

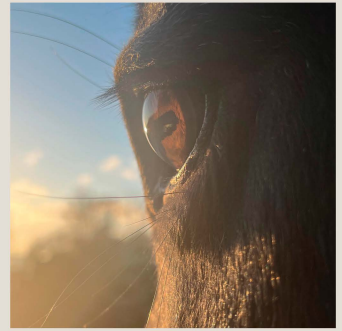
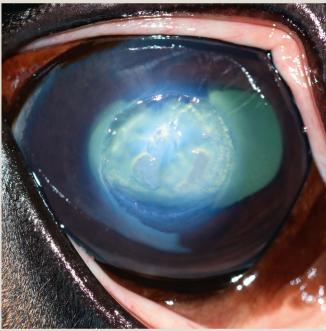
Wissenschaftliche Reihe der Klinik für Pferde

Herausgegeben von
Karsten Feige, Harald Sieme, Florian Geburek,
Sabine Kästner, Bernhard Ohnesorge



Leonie Maria Stolle

***In vitro*-Untersuchungen zu antiseptischen Therapieansätzen bei der infektiösen Keratitis des Pferdes**



STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER

73



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

Leonie Maria Stolle

In vitro-Untersuchungen zu antiseptischen Therapieansätzen bei der infektiösen Keratitis des Pferdes



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

Impressum

Reihe: Wissenschaftliche Reihe der Klinik für Pferde, Bd. 73

Titel des Werkes: *In vitro*-Untersuchungen zu antiseptischen Therapieansätzen bei der infektiösen Keratitis des Pferdes

Autorin: Leonie Maria Stolle

Cuvillier Verlag GmbH

Nonnenstieg 8

37075 Göttingen

Telefon: 0049-551-547240

Webseite: www.cuvillier.de **E-Mail:** info@cuvillier.de

Bibliografische Informationen der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.dnb.de> abrufbar.

1. Auflage, Göttingen, 2026

Zugl.: Tierärztliche Hochschule Hannover, 2026

Diese Publikation wurde durch Mittel aus dem Publikationsfonds NiedersachsenOPEN unterstützt, der von [zukunft.niedersachsen](http://www.zukunft.niedersachsen.de) finanziert wird.

© Cuvillier Verlag GmbH, Göttingen

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> Sie können das Material frei weiterverbreiten und bearbeiten, auch für kommerzielle Zwecke, sofern Sie die Quelle ordnungsgemäß angeben. Sie müssen außerdem einen Link zur Lizenz angeben und auf Änderungen hinweisen. Alle Rechte an Inhalten, die nicht unter diese Lizenz fallen, bleiben vorbehalten.

Gedruckt auf umweltfreundlichem, säurefreiem Papier aus nachhaltiger Forstwirtschaft.

ISSN 2194-6647 (Print)

ISSN 3053-8947 (Online)

ISBN 978-3-68952-525-5

eISBN 978-3-68952-526-2

ORCID 0009-0008-1542-4101

DOI 10.61061/ISBN_9783689525255

Tierärztliche Hochschule Hannover

***In vitro*-Untersuchungen zu antiseptischen Therapieansätzen bei der infektiösen Keratitis des Pferdes**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades

Doctor medicinae veterinariae
(Dr. med. vet.)

vorgelegt von
Leonie Maria Stolle
Wildeshausen

Hannover 2026

Wissenschaftliche Betreuung:

1. Prof. Dr. med. vet. Bernhard Ohnesorge
Klinik für Pferde
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
2. Dr. med. vet. Claudia Busse
Klinik für Kleintiere
Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover

- | | |
|---------------|--|
| 1. Gutachter: | Prof. Dr. med. vet. Bernhard Ohnesorge |
| 2. Gutachter: | Prof. Dr. rer. nat. Lothar Kreienbrock |

Tag der mündlichen Prüfung: 28.04.2026

Meiner Familie

Teile der vorliegenden Dissertation wurden bereits publiziert oder in wissenschaftlichen Vorträgen vorgestellt:

Wissenschaftliche Vorträge:

Aktuelle antibiotische Resistenzlage und Wirksamkeit von Antiseptika bei häufig auftretenden Bakterien aus equinen infektiösen Keratitiden – Methodik

Vortrag im Rahmen des Klinikseminars der Klinik für Pferde, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 12.11.2024, Hannover

Aktuelle antibiotische Resistenzlage und Wirksamkeit von Antiseptika bei häufig auftretenden Bakterien aus equinen infektiösen Keratitiden – Methodik

Vortrag im Rahmen des Pharmakologischen Kolloquiums des Instituts für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie, Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover, 27.11.2024, Hannover

