus einem Pool von 40 Tieren durchgeführt. Das bedeutet, dass dasselbe Huhn nicht an jedem Messzeitpunkt beprobt wurde, sondern nur zweimal, und, was besonders wichtig war, es musste pro Auge nur einmal die invasive Technik der Parazentese mit Entnahme einer relativ großen Menge an Kammerwasser durchgeführt werden. Dieses Studiendesign ermöglichte also die Entnahme von Kammerwasserproben aus intakten Augen für jeden Zeitpunkt. Auf diese Weise konnten Artefakte aufgrund vorheriger Parazentesen ausgeschlossen werden.

Um Schmerzen und Leiden für die Versuchstiere während der Parazentese möglichst gering zu halten, wurde diese Maßnahme unter Isofluran-Inhalationsnarkose in Kombination mit einer lokalen Anästhesie durchgeführt. Die Parazentese birgt ein erhebliches Risiko für Verletzungen der intraokularen Strukturen (KORBEL, 2011). Aufgrund der relativ kleinen Bulbusgröße, der nicht unerheblichen Stressbelastung für die Versuchstiere und aus reflexgesteuertem Abwehrverhalten möglicherweise resultierenden Verletzungen ist bei Vögeln, im Gegensatz zu Menschen oder Säugetieren, für die Parazentese eine lokale Anästhesie der Hornhaut nicht ausreichend. Es ist nicht auszuschließen, dass die im Zuge der Probenentnahmen durchgeführte Vollnarkose die Pharmakokinetik von Enrofloxacin beeinflusst hat. Eine Vollnarkose führt im Allgemeinen zu einem Abfall der Herzfrequenz und des Blutdrucks, was zu einer geringeren und langsameren Wirkstoffverteilung aus der Injektionsstelle und dem Muskel in das Blut führen kann (ERHARDT und BAUMGARTNER, 2012). Daraus könnte man schließen, dass bei nicht narkotisierten Hühnern die maximalen Wirkstoffkonzentrationen in Serum und Kammerwasser höher sind und in der vorliegenden Studie durch Anwendung einer Allgemeinanästhesie sogar unterschätzt wurden. Allerdings dauerte die Narkose lediglich sehr kurz. Die Tiere wurden in der Regel erst unmittelbar vor der Blutentnahme und der Entnahme des Kammerwassers für etwa 5 Minuten betäubt. Nur zu den Untersuchungszeitpunkten 2 und 4 Minuten erfolgte aus technischen Gründen die

Verabreichung des Medikaments während der Narkose. Eine Narkose war aus Gründen des Tierschutzes notwendig.

Die Hühner in diesem Versuch dienten als pharmakokinetisches Modell für andere Vogelarten. Die Versuche wurden in Übereinstimmung mit den deutschen Tierschutzbestimmungen und mit Genehmigung der zuständigen Behörde, der Regierung von Oberbayern, durchgeführt (Aktenzeichen ROB 55.2-2532.Vet_02-19-165). Daher war die Studie nicht an gesetzliche Vorgaben einer Zulassung des Arzneimittels für eine festgelegte Verwendung gebunden.

2. Fluorchinolon-Analytik

Zur Messung der Fluorchinolon-Konzentrationen in Serum- und Kammerwasserproben wurde ein generischer Enzymimmunoassay (EIA) mit einem hochempfindlichen monoklonalen Antikörper gegen Fluorchinolone (ACAROZ et al., 2020) eingesetzt. Im Vergleich zu anderen standardmäßig verwendeten Messmethoden wie der Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) ist der ELISA eine kostengünstige, schnelle und leicht zu erlernende Analysemethode. Der hier verwendete Assay wies eine Nachweisgrenze von 0,17 ng/ml für Enrofloxacin in Milch auf (ACAROZ et al., 2020), was gut mit den mit anderen Enzymimmunoassay-Methoden erzielten Nachweisgrenzen von 0,1-1,56 ng/ml vergleichbar ist (SUHREN et al., 1996; HOLTZAPPLE et al., 2001). Für den Nachweis von Enrofloxacin in Milch werden für die standardmäßig verwendete Flüssigchromatographie-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) beispielweise Nachweisgrenzen von 0,25-1,5 ng/ml angegeben (SUHREN et al., 1996; HOLTZAPPLE et al., 2001). Die Nachweisgrenzen des hier verwendeten generischen ELISA für Fluorchinolone in Serum oder wässriger Flüssigkeit sind allerdings bisher nicht bekannt. Des Weiteren ermöglicht der EIA die Messung von biologischen Proben ohne vorherige Extraktion. Dies ist insbesondere dann von Vorteil, wenn, wie in der vorliegenden Studie, kleine Probenmengen gemessen werden müssen. So standen in der vorliegenden Studie maximal 0,05 ml Kammerwasser pro Hühnerauge zur Verfügung (FUCHS et al., 2022).

Eine Eigenheit des verwendeten Tests mit Verwendung des generischen Antikörpers ist, dass keine Unterscheidung zwischen verschiedenen Fluorchinolonen, wie Enrofloxacin und seinem Hauptmetaboliten Ciprofloxacin möglich war. Demzufolge spiegeln die Ergebnisse die Gesamtmenge der in jeder Probe enthaltenen Fluorchinolone wider. Um Informationen darüber zu erhalten, in welchem Umfang und wie schnell die Metabolisierung von Enrofloxacin zu Ciprofloxacin beim Huhn in dieser Studie erfolgte, wurde eine zusätzliche Methode, die LC-MS/MS eingesetzt. Für diese Untersuchungstechnik ist ein relativ großes Probenvolumen erforderlich. Zunächst wurde eine Probenbearbeitung in Form einer Aufreinigung für das Kammerwasser mittels Immunaффinitätschromatographie durchgeführt. Wie bereits erwähnt,

standen nur maximal 0,05 ml, meist weniger, an Kammerwasser pro Hühnerauge zur Verfügung. Aus diesem Grund analysierten wir nur eine begrenzte Anzahl von Proben ausgewählter Zeitpunkte (1, 4, 8 h) mittels LC-MS/MS, um die Enrofloxacin- und Ciprofloxacinkonzentrationen und damit den Anteil des zu Ciprofloxacin verstoffwechselten Enrofloxacins zu ermitteln.

3. Auswahl des Antibiotikums

Oberflächliche Augeninfektionen können durch topische Antibiotika wirksam behandelt werden. Eine vorherige bakteriologische Untersuchung mit Bestimmung der verursachenden Keime einschließlich Resistenztestung ermöglicht die gezielte Auswahl eines geeigneten Präparats. Die lokal auf der Oberfläche erforderliche wirksame Konzentration des Antibiotikums kann durch häufige Anwendungen leicht aufrechterhalten werden. Auf die Kornea und die Konjunktiven aufgebrachte Antibiotika werden jedoch in der Regel nicht in ausreichender Menge resorbiert. Bei der topischen Anwendung von Ciprofloxacin und neueren Fluorchinolonen konnten bei Mensch (DONNENFELD et al., 2011) und Pferd (WESTERMEYER et al., 2011) keine klinisch relevanten Konzentrationen im Kammerwasser erreicht werden. Daher erfordert die antimikrobielle Behandlung von bakteriellen Infektionen des inneren Auges eine systemische Behandlung, entweder allein oder in Kombination mit topischen Präparaten. Aufgrund der Selektivität der Blut-Augen-Schranke, die im Auge eine besondere Schutzfunktion darstellt, gibt es nur wenige antimikrobielle Wirkstoffe, die für diesen Zweck geeignet sind (BLEEKER und MAAS, 1958).

Die intraokulare Penetration von systemisch verabreichten Arzneimitteln hängt von der Durchlässigkeit der Blut-Augen-Schranken und den chemischen Eigenschaften des Arzneimittels, wie der Lipophilie oder der molekularen Größe ab (BARZA, 1978; MAGGS, 2008). Gering fettlösliche Antibiotika wie Penicilline, Cephalosporine und Aminoglykoside sind kaum in der Lage, die intakte Schranke zu passieren und erreichen nur geringe Konzentrationen in der vorderen Augenkammer und dem hinteren Augenbereich, also Glaskörper, Netzhaut und Choroidea (MCCULLEY et al., 2006).

Von Chloramphenicol und den Fluorchinolonen ist allerdings bekannt, dass sie die Blut-Augen-Schranke überwinden können und daher für die Behandlung von intraokulären Infektionen geeignet sind. In älteren Literaturangaben finden sich Empfehlungen zur Verwendung von Chloramphenicol bei Augenerkrankungen (z. B. Endophthalmitis, (LEOPOLD, 1951). Es ist bekannt, dass Chloramphenicol in der Lage ist, die Blut-Augen-Schranke zu durchbrechen und hohe Wirkstoffkonzentrationen im Augeninneren zu erreichen (CAGINI et al., 2013). Das Medikament weist beim Vogelpatienten jedoch eine extrem ungünstige, je nach Spezies stark variierende Pharmakokinetik auf (CLARK et al., 1982). So besitzt Chloramphenicol beim

Wellensittich eine Plasmahalbwertszeit von ca. 2 Stunden (ITOH und OKADA, 1993), bei der Taube sind es nur ca. 26 Minuten (CLARK et al., 1982). Zusätzlich werden selbst im Zusammenhang mit einer topischen Anwendung von Chloramphenicol am Auge z.T. schwerwiegende toxische Nebenwirkungen, wie zum Beispiel eine aplastische Anämie, beschrieben (FRAUNFELDER et al., 1982; BRODSKY et al., 1989; YUNIS, 1989). Diese scheinen beim Vogel zwar weniger stark ausgeprägt zu sein als beim Säuger und erst bei sehr hohen Dosierungen aufzutreten (DORRESTEIN et al., 1984), doch birgt die Anwendung von Chloramphenicol zum einen eine gewisse Gefahr für den Behandelnden und die Umwelt, da 5-10% des Medikamentes als aktiver Wirkstoff über Harn und Kot wieder ausgeschieden werden. Zum anderen schließt die gesundheitliche Gefährdung des Menschen durch Rückstände in Geweben eine Verwendung bei lebensmittelliefernden Tieren aus. Aus den oben genannten Gründen ist die Verwendung von Chloramphenicol als obsolet zu betrachten.

Daher sind Fluorchinolone bei der systemischen Behandlung von intraokularen Infektionen beim Menschen die Medikamente der Wahl. Insbesondere Ciprofloxacin und lipophile Derivate wie Ofloxacin oder Moxifloxacin wurden am Menschen untersucht (ROBERTSON et al., 2005; CHAN et al., 2006; MCCULLEY et al., 2006). Da diese der Humanmedizin vorbehalten bleiben sollten und daher in der Veterinärmedizin nicht verfügbar sind, wurde in der vorliegenden Studie untersucht, ob Enrofloxacin, als ausschließlich der tierärztlichen Anwendung vorbehaltenes und zur Anwendung an Vogelpatienten zugelassenes Antibiotikum, bei diesen Spezies die Anforderungen für die Behandlung von intraokularen Infektionen erfüllt.

Das antibiotische Wirkungsspektrum von Enrofloxacin deckt die meisten Bakterien ab, die in der Vogelmedizin bei Augeninfektionen eine Rolle spielen (*E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pasteurella multocida*, *Haemophilus paragallinarum*, *Micrococcus* spp., *Bordetella avium*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Moraxella* spp., *Proteus* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Nocardia* spp., *Listeria monocytogenes*). In Deutschland ist Enrofloxacin derzeit für lebensmittellieferndes Geflügel in einer oralen Dosis von 10 mg/kg KGW zur Behandlung von Infektionen mit *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, *Avibacterium paragallinarum* und *Pasteurella multocida* zugelassen (VETIDATA, 2023). Für das Handelspräparat Baytril® - das Original - 25mg/ml Injektionslösung (Elanco Tiergesundheit, Monheim) besteht eine Zulassung zur Behandlung von Infektionen des Magen-Darm-Trakts und der Atemwege bei Ziervögeln mit einer Dosierungsempfehlung von 20 mg/kg Körpergewicht intramuskulär einmal täglich, wobei darauf verwiesen wird, dass bei komplizierten Infektionen möglicherweise höhere Dosierungen notwendig sind.

Für den Versuch wurde das Enrofloxacin-Präparat Baytril® - Das Original - 50 mg/ml Injektionslösung (Elanco Tiergesundheit, Monheim), also ein injizierbares Präparat verwendet, das für lebensmittelliefernde Tiere, aber nicht für Vögel, zugelassen ist. Dieses Präparat wurde

ausgewählt, weil es im Vergleich zu dem in Deutschland für Ziervögel zur Injektion zugelassenen Präparat (Baytril® - Das Original - 25 mg/ml Injektionslösung, Elanco Tiergesundheit, Monheim) eine höhere Wirkstoffkonzentration besitzt. In Deutschland gibt es zurzeit kein Enrofloxacin-Produkt mit einer Zulassung sowohl für Heimvögel als auch für der Lebensmittelgewinnung dienendes Geflügel (Hühner und Puten). Für lebensmittellieferndes Geflügel sind ausschließlich Präparate verfügbar, die zur oralen Verabreichung zugelassen sind (VETIDATA, 2023). Das in dieser Studie verwendete Produkt mit der hohen Wirkstoffkonzentration von 50 mg/ml erschien als besonders geeignet und wurde gewählt, um das Injektionsvolumen und damit das Risiko einer großflächigen Muskelschädigung der Tiere infolge der Applikation gering zu halten.

Für das Auge von Säugetieren ist bekannt, dass mit den verschiedenen Bestandteilen der Blut-Augen-Schranke (Blut-Kammerwasser-Schranke und Blut-Retina-Schranke) Schutzmechanismen ausgebildet sind, die nicht nur eine Barriere für das Eindringen von Krankheitserregern, sondern auch von Antibiotika darstellen. Da also zu erwarten war, dass die Antibiotikakonzentrationen, die im Auge und im Kammerwasser erreicht werden, niedriger als im Blut sind, wurde in der vorliegenden Studie eine im Vergleich zur Empfehlung von 20 mg/kg Körpermasse etwas höhere Dosierung von 25 mg/kg gewählt. Dass die Entscheidung für eine erhöhte Dosis sinnvoll war, wurde durch die Ergebnisse dieser Studie bestätigt. Mit $4,52 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$ lagen die gemessenen Enrofloxacin-Konzentrationen im Kammerwasser deutlich niedriger als die Wirkstoffkonzentrationen im Serum mit $10,67 \pm 0,5 \mu\text{g/ml}$ (FUCHS et al., 2022).

In der aktuellen Literatur werden für Ziervögel Dosierungen von bis zu 30 mg/kg KGW zweimal täglich empfohlen (DONELEY, 2015; HAWKINS et al., 2018). Die gewählte Dosierung von 25 mg/kg einmal täglich liegt innerhalb des empfohlenen Bereiches und ist laut Literaturangaben sicher und nicht mit Nebenwirkungen behaftet. Toxische Nebenwirkungen wurden bei Hühnern erst ab sehr hohen Dosierungen von 300 mg/kg beobachtet (MASLANKA et al., 2009). Für andere Vogelarten gibt es kaum Berichte zu durch Enrofloxacin verursachten Nebenwirkungen. Nach intravenöser Applikation von Enrofloxacin kam es bei zwei Virginia-Uhus zu anaphylaktischem Schock ähnlichen Symptomen (HARRENTIEN et al., 2000). Der Zusammenhang zwischen der Medikamentenapplikation und den aufgetretenen Symptomen wurde in der Studie aber nicht abschließend geklärt. Bei Kongo-Graupapageien traten nach 10-tägiger oraler Behandlung mit 30 mg/kg Enrofloxacin zweimal täglich Polyurie und Polydipsie auf. Die Symptome klangen jedoch nach Absetzen der Medikation schnell wieder ab (FLAMMER et al., 1991). Im Laufe der vorliegenden Studie wurden bei den Versuchstieren keine der beschriebenen Nebenwirkungen, wie Durchfall, Bewegungsunlust, Koordinationsstörungen, Polyurie oder Polydipsie beobachtet (FUCHS et al., 2022). Vögel

scheinen weniger empfindlich gegenüber den chondrotoxischen Effekten von Enrofloxacin zu sein (MASLANKA et al., 2009). Da für den Versuch ausschließlich ausgewachsene Hähne verwendet wurden, war eine solche Nebenwirkung nicht zu erwarten (FUCHS et al., 2022).

Augenerkrankungen gehören derzeit noch nicht zu den therapeutischen Indikationen von Enrofloxacin, so dass seine Verwendung für eine solche Indikation als "off-label" einzustufen ist. Ziel der Studie war es, Daten für einen begründeten und umsichtigen Einsatz von Enrofloxacin bei Augenkrankheiten von Vögeln zu sammeln. In Deutschland sind bisher keine Antibiotika für die Behandlung bakterieller Augenerkrankungen bei Vögeln zugelassen.

4. Pharmakokinetik

In der vorliegenden Studie sollte überprüft werden, ob Enrofloxacin, das als Antibiotikum in der aviären Medizin eine große Bedeutung besitzt und häufig eingesetzt wird, bei Vögeln auch für die Behandlung von Augeninfektionen geeignet sein könnte. Zu diesem Zweck wurde die Pharmakokinetik einer einmaligen intramuskulären Injektion von 25 mg/kg Enrofloxacin im Serum und zum ersten Mal bei Vögeln gleichzeitig auch im Kammerwasser bestimmt.

4.1. Pharmakokinetik im Serum

Dosis- und applikationswegunabhängige Parameter der im Serum gemessenen pharmakokinetischen Daten, wie terminale Halbwertszeit, MRT, V_d und CL_B sind mit den Ergebnissen anderer an Hühnern durchgeführten Studien vergleichbar. So lag die in der vorliegenden Studie ermittelte MRT mit $9,52 \pm 1,2$ h (FUCHS et al., 2022) im selben Bereich wie die von ANADÓN et al. (1995) und GARCÍA OVANDO et al. (1999) veröffentlichten Daten. Das gefundene V_d war mit $1,11 \pm 0,2$ l/kg ebenfalls ähnlich hoch wie das von GARCÍA OVANDO et al. (1999) angegebene V_d von $1,98 \pm 0,18$ l/kg. Der Wert für das V_d war aber deutlich niedriger als in anderen an Hühnern durchgeführten Studien (FUCHS et al., 2022). Hierbei ließen sich jedoch mit Angaben zwischen 2,28 und 4,55 l/kg große Unterschiede zwischen den Studien beobachten (ANADÓN et al., 1995; BUGYEI et al., 1999; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004). Die in der vorliegenden Studie ermittelte $t_{1/2\beta}$ von $4,36 \pm 0,38$ h (FUCHS et al., 2022) ist gut mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichbar (ABD EL-AZIZ et al., 1997; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004). Eine klare Differenz lässt sich erneut bei der hier ermittelten CL_B beobachten, die mit $2,83 \pm 0,67$ ml/h/kg (FUCHS et al., 2022) deutlich unter dem in anderen Studien ermittelten Bereich (3,0–11,11 ml/kg/h) lag (GARCÍA OVANDO et al., 1999; KNOLL et al., 1999; HARITOVA et al., 2004). Eine Begründung für diese Unterschiede in den Messergebnissen könnten Unterschiede in Alter, Geschlecht, Rasse, Gewicht, Stressbelastung oder Versuchsbedingungen sein (LOPEZ-CADENAS et al., 2013).

Die Erhöhung der Dosis von 5 auf 25 mg/kg führte zu einem äquivalenten Anstieg der maximalen Serumkonzentration von Fluorchinolonen (2,1 vs. 10,7 µg/ml) sowie auch der $AUC_{0-\infty}$ (21,4 vs. 155,40 µg·h/ml) (BUGYEI et al., 1999).

Enrofloxacin zeigt allgemein artspezifische pharmakokinetische Eigenschaften bei verschiedenen Vogelarten. Wie in Tabelle 1 (S. 14-15) zusammenfassend dargestellt ist, können zwischen den Ergebnissen einzelner, näher verwandter Vogelarten z. T. Parallelen gezogen werden. Als Beispiel wäre hier die sehr ähnliche Pharmakokinetik bei Rotschwanzbussarden und Virginia-Uhus aus der Studie von HARRENTIEN et al. (2000) zu nennen. Auch die Pharmakokinetik von Enrofloxacin bei Kragentrappen (BAILEY et al., 1998) und Puten (DIMITROVA et al., 2007) war gut miteinander vergleichbar. Allerdings ergaben sich zwischen Studien an artverwandten Spezies teilweise auch erhebliche Unterschiede in der Pharmakokinetik, wie am Beispiel von Strauß und Emu dargestellt (DE LUCAS et al., 2004; SENTHIL KUMAR et al., 2015). Dies sollte bei einer Übertragung der Ergebnisse unserer Studie auf andere Vogelarten berücksichtigt werden. Bei Wachteln wäre allgemein die Anwendung von Enrofloxacin aufgrund der Ergebnisse der hier aufgeführten pharmakokinetischen Studien (HARITOVA et al., 2013; LASHEV et al., 2015) nicht zu empfehlen und beispielsweise die Anwendung von Marbofloxacin vorzuziehen, da dieser Wirkstoff bei Wachteln eine günstigere Pharmakokinetik aufzuweisen scheint (LASHEV et al., 2015).

4.2. Metabolisierung von Enrofloxacin zu Ciprofloxacin

Gemäß den CVMP-Richtlinien sollten bei pharmakokinetischen Studien auch die pharmakokinetischen Parameter der Hauptmetaboliten untersucht werden, wenn diese für die Wirksamkeit relevant sind (CVMP, 2000). Insbesondere für die in der Tiermedizin angewandten Fluorchinolone wird allgemein eine Metabolisierungsrate von 20 % angegeben.

Ciprofloxacin gilt als Hauptmetabolit von Enrofloxacin und ist ebenfalls ein sehr wirksamer antimikrobieller Wirkstoff (RICHTER und SCHERKL, 2016b). Daher wurden, wie oben bereits beschrieben, einige Teilproben von Kammerwasser und Serum (1, 4, 8 h) zusätzlich mittels LC-MS/MS parallel auf ihre Enrofloxacin- und Ciprofloxacin-Konzentrationen untersucht. Unsere Daten zeigen, dass Enrofloxacin bei den Hühnern der vorliegenden Studie nur geringfügig zu Ciprofloxacin metabolisiert wurde und damit die aktive Verbindung im Kammerwasser darstellt (FUCHS et al., 2022).

Diese Ergebnisse decken sich mit den Messdaten aus weiteren Pharmakokinetik-Studien zu Enrofloxacin bei Geflügel (Hühner: (ANADÓN et al., 1995; KNOLL et al., 1999); Puten: (DIMITROVA et al., 2007); Moschusenten: (INTORRE et al., 1997), bei denen Enrofloxacin zu einem Anteil von 10 % und weniger zu Ciprofloxacin metabolisiert wurde. Zu einem Zeitpunkt von 8 Stunden nach der intramuskulären Injektion lagen in der vorliegenden Studie im Serum

nur 12,6 % der ursprünglichen Enrofloxacin-Dosis als Ciprofloxacin vor (FUCHS et al., 2022). Dieser Wert ist etwas niedriger als die 26 %ige Metabolisierungsrate, die für 9 Tage alte Masthühner berichtet wurde, die 5 Tage lang oral mit einer Dosis von 15,5 mg/kg/d behandelt wurden (SLANA et al., 2014). Die etwas höhere Metabolisierungsrate in der letztgenannten Studie hängt vermutlich mit der längeren Verabreichung von Enrofloxacin zusammen, welches in den zuvor genannten Studien nur einmalig, in dem Experiment von Slana et al. (2014) aber an 5 aufeinander folgenden Tagen verabreicht wurde. Enrofloxacin reichert sich in verschiedenen Geweben an (RICHTER und SCHERKL, 2016b), sodass hier ein gewisser kumulativer Effekt mit einzubeziehen wäre. Dies wurde bei Slana et al. (2014) insofern berücksichtigt, als das in dieser Studie die Ausscheidungen der Masthühner über 9 Tage nach Beendigung der Therapie an 13 aufeinanderfolgenden Tagen täglich individuell gesammelt und auf das Vorhandensein von Enrofloxacin und dessen Metaboliten untersucht wurden. Auch die angewandte Dosierung von 15,5 mg/kg KGW war in dieser Studie höher als in den anderen Studien mit 10 mg/kg, jedoch niedriger als die von uns gewählte Dosierung von 25 mg/kg.