Polyhexanide, povidone-iodine and hypochlorous acid show high antimicrobial efficacy against pathogens commonly associated with equine infectious keratitis – Ergebnisse

Vortrag auf dem Kongress des *European College Veterinary Ophthalmology (ECVO)*, 22.05.2025-25.05.2025, Edinburgh, Scotland (Präsentation am 23.05.2025)

Publikation in einem peer-reviewed Journal:

Stolle L, Oltmanns H, Meißner J, Heun F, Schieder A, Ohnesorge B, Busse C: **Polyhexanide, povidone-iodine and hypochlorous acid show high antimicrobial efficacy against pathogens commonly associated with equine infectious keratitis**
Journal: *Veterinary Ophthalmology*

Article DOI: 10.1111/vop.70141, Article ID: VOP70141, Internal Article ID: 100453698

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Allgemeine Anatomie und funktionelle Grundlagen des Pferdeauges	3
2.1.1	Die Kornea im Detail	3
2.1.2	Strukturorganisation der Kornea.....	4
2.1.2.1	Das Epithel.....	4
2.1.2.2	Das Stroma	5
2.1.2.3	Das Endothel.....	5
2.1.3	Innervation und sensorische Funktion	6
2.1.4	Immunologische Besonderheiten	6
2.1.5	Zelluläre Organisation	7
2.1.6	Wundheilungsgrundlagen.....	8
2.1.7	Physiologische Mikroflora der okulären Oberfläche	8
2.2	Korneale Erkrankungen des Pferdes.....	9
2.2.1	Überblick Pathologien	10
2.2.2	Keratitis des Pferdes	10
2.2.2.1	Definition und Einteilung infektiöser Keratitiden	11
2.2.2.2	Equine bakterielle ulzerative Keratitis	11
2.2.2.3	Prädisponierende Faktoren und Pathogenese.....	12
2.2.2.4	Klinische Symptomatik	13
2.2.2.5	Diagnostik	14
2.2.2.6	Ätiologie und bakterielles Erregerspektrum	15
2.3	Therapeutische Konzepte Keratitis.....	16
2.3.1	Grundprinzipien.....	16
2.3.2	Antimikrobielle Therapie.....	16
2.3.3	Ergänzende und unterstützende Therapiestrategien	18
2.3.3.1	Kontrolle der Proteolyse	18
2.3.3.2	Entzündungs- und Schmerzmanagement.....	19
2.3.3.3	Chirurgische Therapie	19
2.3.4	Prognostische Bedeutung der Therapie	20
2.4	Grenzen der antibiotischen Therapie und Resistenzproblematik.....	20
2.4.1	Einfluss topischer Antibiotika auf die okuläre Mikroflora	20
2.4.2	Resistenzlage vorkommender Bakterien	21
2.4.3	Fokus auf methicillin-resistente Staphylococcus aureus-Stämme	22

2.4.4	Auswirkungen auf die Therapie und den One-Health-Ansatz	23
2.5	Nicht-antibiotische antimikrobielle Substanzen.....	24
2.5.1	Grundlagen antiseptischer Wirkstoffe und Mechanismen	24
2.5.2	Povidon-Iod.....	25
2.5.2.1	Physikalisch-chemische Wirkweise	25
2.5.2.2	Anwendung und Verträglichkeit	25
2.5.3	Hypochlorige Säure.....	26
2.5.3.1	Physikalisch-chemische Wirkweise	26
2.5.3.2	Anwendung und Verträglichkeit	27
2.5.4	Polyhexanid	28
2.5.4.1	Physikalisch-chemische Wirkweise	28
2.5.4.2	Anwendung und Verträglichkeit	29
2.6	Forschungslücken.....	30
3	Zielsetzung und Hypothese der Arbeit	31
4	Eigene Untersuchungen	32
4.1	Abstract.....	33
4.2	Publikation	35
5	Diskussion.....	51
5.1	Einordnung der Ergebnisse.....	51
5.1.1	Klinische Bedeutung	52
5.2	Übertragbarkeit auf die klinische Situation	53
5.2.1	Kontaktzeit, Retention und Verdünnung.....	53
5.2.2	Einfluss von Proteinlast, pH und okulärem Milieu	54
5.2.3	Begrenzte stromale Penetration	55
5.3	Erregerspektrum und biologische Einordnung.....	56
5.3.1	Repräsentativität des untersuchten Erregerspektrums	56
5.3.2	Bedeutung mykotischer Erreger	57
5.4	Biofilmbildung bei der equinen infektiösen Keratitis.....	57
5.4.1	Relevanz der Biofilme	57
5.4.2	Wirksamkeit der Antiseptika gegenüber Biofilmen.....	58
5.5	Methodische Einordnung der Studie	59
5.6	Klinische Perspektive und Ausblick.....	61
5.6.1	Praktische Umsetzung im klinischen Alltag	61
5.6.2	Vergleich mit anderen Antiseptika	62