Bei japanischen Wachteln und Fasanen wurde Enrofloxacin nach intravenöser Applikation von 10 mg/kg KGW in größerem Umfang zu Ciprofloxacin metabolisiert (LASHEV et al., 2015). Basierend auf der jeweiligen für Enrofloxacin und Ciprofloxacin berechneten AUC ergab sich nach intravenöser Applikation bei den Wachteln für Ciprofloxacin ein Wert, der 13 % der berechneten AUC von Enrofloxacin entsprach. Für Fasane lag der Wert für Ciprofloxacin nach IV-Applikation bei 20 %. Nach peroraler Administration wurden sogar bei 43 % und 20 % für Wachteln bzw. Fasane ermittelt.

Da in der vorliegenden Studie der Anteil von Ciprofloxacin an den Gesamtfluorchinolonkonzentrationen im Kammerwasser 8 Stunden nach Applikation geringer war als im Serum (5,4 % vs. 12,6 %), lässt sich aus unseren Ergebnissen folgern, dass nach parenteraler Applikation beim Huhn Enrofloxacin die pharmakologisch wirksame Hauptschubstanz im Auge darstellt (FUCHS et al., 2022).

4.3. Pharmakokinetik im Kammerwasser

Da in dieser Studie erstmalig die Kammerwasserkonzentrationen eines Pharmakons bei Vögeln gemessen wurden, entsprechende Ergebnisse aus der Vogelmedizin also nicht zur Verfügung stehen, kann lediglich mit den Ergebnissen anderer Tierarten verglichen werden.

Etwa 64 % der in der vorliegenden Studie im Serum gemessenen Fluorchinolone wurden in das Kammerwasser überführt, was zu Spitzenkonzentrationen von $4,52 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$ nach 7,54 Stunden führte. Die Fluorchinolon-Konzentrationen blieben weiterhin hoch und erreichten nach 16 Stunden immer noch $3,47 \pm 1,26 \mu\text{g/ml}$. Zusammen mit der berechneten terminalen

Halbwertszeit von $8,79 \pm 0,93$ Stunden und einer MRT von $16,03 \pm 1,09$ Stunden zeigen diese Ergebnisse, dass eine einmalige Gabe (q24h) von Enrofloxacin ausreicht, um kontinuierlich hohe Wirkstoffkonzentrationen im wässrigen Augenkompartment zu erreichen (FUCHS et al., 2022).

Die in der vorliegenden Studie beobachteten Fluorchinolon-Wirkstoffkonzentrationen im Kammerwasser waren beim Huhn relativ höher als beim Pferd oder Hund (DIVERS et al., 2008; KRASTEV et al., 2011). Allerdings ist die Vergleichbarkeit aufgrund von Unterschieden in der Applikationsart und der Dosierung hier nur eingeschränkt möglich. In einer Studie an 6 gesunden Pferden wurde Enrofloxacin in einer Dosis von 7,5 mg/kg KGW einmal täglich intravenös an 4 aufeinanderfolgenden Tagen verabreicht. Die Enrofloxacin-Spitzenkonzentrationen (C_{max}) im Kammerwasser wurden 1 Stunde nach der Injektion am dritten Tag bestimmt. Dabei ergab sich, dass bei Pferden mit gesunden Augen und intakter Blut-Kammerwasser-Schranke nur ein Anteil von 12,1 % des Enrofloxacins in das Auge übertragen wurde und eine mittlere Konzentration von 0,54 µg/ml Kammerwasser erreichte. Dies ist etwa 5-mal niedriger als der in der vorliegenden Studie beobachtete Fluorchinolon-Anteil von 64 % (DIVERS et al., 2008).

In einer anderen Studie erhielten 25 klinisch gesunde Hunde eine einmalige subkutane Injektion von 7,5 mg/kg KGW Enrofloxacin. Anschließend wurden zu 8 unterschiedlichen Messzeitpunkten Proben von Blut und Kammerwasser zur Untersuchung auf ihren Enrofloxacin- und Ciprofloxacingehalt genommen. Die nachgewiesenen maximalen Enrofloxacin-Konzentrationen im Kammerwasser lagen zwischen 0,18 und 0,22 µg/ml. Laut Studie wurden damit für empfindliche Mikroorganismen wie *Staphylococcus intermedius* und *E. coli* mit MHK-Werten von weniger als 0,25 µg/ml therapeutische Werte erreicht. (KRASTEV et al., 2011).

Des Weiteren waren die in der vorliegenden Studie beim Huhn beobachteten Konzentrationen von Fluorchinolonen im Kammerwasser deutlich höher als die von Ciprofloxacin nach oraler Verabreichung von 500 mg/kg KGW beim Menschen ($4,52 \pm 1,2$ µg/ml vs. $0,63 \pm 0,29$ µg/ml) (ÇELEBI et al., 1998). In dieser Studie wurden 23 Probanden 8 Stunden vor einer Kataraktchirurgie mit Ciprofloxacin behandelt. Anschließend wurde direkt vor der Operation Kammerwasser via Parazentese zur Untersuchung auf die CiprofloxacinKonzentration entnommen. Auch in dieser Studie wurden die ermittelten Konzentrationen für die chirurgische Prophylaxe oder Behandlung von Infektionen mit *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* und anderen gramnegativen Bakterien als geeignet bewertet, da diese höher als die MIC_{90} der angegebenen Keime waren.

Neben der im vorliegenden Versuch deutlich höheren Ausgangsdosierung von Enrofloxacin mit 25 mg/kg KGW im Vergleich zu entsprechenden Säugetierstudien könnten die anatomischen Besonderheiten des Vogelauges, also insbesondere der Pecten oculi und die Unterschiede in der Vaskularisierung für eine erhöhte Permeabilität für Enrofloxacin ins Augenkammerwasser im Vergleich zu Säugetieren verantwortlich sein. Bei Säugetieren sind die Blut-Augen-Schranken gegen gelöste niedermolekulare Stoffe, wie zum Beispiel Fluorescein, weitgehend undurchlässig (GUM et al., 1999). Angiographische Untersuchungen am Vogelauge konnten jedoch klar die Durchlässigkeit des Pecten oculi für Fluorescein demonstrieren (KORBEL und BRAUN, 1996). Um diese Hypothese sicher bestätigen zu können, müssten jedoch Vergleichsstudien mit definierten Vogel- und Säugetierarten unter Verwendung derselben Ausgangsdosierungen und den gleichen Applikationsarten durchgeführt werden.

Die enorme Artenvielfalt der Vögel hat auch eine große Variabilität bezüglich der Anatomie und Physiologie des Auges hervorgebracht (REESE et al., 1998). Artsspezifische Unterschiede in der Anatomie und vor allem Histologie der Augen, z. B. des Ziliarkörpers und der Kammerwinkelregion, des Augenfächers, oder der Pigmentierung der Retina, könnten die Durchgängigkeit der Blut-Augen-Schranken für pharmakologische Wirkstoffe ebenfalls beeinflussen und damit bei verschiedenen Vogelspezies zu unterschiedlichen Ergebnissen führen. Derartige Untersuchungen liegen bisher für die Vogelmedizin nicht vor. In einer Studie an Kaninchen zum Einfluss der Pigmentierung auf die intraokuläre Penetration von verschiedenen Antibiotika stellte sich allerdings heraus, dass Iris und Aderhaut von pigmentierten Kaninchen eine signifikant höhere Konzentration von Clindamycin, dafür aber eine deutlich niedrigere Konzentration von Gentamycin aufwiesen als Gewebe von albinotischen Tieren. Diese Diskrepanzen wurden auf gegensätzliche Interaktionen zwischen dem Pigment Melanin und den beiden Antibiotika in vivo zurückgeführt (BARZA, 1978).

Anhand dieses Beispiels soll verdeutlicht werden, dass selbst innerhalb derselben Tierart eine Vielzahl von Faktoren entscheidend für das pharmakokinetische Verhalten eines Wirkstoffes im Organismus sein können. Es ist anzunehmen, dass sich die Ergebnisse der vorliegenden Studie gut auf Vögel mit einer ähnlichen Anatomie des Auges übertragen lassen. Das Huhn ist auch in diesem Hinblick ein sehr geeignetes Versuchsmodell, da die Anatomie des Hühnerauges mit der sehr vieler tagaktiver Vogelarten weitgehend übereinstimmt (z. B. Galliformes, Passeriformes, Psittaciformes). Um sichere Rückschlüsse auf die Übertragbarkeit unserer Ergebnisse auf weitere Vogelarten zu ziehen, sind jedoch noch Folgestudien notwendig.

5. Pharmakodynamik

Um gegen intraokulare bakterielle Infektionen wirksam zu sein, muss Enrofloxacin Konzentrationen oberhalb der MHK über einen Zeitraum erreichen, welcher von den individuellen pharmakodynamischen Eigenschaften der verursachenden Bakterien abhängt (RICHTER und SCHERKL, 2016a). Die MHK der jeweiligen Infektionserreger nur zu überschreiten ist jedoch nicht ausreichend. Um genauere Rückschlüsse über die Wirksamkeit eines Antibiotikums ziehen zu können, müssen entsprechende PK/PD-Modelle zur Anwendung kommen. Fluorchinolone werden als primär konzentrationsabhängige antimikrobielle Wirkstoffe eingestuft (RICHTER und SCHERKL, 2016b). Zur theoretischen Abschätzung eines therapeutischen Erfolges oder einer möglichen Entwicklung von bakteriellen Resistenzen werden für diese Wirkstoffe die Quotienten C_{\max}/MHK und AUC/MHK herangezogen. Für Enrofloxacin sollte für eine ausreichende Wirksamkeit ein Verhältnis von $\text{AUC}/\text{MHK} \geq 125$ oder ein Quotient von $C_{\max}/\text{MHK} > 10$ erreicht werden (LODE et al., 1998; WRIGHT et al., 2000; FÜSSLE, 2011).

Die Verhältnisse C_{\max}/MIC und AUC/MIC wurden für hypothetische MHK_{90} - Werte (0,05, 0,125, 0,25 und 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) anhand der in dieser Studie ermittelten Mittelwerte von C_{\max} und $\text{AUC}_{0-\infty}$ in Serum und Kammerwasser berechnet (Tabelle 2).

Tabelle 2. PK/PD-Parameter von Enrofloxacin in Serum und Kammerwasser unter Berücksichtigung von MHK_{90} von 0,05, 0,125, 0,25 und 0,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$

	MHK_{90} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Serum C_{\max} Mittelwert: 10,67 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Kammerwasser C_{\max} Mittelwert 4,52 $\mu\text{g}/\text{ml}$
C_{\max}/MHK	0,05 0,125 0,25 0,5	213,4 85,36 42,68 21,34	90,4 36,16 18,08 9,04
		Serum $\text{AUC}_{0-\infty}$ Mittelwert 155,40 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$	Kammerwasser $\text{AUC}_{0-\infty}$ Mittelwert 99,57 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$
$\text{AUC}_{0-\infty}/\text{MHK}$	0,05 0,125 0,25 0,5 0,75	3108 1243,2 621,6 310,8 207,2	1991,4 796,56 398,28 199,14 132,76

C_{\max} = Spitzenkonzentrationen in Serum; MHK = Minimale Hemmkonzentration;
 $\text{AUC}_{0-\infty}$ = Fläche unter der Plasmakonzentration-Zeit-Kurve

Aus den in der vorliegenden Studie gemessenen Fluorchinolonkonzentrationen wurde eine C_{\max} von Enrofloxacin im Kammerwasser von $4,52 \pm 1,2 \mu\text{g}/\text{ml}$ und eine $\text{AUC}_{0-\infty}$ von $99,57 \pm 26,8 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{ml}$ errechnet (FUCHS et al., 2022). Für diese Kammerwasserkonzentrationen wären Bakterienstämme mit einer $\text{MHK} < 0,5$ oder $\leq 0,75 \mu\text{g}/\text{ml}$ empfindlich gegenüber Enrofloxacin.

PK/PD-Modelle sind jedoch nur theoretische Modelle, sodass letztlich ausschließlich populationskinetische Infektionsversuche wirklich klären könnten, inwieweit eine Wirksamkeit von Enrofloxacin bei intraokulären Infektionen mit relevanten bakteriellen Keimen gegeben ist. Dies ging jedoch über das Ziel der aktuellen Studie hinaus.

6. Anwendbarkeit von Enrofloxacin bei der Behandlung von intraokulären Infektionen beim Vogel

Pharmakokinetische Grundlagenstudien werden in der Regel an klinisch gesunden Tieren durchgeführt, um die wichtigsten pharmakokinetischen Parameter eines pharmakologisch aktiven Wirkstoffes zu ermitteln (CVMP, 2000). Diese können sich bei Krankheiten ändern, wenn zum Beispiel die Eigenschaften biologischer Barrieren, die ein Wirkstoff passieren muss, modifiziert werden. Eine bakterielle Infektion kann infolge einer Entzündungsreaktion die Funktion oder Intaktheit der Blut-Augen-Schranken beeinträchtigen und damit die Durchlässigkeit von Arzneimitteln in das Kammerwasser erhöhen. NAKAMURA und ABE (1987) beschrieben ausführlich die histopathologischen Veränderungen der okularen Strukturen nach systemischer, experimentell durch Inokulation der abdominalen Luftsäcke herbeigeführter Infektion von SPF-Hühnern mit *E. coli*. Dabei waren unter anderem Strukturen der Blut-Kammerwasser-Schranke, wie die Fontana-Räume oder der Schlemm'sche Kanal in unterschiedlichem Ausmaß entzündlich verändert. Werden durch die Entzündung die engen Verbindungen (tight junctions) zwischen den Epithelzellen, welche die Blut-Kammerwasser-Schranken bilden zerstört, kann es zu einem Zusammenbruch der selbigen kommen (REESE et al., 1998). Infektionen können daher die Funktion der Blut-Kammerwasser-Schranke beeinflussen und damit deren Durchlässigkeit für pharmakologische Stoffe verändern. Dies lässt sich am Beispiel verschiedener Vergleichsstudien belegen, in denen die in Kammerwasser und/oder Glaskörperflüssigkeit nachgewiesenen Antibiotikakonzentrationen vor und nach experimenteller intraokulärer Infektion gemessen wurden (BRONNER et al., 2003; DIVERS et al., 2008; REGNIER et al., 2008). Bei diesen Studien konnten im geschädigten Auge signifikant höhere Wirkstoffkonzentrationen gemessen werden, als im gesunden Auge.

Die Auswirkungen von intraokularen Infektionen auf die Blut-Kammerwasser-Schranke hängen u. a. auch vom verursachenden Erreger ab. In einer an Kaninchen durchgeführten Studie wurden die Versuchstiere experimentell intraokulär mit zwei verschiedenen *Staphylococcus-aureus*-Stämmen infiziert. Die Augenveränderungen wurden anschließend anhand der von Nussenblatt festgesetzten Einstufungen von Augenentzündung bei Uveitis objektiv evaluiert. Die Tiere zeigten je nach verursachendem Stamm signifikant unterschiedlich starke Ausprägungen der klinischen Veränderungen (Level 3: moderat vs. Level 4: stark

ausgeprägt). Bei der nachfolgenden Behandlung mit Moxifloxacin wurden ebenfalls leichte Unterschiede in den erreichten C_{\max} festgestellt, wobei die Kaninchen mit stärkeren entzündlichen Augenveränderungen leicht höhere C_{\max} aufwiesen (BRONNER et al., 2003).

Die Verwendung klinisch gesunder Tiere stellt höchstwahrscheinlich die strengste Bedingung für die Penetration von Enrofloxacin in das Auge dar, da die Vögel eine intakte Blut-Augen-Schranke aufweisen. Unter der Annahme, dass eine intraokuläre Infektion zu einem Zusammenbruch der Blut-Augen-Schranke führen könnte, kann daher vermutet werden, dass Enrofloxacin bei Tieren mit infolge einer Erkrankung gestörten Blut-Augen-Schranke mindestens genauso gut wie bei gesunden Tieren in das Kammerwasser eindringen kann und dort vielleicht sogar noch höhere Wirkstoffkonzentrationen erreicht werden.

Diese Annahme ist jedoch spekulativ und muss durch Experimente belegt werden. In welchem Ausmaß Arzneimitteln bei Vorliegen einer intraokularen Infektion in das Kammerwasser eindringen können, wird in der Regel in populationskinetischen Studien an einer größeren Anzahl von Patienten untersucht. Dabei ist eine Reihe von verschiedenen Faktoren, wie Immunstatus des Patienten, beteiligte Keime, Pharmakokinetik des Präparates bei der jeweiligen Zieltierart oder die Art des Entzündungsprozesses zu berücksichtigen. Solche Studien bleiben zukünftigen Untersuchungen überlassen und würden den Rahmen der vorliegenden Studie sprengen, die lediglich das Ausmaß der Penetration von Enrofloxacin in das Kammerwasser von Hühnern nach einmaliger intramuskulärer Injektion ermitteln sollte.

Die vorliegende Studie erlaubt außerdem keine Rückschlüsse darauf, ob 25 mg/kg KGW, einmal pro Tag intramuskulär verabreicht, die optimale Dosierung darstellt. Es handelt sich hier vielmehr um eine pharmakokinetische Grundlagenstudie, bei der sich auf eine Dosierung beschränkt wurde. Höhere oder niedrige Dosierungen und Mehrfachapplikationen wurden nicht in die Untersuchungen einbezogen. Versuche zur Dosisfindung oder zur Bewertung verschiedener Anwendungswege müssen Gegenstand weiterführender klinischer Studien für die Marktzulassung sein.

7. Schlussfolgerungen für die Praxis

In der Vogelmedizin existiert eine Reihe von bakteriellen Erregern, welche in der Lage sind, im Rahmen einer systemischen Infektion auch pathologische Veränderungen am und im Auge zu verursachen. Für den Vogel als primär optisch orientiertes Lebewesen kann in solchen Fällen eine schnelle, gezielte und effektive Therapie zur Erhaltung des Visus beitragen und letztendlich lebensrettend sein. Eine wirkungsvolle antibiotische Therapie von intraokulären bakteriellen Infektionen gestaltet sich jedoch aufgrund verschiedener Schutzmechanismen des Auges, insbesondere der Blut-Kammerwasser-Schranke, als anspruchsvoll, da diese das

Eindringen und Erreichen von therapeutisch wirkungsvollen Wirkstoffspiegeln bei den meisten Antibiotika verhindert.

Fluorchinolone werden bei der systemischen Behandlung von intraokulären Infektionen beim Menschen sehr häufig angewandt. Enrofloxacin zeigte aufgrund seiner hohen Lipophilie, seiner geringen molekularen Größe und eines sehr hohen Verteilungsvolumens in verschiedenen Studien, sowohl an augengesunden als auch bei an Augeninfektionen erkrankten Säugetieren eine gute Kammerwassergängigkeit und ist daher auch für die Vogelmedizin ein vielversprechender Kandidat für die Behandlung von bakteriellen Infektionen des inneren Augenkompartmentes.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass Enrofloxacin nach parenteraler intramuskulärer Verabreichung einer einzigen Dosis von 25 mg/kg KGW beim Huhn mit einem Anteil von ca. 64 % gut in das Kammerwasser eindringt und therapeutisch wirksame Konzentrationen von bis zu $4,52 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$ erreicht. Diese Konzentrationen liegen weit über der MHK vieler für intraokuläre Infektionen klinisch relevanter Bakterien. Unter Anwendung der entsprechenden PK/PD-Modelle kann abgeleitet werden, dass für diese Kammerwasserkonzentrationen Bakterienstämme mit einer MHK $< 0,5 \mu\text{g/ml}$ ($C_{\text{max}}/\text{MHK} > 10$) empfindlich gegenüber Enrofloxacin wären. Bei Anwendung des Quotienten AUC/MHK, der bei Enrofloxacin größer gleich 125 sein sollte, wären bei der in dieser Studie ermittelten AUC von $99,57 \pm 26,8 \mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ Keime mit einer MHK $\leq 0,75 \mu\text{g/ml}$ sensibel.

Das Wirkungsspektrum von Enrofloxacin beinhaltet grampositive, gramnegative und atypische Erreger (Chlamydien, Mykoplasmen). Viele der mit intraokulären Infektionen in Zusammenhang zu bringenden Erreger, wie zum Beispiel *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. *Pasteurella multocida*, *Haemophilus paragallinarum*, *Micrococcus* spp., *Bordetella avium*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, *Moraxella* spp., *Proteus* spp., *Aeromonas hydrophila*, *Nocardia* spp. und *Listeria monocytogenes* sind gegenüber Enrofloxacin sensibel. Eine vermehrte Resistenzentwicklung wird für *E. coli*, Mykoplasmen- und Salmonellenspezies beobachtet. Höhere Resistenzraten finden sich auch bei Enterokokken, Streptokokken, Mikrokokken, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus*.

Von der sehr langen terminalen Halbwertszeit von $7,54 \pm 1,0$ Stunden und der ebenfalls sehr langen MRT von $16,03 \pm 1,9$ Stunden ist abzuleiten, dass eine Applikation einmal täglich ausreichend wäre, um anhaltende und therapeutisch wirksame Wirkstoffspiegel im Kammerwasser aufrechtzuerhalten.

Die in der vorliegenden Studie im Kammerwasser gemessenen Wirkstoffkonzentrationen lagen mit $4,52 \pm 1,2 \mu\text{g/ml}$ deutlich unter den gemessenen Wirkstoffkonzentrationen von $10,67$

$\pm 0,5 \mu\text{g/ml}$ im Serum. Bei einer Dosis von 10 mg/kg wäre anhand der Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht sichergestellt, dass therapeutisch wirksame Enrofloxacinkonzentrationen im Kammerwasser erreicht würden. Dies begründet eine Abweichung von der Zulassung und Erhöhung der angewandten Dosierung auf 25 mg/kg KGW .

Eine Wirksamkeit von niedrigeren Dosierungen ist bei Vogelpatienten mit Entzündungen des inneren Augenkompartmentes und daraus resultierendem Break-Down der Blut-Kammerwasser-Schranke allerdings dennoch denkbar, muss aber zunächst in populationskinetischen Studien an erkrankten Tieren untersucht werden.

Grundsätzlich kann Enrofloxacin in der untersuchten Dosierung auch bei Vögeln mit intakter Blut-Kammerwasser-Schranke ein wirksames Mittel zur postoperativen Prophylaxe/Metaphylaxe von Infektionen bei Augenoperationen beim Vogel darstellen.

Es ist anzunehmen, dass sich die Ergebnisse der vorliegenden Studie gut auf Vogelarten mit zum Huhn sehr ähnlicher Augenanatomie übertragen lassen, was auf sehr viele tagaktive Spezies zutrifft. Dabei ist jedoch immer auch die artspezifische Pharmakokinetik von Enrofloxacin zu berücksichtigen. So haben Wachteln zwar eine dem Huhn sehr ähnliche Anatomie des Auges, durch die abweichenden pharmakokinetischen Eigenschaften von Enrofloxacin ist eine Anwendung von Enrofloxacin bei dieser Spezies jedoch nicht zu empfehlen. Stattdessen wäre zu überlegen, in einem solchen Falle auf andere Fluorochinolone, wie zum Beispiel Marbofloxacin, das bei Wachteln eine günstigere Pharmakokinetik aufweist, zurückzugreifen.

Bei Vogelarten, deren Anatomie des Auges sich sehr stark von der des Huhnes unterscheidet, wie zum Beispiel bei nachtaktiven Arten wie Eulen, sollte die Kammerwassergängigkeit von Enrofloxacin in zukünftigen Studien überprüft werden.

V. Zusammenfassung

Enrofloxacin hat sich zur Behandlung bakterieller Augeninfektionen bei Säugetieren als geeignet erwiesen. Anatomie und Physiologie des Vogelauges unterscheiden sich jedoch erheblich von denen der Säugetiere, sodass eine direkte Übertragung von Ergebnissen aus der Säugermedizin fraglich erscheint. Bisher gab es noch keine pharmakokinetischen Daten, die die klinische Wirksamkeit von Enrofloxacin bei der Behandlung von intraokulären Infektionen bei Vögeln belegen.

In der vorliegenden Studie erhielten daher 40 Hühner (*Gallus gallus*, Lohman Selected Leghorn) eine einmalige intramuskuläre Injektion von Enrofloxacin in einer Dosierung von 25 mg/kg Körpergewicht. Blut- und Kammerwasserproben wurden zu 12 verschiedenen Zeitpunkten von 0 bis 32 h nach der Verabreichung entnommen und mit einem kompetitiven Enzymimmunoassay auf ihre Fluorchinolonekonzentration untersucht. Die Metabolisierung von Enrofloxacin zu Ciprofloxacin wurde durch Flüssigchromatographie - Massenspektrometrie bestimmt.

Serumspitzenkonzentrationen (C_{max}) der Fluorchinolone lagen zum Zeitpunkt $2,82 \pm 0,1$ Stunden vor und betrugen $10,67 \pm 0,5$ µg/ml. Die Fluorchinolone verteilten sich in geringerem Umfang in das Kammerwasser und erreichten dort maximale Konzentrationen von $4,52 \pm 1,2$ µg/ml nach $7,54 \pm 1,0$ Stunden post applicationem. Die Fläche unter der Konzentration-Zeit-Kurve ($AUC_{0-\infty}$) in Serum und Kammerwasser lag bei $155,40 \pm 39,1$ µg·h/ml bzw. $99,57 \pm 26,8$ µg·h/ml. Die mittlere Verweilzeit (MRT), das Verteilungsvolumen (V_d) und die terminale Halbwertszeit ($t_{1/2 \beta}$) waren im Kammerwasser 1,68-, 2,84- und 2,01-fach höher als im Serum, was darauf hindeutet, dass Fluorchinolone im Kammerwasser kumulieren. Enrofloxacin wurde nur geringfügig zu Ciprofloxacin metabolisiert.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Studien kann gefolgert werden, dass der Einsatz von Enrofloxacin bei einer Vielzahl von beim Vogel vorkommenden intraokulären Infektionserregern, wie u. a. *E. coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma* spp. indiziert ist. Unter Anwendung der PK/PD-Modelle für Fluorchinolone C_{max}/MHK und $AUC_{0-\infty}/MHK$ konnte für die in dieser Studie ermittelten Daten eine Wirksamkeit gegen Erreger mit einer Minimalen Hemmkonzentration (MHK) von $< 0,5$ µg/ml bzw. $\leq 0,75$ µg/ml vorausgesagt werden.

Eine einmalige intramuskuläre Injektion einer therapeutischen Dosis von Enrofloxacin (25 mg/kg KGW) führte bei augengesunden Hühnern somit zu anhaltenden und therapeutisch wirksamen Enrofloxacin-Spiegeln im Kammerwasser. Da es im Zuge von intraokulären Entzündungsprozessen häufig zu einem Break-Down der Blut-Augen-Schranken kommt,

kann vermutet werden, dass bei Augeninfektionen noch höhere Wirkstoffkonzentrationen im Kammerwasser erreicht werden können und die Wirksamkeit von Enrofloxacin sogar noch verbessert werden würde. Untersuchungen zur Dosisfindung oder zur Bewertung verschiedener Anwendungswege müssen Gegenstand weiterführender klinischer Studien sein. Ebenso bleibt die Ermittlung der Übertragbarkeit der Ergebnisse dieser Studie auf andere Vogelarten weiteren Folgestudien vorbehalten.

VI. Summary

Enrofloxacin has been shown to be useful in treatment of bacterial eye infections in mammals. However, the anatomy and physiology of the avian eye differ significantly from those of mammals, so direct transfer of results from mammals to birds seems questionable. To date, there have been no pharmacokinetic data demonstrating the clinical efficacy of enrofloxacin in the treatment of intraocular infections in birds.

Therefore, forty chickens (*Gallus gallus*, Lohman Selected Leghorn) received a single intramuscular injection of enrofloxacin at a dose of 25 mg/kg body weight. Blood- and aqueous humour samples were collected at 12 different time points after administration (0-32 h) and analyzed for fluoroquinolone concentration using a competitive enzyme immunoassay. Metabolism of enrofloxacin to ciprofloxacin was determined by liquid chromatography - mass spectrometry. Peak serum concentrations (C_{max}) of fluoroquinolones were observed after 2.82 ± 0.1 hours and amounted to 10.67 ± 0.5 $\mu\text{g/ml}$. The fluoroquinolones dispersed to a lesser extent into aqueous humour, where they reached maximum concentrations of 4.52 ± 1.2 $\mu\text{g/ml}$ at 7.54 ± 1.0 hours *post applicationem*. The area under the concentration-time curve ($AUC_{0-\infty}$) in serum and aqueous humour was 155.40 ± 39.1 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$ and 99.57 ± 26.8 $\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$, respectively. The mean residence time (MRT), volume of distribution (V_d), and terminal half-life ($t_{1/2 \beta}$) were 1.68-, 2.84- and 2.01-fold higher in aqueous humour than in serum, respectively, indicating that fluoroquinolones accumulate in aqueous humour. Enrofloxacin was only slightly metabolized to ciprofloxacin.

Based on the obtained results, it can be concluded that the use of enrofloxacin is indicated for a variety of avian intraocular infectious agents, including *E. coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma* spp, among others. Using the PK/PD models for fluoroquinolones C_{max}/MIC and $AUC_{0-\infty}/\text{MIC}$, efficacy against pathogens with a minimum inhibitory concentration (MIC) of < 0.5 $\mu\text{g/ml}$ and ≤ 0.75 $\mu\text{g/ml}$, respectively, was predicted for the data obtained in this study.

Thus, a single intramuscular injection of a therapeutic dose of enrofloxacin (25 mg/kg BW) resulted in sustained and therapeutically effective levels of enrofloxacin in the aqueous humour of ocularly healthy chickens. Since a break-down of the blood-ocular barriers often occurs in course of intraocular inflammatory processes, it can be assumed that even higher drug concentrations in aqueous humour can be achieved in infected eyes and that the efficacy of enrofloxacin would even be improved. Investigations on dose finding or the evaluation of different routes of application must be subject of further clinical studies. Likewise, the

determination of the transferability of the results of this study to other avian species is reserved for further follow-up studies.

VII. Resumen

La enrofloxacin ha demostrado su utilidad en el tratamiento de infecciones oculares bacterianas en mamíferos. Sin embargo, la anatomía y fisiología del ojo aviar difiere significativamente de las de los mamíferos, por lo que la transferencia directa de resultados de medicina veterinaria de mamíferos parece cuestionable. Hasta la fecha, no existen datos farmacocinéticos que demuestren la eficacia clínica de la enrofloxacin en el tratamiento de infecciones intraoculares en aves.

Cuarenta pollos (*Gallus gallus*, Lohman Selected Leghorn) recibieron una única inyección intramuscular de enrofloxacin a una dosis de 25 mg/kg de peso corporal. Se recogieron muestras de sangre y de humor acuoso en 12 tiempos diferentes tras la administración (0-60 min y 2-32 h) y se analizó la concentración de fluoroquinolona mediante un inmunoensayo enzimático competitivo. El metabolismo de enrofloxacin en ciprofloxacina se determinó mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas.

Las concentraciones séricas máximas (C_{max}) de fluoroquinolonas se midieron al cabo de $2,82 \pm 0,1$ horas y fueron de $10,67 \pm 0,5$ µg/ml. Las fluoroquinolonas se dispersaron en menor medida en el humor acuoso, donde alcanzaron concentraciones máximas de $4,52 \pm 1,2$ µg/ml a las $7,54 \pm 1,0$ horas post-aplicación. El área bajo la curva concentración-tiempo ($AUC_{0-\infty}$) en suero y humor acuoso fue de $155,40 \pm 39,1$ µg·h/ml y $99,57 \pm 26,8$ µg·h/ml, respectivamente. El tiempo de residencia medio (MRT), el volumen de distribución (Vd) y la semivida terminal ($t_{1/2\beta}$) fueron 1,68, 2,84 y 2,01 veces superiores en el humor acuoso que en el suero, respectivamente, lo que indica que las fluoroquinolonas se acumulan en el humor acuoso. La enrofloxacin sólo se metabolizó ligeramente en ciprofloxacina.

El uso de enrofloxacin está indicado para una variedad de agentes infecciosos intraoculares aviares, incluyendo *E. coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, *Pasteurella multocida*, *Mycoplasma* spp, entre otros. Utilizando los modelos PK/PD para fluoroquinolonas C_{max}/CIM y $AUC_{0-\infty}/CIM$, se predijo la eficacia frente a patógenos con una Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de $< 0,5$ µg/ml y $\leq 0,75$ µg/ml, respectivamente, para los datos obtenidos en este estudio.

Así pues, una única inyección intramuscular de una dosis terapéutica de enrofloxacin (25 mg/kg de peso corporal) dio lugar a niveles sostenidos y terapéuticamente eficaces de enrofloxacin en el humor acuoso de pollos sanos. Dado que en el curso de los procesos inflamatorios intraoculares suele producirse una ruptura de las barreras hematooculares, cabe suponer que en los ojos infectados pueden alcanzarse concentraciones aún mayores del fármaco en el humor acuoso y que incluso mejoraría la eficacia de enrofloxacin. Las

investigaciones sobre la determinación de la dosis o la evaluación de diferentes vías de aplicación deben ser objeto de nuevos estudios clínicos. Del mismo modo, la determinación de la transferibilidad de los resultados de este estudio a otras especies aviares queda reservada a ulteriores estudios de seguimiento.

VIII. Literaturverzeichnis

Hier sind die Literaturstellen genannt, auf die in Kapitel III (Literaturübersicht) und Kapitel IV (Diskussion) Bezug genommen wird. Die Literaturreferenzen für Kapitel III (Publikation) finden sich am Ende von Kapitel III.

- ABD EL-AZIZ, M. I., AZIZ, M. A., SOLIMAN, F. A., AFIFY, N. A. (1997): Pharmacokinetic evaluation of enrofloxacin in chickens. *Br Poult Sci* 38, 2, 164-168.
- ACAROZ, U., DIETRICH, R., KNAUER, M., MÄRTLBAUER, E. (2020): Development of a generic enzyme-immunoassay for the detection of fluoro (quinolone)-residues in foodstuffs based on a highly sensitive monoclonal antibody. *Food Anal Methods* 13, 3, 780-792.
- ALTREUTHER, P. (1987): Data on chemistry and toxicology of Baytril. *Vet-Med Nachr* 2, 87-89.
- ANADÓN, A., MARTÍNEZ-LARRAÑAGA, M. R., DÍAZ, M. J., BRINGAS, P., MARTÍNEZ, M. A., FERNÁNDEZ-CRUZ, M. L., FERNÁNDEZ, M. C., FERNÁNDEZ, R. (1995): Pharmacokinetics and residues of enrofloxacin in chickens. *Am J Vet Res* 56, 4, 501-506.
- BACCIARINI, L., POSTHAUS, H., PAGAN, O., MISEREZ, R. (1999): *Nocardia nova* causing pulmonary nocardiosis of black crakes (*Limnocolax flavirostra*). *Vet Pathol* 36, 4, 345-347.
- BAILEY, T. A., SHEEN, R. S., SILVANOSE, C., SAMOUR, J. H., GARNER, A., HARRON, D. W. G. (1998): Pharmacokinetics of enrofloxacin after intravenous, intramuscular and oral administration in houbara bustard (*Chlamydotis undulata macqueenii*). *J Vet Pharmacol Ther* 21, 4, 288-297.
- BARZA, M. (1978): Factors affecting the intraocular penetration of antibiotics. The influence of route, inflammation, animal species and tissue pigmentation. *Scand J Infect Dis Suppl.* 14, 151-159.
- BARZA, M. (1991): Use of quinolones for treatment of ear and eye infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 10, 296-303.
- BAUMGARTNER, R., HOOP, R. K., WIDMER, R. (1994): Atypical nocardiosis in a red-lored Amazon parrot (*Amazona autumnalis autumnalis*). *J Assoc Avian Vet* 8, 125-127.
- BAYON, A., ALBERT, A., ALMELA, R. (2005). *Ocular disorders in raptors in a 3-year period (2002-04). Annual Meeting of the European College of Veterinary Ophthalmologists and European Society of Veterinary Ophthalmology*,. 427-436.)
- BAYÓN, A., ALMELA, R., TALAVERA, J. (2007): Avian ophthalmology. *Eur J Companion Anim Pract* 17, 3, 1-13.
- BENNETT, A., CUTHILL, I. (1995): Ultraviolet vision in birds: What is its function? *Ophthalmic Literature* 2, 48, 152.
- BLASER, J., STONE, B. B., GRONER, M. C., ZINNER, S. H. (1987): Comparative study with enoxacin and netilmicin in a pharmacodynamic model to determine importance of ratio of antibiotic peak concentration to MIC for bactericidal activity and emergence of resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 31, 7, 1054-1060.
- BLEEKER, G., MAAS, E. (1958): Penetration of penethamate, a penicillin ester, into the tissues of the eye. *AMA Arch Ophthalmol* 60, 6, 1013-1020.
- BLONDEAU, J. M. (2004): Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Survey Ophthalmol* 49, 2, S73-S78.
- BRADBURY, J. (2005): Poultry mycoplasmas: sophisticated pathogens in simple guise. *Br Poult Sci* 46, 2, 125-136.
- BRODSKY, E., BIGER, Y., ZEIDAN, Z., SCHNEIDER, M. (1989): Topical application of chloramphenicol eye ointment followed by fatal bone marrow aplasia. *Isr J Med Sci* 25, 1, 54.
- BRONNER, S., JEHL, F., PETER, J.-D., PLOY, M.-C., RENAULT, C., ARVIS, P., MONTEIL, H., PREVOST, G. (2003): Moxifloxacin efficacy and vitreous penetration in a rabbit model of *Staphylococcus aureus* endophthalmitis and effect on gene expression of leucotoxins and virulence regulator factors. *Antimicrob Agents Chemother* 47, 5, 1621-1629.
- BROWN, S. (1996): Fluoroquinolones in animal health. *J Vet Pharmacol Ther* 19, 1, 1-14.
- BUGYEI, K., BLACK, W. D., MCEWEN, S. (1999): Pharmacokinetics of enrofloxacin given by the oral, intravenous and intramuscular routes in broiler chickens. *Can J Vet Res* 63, 3, 193-200.

- BURKHARDT, J., HILL, M., CARLTON, W., KESTERSON, J. (1990): Histologic and histochemical changes in articular cartilages of immature beagle dogs dosed with difloxacin, a fluoroquinolone. *Vet Pathol* 27, 3, 162-170.
- BVL. (2019). Indikation "E. coli-Infektion" entfällt bei Enrofloxacin-enthaltenden Tierarzneimitteln zur Verabreichung an Hühner und/oder Puter über das Trinkwasser. Retrieved 23.01.2019, 2019, from (https://www.bvl.bund.de/SharedDocs/Fachmeldungen/05_tierarzneimittel/2019/2019_01_23_FA_Enrofloxacin.html).
- CAGINI, C., PICCINELLI, F., LUPIDI, M., MESSINA, M., CERQUALGLIA, A., MANES, S., FIORE, T., PELLEGRINO, R. M. (2013): Ocular penetration of topical antibiotics: study on the penetration of chloramphenicol, tobramycin and netilmicin into the anterior chamber after topical administration. *Clin Exp Ophthalmol* 41, 7, 644-647.
- CALLEGAN, M. C., ENGELBERT, M., PARKE, D. W., JETT, B. D., GILMORE, M. S. (2002): Bacterial endophthalmitis: epidemiology, therapeutics, and bacterium-host interactions. *Clin Microbiol Rev* 15, 1, 111-124.
- CATANIA, S., BOTTINELLI, M., FINCATO, A., GASTALDELLI, M., BARBERIO, A., GOBBO, F., VICENZONI, G. (2019): Evaluation of Minimum Inhibitory Concentrations for 154 Mycoplasma synoviae isolates from Italy collected during 2012-2017. *PLoS One* 14, 11, e0224903.
- ÇELEBI, S., AY, S., AYKAN, U., BULUT, V., ALAGÖZ, G., CELIKER, U. (1998): Penetration of oral and topical ciprofloxacin into human aqueous humor. *Acta Ophthalmol Scand* 76, 6, 683-685.
- CHAN, K. P., CHU, K. O., LAI, W. W.-K., CHOY, K. W., WANG, C. C., LAM, D. S.-C., PANG, C. P. (2006): Determination of ofloxacin and moxifloxacin and their penetration in human aqueous and vitreous humor by using high-performance liquid chromatography fluorescence detection. *Anal Biochem* 353, 1, 30-36.
- CLARK, C., THOMAS, J., MILTON, J., GOOLSBY, W. (1982): Plasma concentrations of chloramphenicol in birds. *Am J Vet Res* 43, 7, 1249-1253.
- COCA-PRADOS, M. (2014): The blood-aqueous barrier in health and disease. *J Glaucoma* 23, S36-S38.
- CRAIG, W. (1993): Pharmacodynamics of antimicrobial agents as a basis for determining dosage regimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 12, 1, S6-S8.
- CUNHA-VAZ (1997): The blood-ocular barriers: past, present, and future. *Doc Ophthalmol* 93, 149-157.
- CUNHA-VAZ, BERNARDES, R., LOBO, C. (2011): Blood-retinal barrier. *Eur J Ophthalmol* 21 Suppl 6, 3-9.
- CUNHA-VAZ, SHAKIB, M., ASHTON, N. (1966): Studies on the permeability of the blood-retinal barrier. I. On the existence, development, and site of a blood-retinal barrier. *Br J Ophthalmol* 50, 8, 441.
- CVMP (2000): Guidelines for the conduct of pharmacokinetic studies in target animal species, London, EMEA: The European Agency for the Evaluation of Medical Products- Evaluation of Medicines for Veterinary Use.
- DAVIDSON, M. (1997). *Ocular consequences of trauma in raptors*. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine* 6, 121-130.
- DE JONG, A., YOUALA, M., KLEIN, U., EL GARCH, F., SIMJEE, S., MOYAERT, H., ROSE, M., GAUTIER-BOUCHARDON, A. V., CATANIA, S., GANAPATHY, K., GYURANECZ, M., MÖLLER PALAU-RIBES, F., PRIDMORE, A., AYLING, R. D. (2021): Minimal inhibitory concentration of seven antimicrobials to Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae isolates from six European countries. *Avian Pathol* 50, 2, 161-173.
- DE LUCAS, J. J., RODRIGUEZ, C., WAXMAN, S., GONZALEZ, F., DE VICENTE, M. L., SAN ANDRES, M. I. (2004): Pharmacokinetics of enrofloxacin after single intravenous and intramuscular administration in young domestic ostrich (Struthio camelus). *J Vet Pharmacol Ther* 27, 2, 119-122.
- DIMITROVA, D. J., LASHEV, L. D., YANEV, S. G., PANDOVA, B. (2007): Pharmacokinetics of enrofloxacin in turkeys. *Res Vet Sci* 82, 3, 392-397.

- DIVERS, T., IRBY, N., MOHAMMED, H., SCHWARK, W. (2008): Ocular penetration of intravenously administered enrofloxacin in the horse. *Equine Vet J* 40, 2, 167-170.
- DONELEY, B. (2015): Dosierungsvorschläge. In B. Doneley (Hrsg.), *Vogelmedizin und Chirurgie in der tierärztlichen Praxis* (288). Frankfurt am Main. Edition Chimaira.
- DONNENFELD, E. D., COMSTOCK, T. L., PROKSCH, J. W. (2011): Human aqueous humor concentrations of besifloxacin, moxifloxacin, and gatifloxacin after topical ocular application. *J Cataract Refract Surg* 37, 6, 1082-1089.
- DONNENFELD, E. D., PERRY, H. D., SNYDER, R. W., MOADEL, K., ELSKY, M., JONES, H. (1997): Intracorneal, aqueous humor, and vitreous humor penetration of topical and oral ofloxacin. *Arch Ophthalmol* 115, 2, 173-176.
- DORRESTEIN, G. V., VAN GOGH, H., RINZEMA, J. (1984): Pharmacokinetic aspects of penicillins, aminoglycosides and chloramphenicol in birds compared to mammals. A review. *Vet Q* 6, 4, 216-224.
- EFSA. (2020). Antimicrobial resistance in the EU: infections with foodborne bacteria becoming harder to treat. Retrieved 03. März 2020, 2020, from <https://www.efsa.europa.eu/de/news/antimicrobial-resistance-eu-infections-foodborne-bacteria-becoming-harder-treat>
- EMMERSON, A., JONES, A. (2003): The quinolones: decades of development and use. *J Antimicrob Chemother* 51, suppl_1, 13-20.
- ERHARDT, W., BAUMGARTNER, C. (2012): Anästhesieregime. In W. Erhardt, J. Henke, J. Haberstroh, C. Baumgartner & S. Tacke (Hrsg.): *Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen* (327-348). Stuttgart. Schattauer GmbH.
- EVANS, W. M., BRUNER, D. W., PECKHAM, M. C. (1955): Blindness in chicks associated with salmonellosis. *Cornell Vet* 45, 2, 239-247.
- EVERETT, M. J., JIN, Y. F., RICCI, V., PIDDOCK, L. (1996): Contributions of individual mechanisms to fluoroquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother* 40, 10, 2380-2386.
- FINK, H., FREY, H. H. (2016a): Schicksal von Arzneimitteln im Organismus. In W. Löscher & A. Richter (Hrsg.): *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin* (31-47). Stuttgart, Deutschland. Enke Verlag in Georg Thieme Verlag KG.
- FINK, H., FREY, H. H. (2016b): Zeitlicher Verlauf der Arzneimittelkonzentrationen im Organismus (Pharmakokinetik). In W. Löscher & A. Richter (Hrsg.): *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin* (49-53). Stuttgart, Deutschland. Enke Verlag in Georg Thieme Verlag KG.
- FISCELLA, R. G., NGUYEN, T. K., CUIK, M. J., PHILLPOTTS, B. A., FRIEDLANDER, S. M., ALTER, D. C., SHAPIRO, M. J., BLAIR, N. P., GIESER, J. P. (1999): Aqueous and vitreous penetration of levofloxacin after oral administration. *Ophthalmology* 106, 12, 2286-2290.
- FISCHER, C. A. A. (2004). *Resistenzentwicklung von S. pneumoniae, S. pyogenes und anderer Streptokokken-Spezies gegenüber Fluorchinolonen*. Düsseldorf, Univ., Diss., 2004.
- FLAMMER, K. (2006): Antibiotic drug selection in companion birds. *J Exot Pet Med* 15, 3, 166-176.
- FLAMMER, K., AUCOIN, D. P., WHITT, D. A. (1991): Intramuscular and oral disposition of enrofloxacin in African grey parrots following single and multiple doses. *J Vet Pharmacol Ther* 14, 4, 359-366.
- FORD, M. M., DUBIELZIG, R. R., GIULIANO, E. A., MOORE, C. P., NARFSTRÖM, K. L. (2007): Ocular and systemic manifestations after oral administration of a high dose of enrofloxacin in cats. *Am J Vet Res* 68, 2, 190-202.
- FRAUNFELDER, F., BAGBY, G. C., KELLY, D. J. (1982): Fatal aplastic anemia following topical administration of ophthalmic chloramphenicol. *Am J Ophthalmol* 93, 3, 356-360.
- FRIEND, M., FRANSON, J. C., CIGANOVICH, E. A. (1999a): Avian cholera. In M. Friend & J. C. Franson (Hrsg.): *Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds* (75-92). Washington, DC. US Geological Survey.

- FRIEND, M., FRANSON, J. C., CIGANOVICH, E. A. (1999b): Salmonellosis. In M. Friend & J. C. Franson (Hrsg.): Field manual of wildlife diseases: general field procedures and diseases of birds (99-110). Washington, DC. US Geological Survey.
- FUCHS, K., RINDER, M., DIETRICH, R., BANSFACH, L., AMMER, H., KORBEL, R. (2022): Penetration of enrofloxacin in aqueous humour of avian eyes. *Vet. Sci.* 2023, 10(1), 5; <https://doi.org/10.3390/vetsci10010005>
- FÜSSLE, R. (2011): Prinzipien der Antibiotikatherapie. *Anästh Intensivmed* 52, 12, 896-910.
- GARCÍA OVANDO, H., GORLA, N., LUDERS, C., POLONI, G., ERRECALDE, C., PRIETO, G., PUELLES, I. (1999): Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin and ciprofloxacin in chickens. *J Vet Pharmacol Ther* 22, 3, 209-212.
- GELATT, K. N., VAN DER WOERDT, A., KETRING, K. L., ANDREW, S. E., BROOKS, D. E., BIROS, D. J., DENIS, H. M., CUTLER, T. J. (2001): Enrofloxacin-associated retinal degeneration in cats. *Vet Ophthalmol* 4, 2, 99-106.
- GROSS, W. (1957): Escherichia coli infection of the chicken eye. *Avian Dis* 1, 1, 36-41.
- GUM, G. G., GELATT, K. N., R. O. (1999): Physiology of the Eye. In K. N. Gelatt (Hrsg.), *Veterinary Ophthalmology* (151-181). Media, Pennsylvania, USA. Lippincott Williams & Wilkins.
- GUO, Q. J., HUANG, L. L., FANG, K., WANG, Y. L., CHEN, D. M., TAO, Y. F., DAI, M. H., LIU, Z. L., PENG, D. P., YUAN, Z. H. (2010): Population pharmacokinetics of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in chicken based on retrospective data, incorporating first-pass metabolism. *J Vet Pharmacol Ther* 33, 1, 84-94.
- HARITOVA, A., DIMITROVA, D., DINEV, T., MOUTAFCHIEVA, R., LASHEV, L. (2013): Comparative pharmacokinetics of enrofloxacin, danofloxacin, and marbofloxacin after intravenous and oral administration in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J Avian Med Surg* 27, 1, 23-31.
- HARITOVA, A., DJENEVA, H., LASHEV, L., SOTIROVA, P., GYUROV, B., DYANKOV, V., STEFANOVA, M. (2004): Pharmacokinetics and PK/PD modelling of enrofloxacin in *Meleagris gallopavo* and *Gallus domesticus*. *Bulg J Vet Med* 7, 3, 139-148.
- HARRENTSTIEN, L. A., TELL, L. A., VULLIET, R., NEEDHAM, M., BRANDT, C. M., BRONDOS, A., STEDMAN, B., KASS, P. H. (2000): Disposition of Enrofloxacin in Red-tailed Hawks (*Buteo jamaicensis*) and Great Horned Owls (*Bubo virginianus*) after a Single Oral, Intramuscular, or Intravenous Dose. *J Avian Med Surg* 14, 4, 228-236.
- HARRISON, T. M., DUBIELZIG, R. R., HARRISON, T. R., MCCLEAN, M. (2006): Enrofloxacin-induced retinopathy in a guanaco (*Lama guanicoe*). *J Zoo Wildl Med* 37, 4, 545-548.
- HAWKINS, M. G., SANCHEZ-MIGALLON GUZMAN, D., BEAUFRÈRE, H., LENNOX, A. M., CARPENTER, J. W. (2018): Birds. In J. W. Carpenter & C. J. Marion (Hrsg.): *Exotic Animal Formulary* (178-179). Elsevier Health Sciences.
- HEINEN, E., JONG, A. D., SCHEER, M. (1997): Antimicrobial activity of fluoroquinolones in serum and tissues in turkeys. *J Vet Pharmacol Ther* (United Kingdom).
- HOLMBERG, B. J. (2013): Ophthalmology of Exotic Pets. In D. J. Maggs, P. E. Miller & R. Ofri (Hrsg.): *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* (445-461). St. Louis, Missouri, USA. Elsevier Saunders.
- HOLTZAPPLE, C. K., BUCKLEY, S. A., STANKER, L. H. (2001): Determination of fluoroquinolones in serum using an on-line clean-up column coupled to high-performance immunoaffinity-reversed-phase liquid chromatography. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 754, 1, 1-9.
- INTORRE, L., MENGOZZI, G., BERTINI, S., BAGLIACCA, M., LUCHETTI, E., SOLDANI, G. (1997): The plasma kinetics and tissue distribution of enrofloxacin and its metabolite ciprofloxacin in the Muscovy duck. *Vet Res Commun* 21, 127-136.
- ITO, N., OKADA, H. (1993): Pharmacokinetics and tolerability of chloramphenicol in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J Vet Med Sci* 55, 3, 439-442.
- KALETA, E., NEUMANN, U. (2011): Augenerkrankungen. In E. Kaleta & M. E. Krautwald-Junghanns (Hrsg.): *Kompendium der Ziervogelkrankheiten* (85-86). Hannover, Deutschland. Schlütersche Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG.

- KAMPOUGERIS, G., ANTONIADOU, A., KAVOUKLIS, E., CHRYSSOULI, Z., GIAMARELLOU, H. (2005): Penetration of moxifloxacin into the human aqueous humour after oral administration. *Br J Ophthalmol* 89, 5, 628-631.
- KNOLL, U., GLUNDER, G., KIETZMANN, M. (1999): Comparative study of the plasma pharmacokinetics and tissue concentrations of danofloxacin and enrofloxacin in broiler chickens. *J Vet Pharmacol Ther* 22, 4, 239-246.
- KORBEL, R. (1992): Okulare Manifestationen systemischer Erkrankungen beim Vogelpatienten-Teil 1. *Tierärztl Prax* 20, 385-394.
- KORBEL, R. (1995): Augenkrankheiten bei Vögeln—Ätiologie und Klinik, Luftsack-Perfusionsanästhesie, ophthalmologische Photographie und Bildatlas der Augenkrankheiten bei Vögeln. *Vet. Med.*, München 1994.
- KORBEL, R. (2011). *Avian ophthalmology—principles and application*. Proc 32nd Ann AAV Conf Expo, Seattle, Washington, USA, 37-45.
- KORBEL, R., BRAUN, J. (1996): Further investigations on tonometry in avian ophthalmology using an electronic tonometer (Tonopen XL). *Isr J Vet Med* 51, 176-176.
- KRASTEV, Z., HARITOVA, A., LASHEV, L., HUBENOV, H. (2011): Enrofloxacin disposition in aqueous humour after subcutaneous administration in dogs. *Bulg J Vet Med* 14, 4, 221-230.
- KRAUTWALD, M., PIEPER, K., RULLOF, R., SCHMAHL, C., GOBEL, T., KALETA, E. (1990). Further experiences with the use of Baytril in pet birds. *Proc Annu Conf Assoc Avian Vet* 226-236.
- LASHEV, L. D., DIMITROVA, D. J., MILANOVA, A., MOUTAFCHIEVA, R. G. (2015): Pharmacokinetics of enrofloxacin and marbofloxacin in Japanese quails and common pheasants. *Br Poult Sci* 56, 2, 255-261.
- LEOPOLD, I. H. (1951): Clinical trial with chloramphenicol in ocular infections. *AMA Arch Ophthalmol* 45, 1, 44-52.
- LESK, M. R., AMMANN, H., MARCIL, G., VINET, B., LAMER, L., SEBAG, M. (1993): The penetration of oral ciprofloxacin into the aqueous humor, vitreous, and subretinal fluid of humans. *Am J Ophthalmol* 115, 5, 623-628.
- LIEBICH, H. G. (2010): Sinnesorgane (Organa sensuum). In H. G. Liebich (Hrsg.), *Funktionelle Histologie der Haussäugetiere und Vögel* (376-395). Hölderlinstraße 3, 70174 Stuttgart, Deutschland. Schattauer Verlag.
- LODE, H., BORNER, K., KOEPPE, P. (1998): Pharmacodynamics of fluoroquinolones. *Clin Infect Dis* 27, 1, 33-39.
- LOPEZ-CADENAS, C., SIERRA-VEGA, M., GARCIA-VIEITEZ, J. J., DIEZ-LIÉBANA, M. J., SAHAGUN-PRIETO, A., FERNANDEZ-MARTINEZ, N. (2013): Enrofloxacin: Pharmacokinetics and metabolism in domestic animal species. *Curr Drug Metab* 14, 10, 1042-1058.
- MACHIDA, M., KUSAJIMA, H., AIJIMA, H., MAEDA, A., ISHIDA, R., UCHIDA, H. (1990): Toxicokinetic study of norfloxacin-induced arthropathy in juvenile animals. *Toxicol Appl Pharmacol* 105, 3, 403-412.
- MAGGS, D. J. (2008): Ocular Pharmacology and Therapeutics. In D. J. Maggs, P. E. Miller & R. Ofri (Hrsg.): *Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology* (27-59). St. Louis, Missouri, USA. Elsevier Saunders.
- MASLANKA, T., JAROSZEWSKI, J. J., MIKOLAJCZYK, A., ROTKIEWICZ, T. (2009): Effect of increasing doses of enrofloxacin on chicken articular cartilage. *Pol J Vet Sci* 12, 1, 21-33.
- MCCULLEY, J. P., CAUDLE, D., ARONOWICZ, J., SHINE, W. (2006): Fourth-generation fluoroquinolone penetration into the aqueous humor in humans. *Ophthalmology* 113, 6, 955-959.
- MCGHEE, C., ANASTAS, C. N. (1996): Widespread ocular use of topical chloramphenicol: is there justifiable concern regarding idiosyncratic aplastic anaemia? *Br J Ophthal* 80, 2, 182-184.
- MITCHELL, M. A. (2006): Enrofloxacin. *J Exot Pet Med* 15, 1, 66-69.
- MOORE, B. A., FERNANDEZ-JURICIC, E., HAWKINS, M. G., MONTIANI-FERREIRA, F., RIBAS LANGE, R. (2022): Introduction to Ophthalmology of Aves. In F. Montiani-Ferreira, B. A. Moore & G. Ben-Shlomo (Hrsg.): *Wild and Exotic Animal Ophthalmology* (321-348). Gewerbestraße 11, 6330 Cham, Schweiz. Springer Nature Switzerland AG 2022.

- MOORE, B. A., MONTIANI-FERREIRA, F. (2022): Ophthalmology of Accipitrimorphae, Strigidae, and Falconidae: Hawks, Eagles, Vultures, Owls, Falcons, and Relatives. In F. Montiani-Ferreira, B. A. Moore & G. Ben-Shlomo (Hrsg.): Wild and Exotic Animal Ophthalmology (429-504). Gewerbestraße 11, 6330 Cham, Schweiz. Springer Nature Switzerland AG 2022.
- MORROW, C. J., KREIZINGER, Z., ACHARI, R. R., BEKŐ, K., YVON, C., GYURANECZ, M. (2020): Antimicrobial susceptibility of pathogenic mycoplasmas in chickens in Asia. *Vet Microbiol* 250, 108840.
- MURPHY, C., KERN, T., MCKEEVER, K., MCKEEVER, L., MACCOY, D. (1982): Ocular lesions in free-living raptors. *J Am Vet Med Assoc* 181, 11, 1302-1304.
- NAKAMURA, K., ABE, F. (1987): Ocular lesions in chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Can J Vet Res* 51, 4, 528.
- NAKAMURA, K., MASE, M., TANIMURA, N., YAMAGUCHI, S., NAKAZAWA, M., YUASA, N. (1997): Swollen head syndrome in broiler chickens in Japan: Its pathology, microbiology and biochemistry. *Avian Pathol* 26, 1, 139-154.
- NUNOYA, T., YAGIHASHI, T., TAJIMA, M., NAGASAWA, Y. (1995): Occurrence of keratoconjunctivitis apparently caused by *Mycoplasma gallisepticum* in layer chickens. *Vet Pathol* 32, 1, 11-18.
- OLSON, L. (1981): Ophthalmia in turkeys infected with *Pasteurella multocida*. *Avian Dis* 25, 423-430.
- OOMORI, Y., YASUE, T., AOYAMA, H., HIRAI, K., SUZUE, S., YOKOTA, T. (1988): Effects of fleroxacin on HeLa cell functions functions and topoisomerase II. *J Antimicrob Chemother* 22, Suppl_D, 91-97.
- PALLO-ZIMMERMAN, L. M., BYRON, J. K., GRAVES, T. K. (2010): Fluoroquinolones: then and now. *Compend Contin Educ Vet* 32, 7, E1-9.
- PIDDOCK, L. J. (1995): Mechanisms of resistance to fluoroquinolones: state-of-the-art 1992–1994. *Drugs* 49, Suppl 2, 29-35.
- POPP, M., GERHARDS, H., WOLLANKE, B. (2013): Enrofloxacin-konzentrationen im Glaskörper und im Serum an equiner rezidivierender Uveitis (ERU) erkrankter Pferde nach wiederholter intravenöser Verabreichung. *Pferdeheilkunde* 29, 574-580.
- POWERS, L., HUNTERVILLE, N. (2015): Avian Ophthalmology. *Carolina Vet Specialists* 16, 11, 3.
- PRESCOTT, J. F., YIELDING, K. M. (1990): In vitro susceptibility of selected veterinary bacterial pathogens to ciprofloxacin, enrofloxacin and norfloxacin. *Can J Vet Res* 54, 1, 195.
- REESE, S., HEGNER, K., KORBEL, R. (1998): Zur Anatomie des Ziliarkörpers und der Kammerwinkelregion von Greifvogelaugen als Grundlage für die Gonioskopie. XI. Tagung der Fachgruppe Geflügelkrankheiten der DVG, Tauben, sowie klinische und mikrobiologische Laboratoriumsdiagnostik in der Vogelpraxis, München, 5. - 6. März 1998, 231-237.
- REESE, S., KORBEL, R., LIEBICH, H. G. (2016): The eye (organum visus). In H. E. König, R. Korbel & H. G. Liebich (Hrsg.): *Avian Anatomy - Textbook and Colour Atlas* (224-231). Sheffield, UK. 5m Publishing.
- REGNIER, A., CONCORDET, D., SCHNEIDER, M., BOISRAMÉ, B., TOUTAIN, P.-L. (2003): Population pharmacokinetics of marbofloxacin in aqueous humor after intravenous administration in dogs. *Am J Vet Res* 64, 7, 889-893.
- REGNIER, A., SCHNEIDER, M., CONCORDET, D., TOUTAIN, P.-L. (2008): Intraocular pharmacokinetics of intravenously administered marbofloxacin in rabbits with experimentally induced acute endophthalmitis. *Am J Vet Res* 69, 3, 410-415.
- REYNOLDS, T., BARNES, H., WOLFE, B., LU, L., CAMP, D., MALARKEY, D. (2009): Case Report: Bilateral Nocardial Endophthalmitis in a Prothonotary Warbler (*Protonotaria citrea*). *Vet Pathol* 46, 1, 120-123.
- RICHTER, A., SCHERKL, R. (2016a): Allgemeine Charakteristika von Antibiotika und Begriffsbestimmungen. In W. Löscher & A. Richter (Hrsg.): *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin* (404-409). Stuttgart. Enke Verlag Stuttgart.
- RICHTER, A., SCHERKL, R. (2016b): Chinolone (Gyrasehemmer). In W. Löscher & A. Richter (Hrsg.): *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie für die Veterinärmedizin* (444-448). Stuttgart, Deutschland. Enke Verlag in Georg Thieme Verlag KG.

- ROBERTSON, S. M., CURTIS, M. A., SCHLECH, B. A., RUSINKO, A., OWEN, G. R., DEMBINSKA, O., LIAO, J., DAHLIN, D. C. (2005): Ocular pharmacokinetics of moxifloxacin after topical treatment of animals and humans. *Surv Ophthalmol* 50, 6, S32-S45.
- ŞAROĞLU, M., ERDIKMEN, D. O. (2008): Retinal degeneration due to enrofloxacin intoxication in a cat. *Turk J Vet Animal Sci* 32, 5, 403-406.
- SCOPER, S. V. (2008): Review of third-and fourth-generation fluoroquinolones in ophthalmology: in-vitro and in-vivo efficacy. *Adv Therap* 25, 979-994.
- SENTHIL KUMAR, P., ARIVUCHELVAN, A., JAGADEESWARAN, A., PUNNIAMURTHY, N., SELVARAJ, P., RICHARD JAGATHEESAN, P., MEKALA, P. (2015): Formulation of enrofloxacin SLNs and its pharmacokinetics in emu (*Dromaius novaehollandiae*) birds. *Appl Nanosci* 5, 661-671.
- SFEIR, H.-P. (2018). Der Einfluss Plasmid-vermittelter Chinolon-Resistenzmechanismen (PMQR) auf die Entstehung klinischer Fluorchinolon-Resistenz. Diss Univ Hamburg.
- SHIVAPRASAD, H. L. (1999): Poultry Ophthalmology. In K. N. Gelatt (Hrsg.), *Veterinary Ophthalmology* (1177-1207). Media, Pensilvania, USA. Lippincott Williams & Wilkins.
- SHIVAPRASAD, H. L., MONTIANI-FERREIRA, F., MOORE, B. A. (2022): Ophthalmology of Galloanserae: Fowl, Waterfowl, & Relatives. In F. Montiani-Ferreira, B. A. Moore & G. Ben-Shlomo (Hrsg.): *Wild and Exotic Animal Ophthalmology* (571-626). Gewerbestraße 11, 6330 Cham, Schweiz. Springer Nature Switzerland AG.
- SILVA, E., HIPOLITO, O., GRECCHI, R. (1980): Natural and experimental *Salmonella arizonae* 18: z4, z32 (Ar. 7: 1, 7, 8) infection in broilers. Bacteriological and histopathological survey of eye and brain lesions. *Avian Dis* 24, 631-636.
- SLANA, M., PAHOR, V., CVITKOVIC MARICIC, L., SOLLNER-DOLENC, M. (2014): Excretion pattern of enrofloxacin after oral treatment of chicken broilers. *J Vet Pharmacol Ther* 37, 6, 611-614.
- STAHLMANN, R. (2002): Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones. *Toxicol Lett* 127, 1-3, 269-277.
- STRAUSS, J. (1967): Microbiologic and epidemiologic aspects of duck ornithosis in Czechoslovakia. *Am J Ophthalmol* 63, 5, 1246-1259.
- SUHREN, G., HAMMER, P., HEESCHEN, W. (1996, 6-8 May, 1996). Detection of residues of quinolones in milk. Euroresidue III: conference on residues of veterinary drugs in food, RIVM, Bilthoven., 77
- TAVÍO, M. D. M., VILA, J., RUIZ, J., RUIZ, J., MARTÍN-SÁNCHEZ, A. M., DE ANTA, M. T. J. (1999): Mechanisms involved in the development of resistance to fluoroquinolones in *Escherichia coli* isolates. *J Antimicrob Chemother* 44, 6, 735-742.
- TOMI, M., HOSOYA, K.-I. (2010): The role of blood–ocular barrier transporters in retinal drug disposition: an overview. *Expert Opin Drug Metabol Toxicol* 6, 9, 1111-1124.
- VANCUTSEM, P., BABISH, J., SCHWARK, W. (1990): The fluoroquinolone antimicrobials: structure, antimicrobial activity, pharmacokinetics, clinical use in domestic animals and toxicity. *Cornell Vet* 80, 2, 173-186.
- VETIDATA. (2023). VETIDATA. Retrieved 20. Februar 2023, 2023, from <https://vetidata.de/>
- WESTERMEYER, H. D., HENDRIX, D. V., WARD, D. A., COX, S. K. (2011): Tear, cornea, and aqueous humor concentrations of ciprofloxacin and moxifloxacin after topical ocular application in ophthalmologically normal horses. *Am J Vet Res* 72, 3, 398-403.
- WIEBE, V., HAMILTON, P. (2002): Fluoroquinolone-induced retinal degeneration in cats. *J Am Vet Med Assoc* 221, 11, 1568-1571.
- WILLIS, A. M., WILKIE, D. A. (1999): Avian ophthalmology, part 2: review of ophthalmic diseases. *J Avian Med Surg*, 245-251.
- WISELY, C. E., SAYED, J. A., TAMEZ, H., ZELINKA, C., ABDEL-RAHMAN, M. H., FISCHER, A. J., CEBULLA, C. M. (2017): The chick eye in vision research: An excellent model for the study of ocular disease. *Prog Retin Eye Res* 61, 72-97.
- WOAH. (2023). Antimicrobial Resistance. World Organisation of Animal Health. Retrieved 20. Februar 2023, 2023, from <https://www.woah.org/en/what-we-do/global-initiatives/antimicrobial-resistance/>

- WRIGHT, D. H., BROWN, G. H., PETERSON, M. L., ROTSCHAFER, J. C. (2000): Application of fluoroquinolone pharmacodynamics. *J Antimicrob Chemother* 46, 5, 669-683.
- YUNIS, A. A. (1989): Chloramphenicol toxicity: 25 years of research. *Am J Med* 87, 3N, 44N-48N.

IX. Danksagung

Mein erster Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. Rüdiger Korbel für die Möglichkeit, ein Dissertationsprojekt an seinem Institut anfertigen zu dürfen, für die Zuweisung dieses interessanten Themas und seine umfangreiche fachliche Expertise.

Ein riesengroßes Dankeschön geht auch an meine Co-Betreuerin, Frau Prof. Dr. Monika Rinder, die mich mit unendlich viel Geduld, Zeit und Engagement bei diesem Projekt unterstützt hat und mir in schwierigen Zeiten den nötigen Anschub und das nötige Selbstbewusstsein gab. Ich hätte mir keine bessere Co-Betreuung wünschen können und bin Dir für alles unendlich dankbar!

Herrn Prof. Dr. Ammer danke ich für die großartige fachliche Unterstützung, was den pharmakologischen Background der Arbeit betrifft.

Ein ganz spezieller Dank geht an Herrn Prof. Dr. Dr. Erwin Märtlbauer und die Mitarbeiter des Lehrstuhles für Hygiene und Technologie der Milch, die mir die Analysen der Blut- und Kammerwasserproben in ihrem Hause ermöglichten. An dieser Stelle möchte ich besonders Herrn Dr. Richard Dietrich und Frau Brunhilde Minich hervorheben, die mich geduldig in die Laborarbeiten einwiesen, mich bei der Durchführung und Auswertung unterstützten und mir in meiner Zeit dort täglich mit Rat und Tat zur Seite standen.

Frau Leena Banspach vom LGL Erlangen möchte ich für die LC-MS/MS- Analysen zur Bestimmung der Ciprofloxacin-Konzentrationen und die von ihr in diesem Zusammenhang bereitgestellte fachliche Expertise ganz herzlich danken.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei Katayoon Ghaffari bedanken, die mich in der ersten Phase des praktischen Teils meiner Arbeit großartig unterstützt und mir zum Teil bis spät in die Nacht eine helfende Hand bei der Beprobung der Versuchstiere geliehen hat.

Danke an all die Helferlein, die mich immer wieder direkt oder indirekt bei der Versorgung der Versuchstiere unterstützt haben.

Außerdem möchte ich mich natürlich bei meinen Eltern, meiner ganzen Familien und meinen Freunden für die Unterstützung, das Mitfiebern, Mitfreuen und die aufmunternden Worte bedanken.

Mi último gran agradecimiento es para ti, mi amor, por todos estos años de apoyo, de ánimos, de comprensión. Por creer en mi y por acompañarme en todos los altibajos, por alegrarte conmigo y sufrir conmigo. Eres el mejor! Gracias!