5.6.3	Einordnung im Kontext von One Health	64
5.7	Ausblick	65
6	Zusammenfassung.....	67
7	Summary.....	69
8	Verwendung von künstlicher Intelligenz	71
9	Literaturverzeichnis	73
10	Danksagung.....	95

Abkürzungsverzeichnis

ABCG2	ATP-binding-cassette sub-family G
<i>B. cereus</i>	Bacillus cereus
bFGF	basic Fibroblast Growth Factor
CFU	Colony Forming Units
CFU/mL	Colony Forming Units per milliliter
CK14	Cytokeratin 14
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
cm	Zentimeter
cm ³	Kubikzentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DMSZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
DSM	Stammnummer nach DMSZ
<i>E. hormaechei</i>	Enterobacter hormaechei
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
EGF	Epidermal Growth Factor
EMA	European Medicines Agency
EU	Europäische Union
g	Gramm
HOCl	Hypochlorige Säure
IL-1	Interleukin-1
KBE/mL	Koloniebildende Eineiten pro Milliliter
L	Liter
<i>mecA</i> -Gen	Methicillin-resistance gene A
MBC	Minimal Bactericidal Concentration
mg	Milligramm
mg/L	Milligramm pro Liter
mL	Milliliter
mm	Millimeter
mm ³	Kubikmillimeter
MHC	Major Histocompatibility Complex
MHK	Minimale Hemmkonzentration
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
µg	Mikrogramm

Abkürzungsverzeichnis

µg/mL	Mikrogramm pro Milliliter
µL	Mikroliter
NGS	Next-Generation-Sequencing
nm	Nanometer
p63	Tumor Protein p63
pH	pH-Wert
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PHMB	Polyhexamethylenbiguanid
ppm	Parts per million / Teile pro Million
PVP-I	Polyvinylpyrrolidon-Iod
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. zooepidemicus</i>	<i>Streptococcus equi</i> subspezies <i>zooepidemicus</i>
spp.	Spezies
subsp.	Subspezies
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta
TNF-α	Tumornekrosefaktor alpha
V1–V8	Verdünnungsstufen 1–8
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization

1 Einleitung

Erkrankungen der Kornea gehören zu den häufigsten ophthalmologischen Krankheitsbildern beim Pferd und besitzen aufgrund der zentralen Bedeutung der Hornhaut für die Sehfunktion eine hohe klinische Relevanz (Clode & Matthews, 2011). Ulzerative, infektiöse Keratitiden stellen dabei potenziell seh- und bulbusedrohende Erkrankungen dar, die häufig mit starker Schmerzsymptomatik, raschem Voranschreiten und dem Risiko bleibender struktureller Schäden einhergehen (Andrew et al., 1998; Clode, 2010; Strubbe et al., 2000). Ein frühzeitiges und konsequentes therapeutisches Vorgehen ist daher entscheidend für den Erhalt der kornealen Transparenz und der allgemeinen visuellen Funktion.

Die anatomischen Gegebenheiten des equinen Auges bedingen eine erhöhte Anfälligkeit der Kornea für mechanische Einwirkungen und daraus resultierende Schädigungen. Insbesondere die seitliche Lage der Augen am Kopf sowie die vergleichsweise große okuläre Oberfläche begünstigen das Auftreten von Hornhautverletzungen. Zusätzlich trägt die Lebensweise des Pferdes als Fluchttier zu einem erhöhten Risiko für okuläre Traumata bei (Clode & Matthews, 2011). Dementsprechend kommt es häufig zu oberflächlichen Verletzungen der Kornea, wodurch die physiologische Barrierefunktion beeinträchtigt werden kann. In der Folge wird das Eindringen mikrobieller Erreger begünstigt. Im weiteren Verlauf können entzündliche Prozesse sowie proteolytische Abbauvorgänge im Hornhautstroma einsetzen, die die Entstehung und Progression ulzerativer, infektiöser Läsionen fördern (Andrew et al., 1998; Clode & Matthews, 2011; Ollivier et al., 2007).

Die Therapie der infektiösen Keratitis beim Pferd ist aufgrund des häufig rasch progredienten Verlaufs und des heterogenen bakteriellen Erregerspektrums besonders anspruchsvoll. In der klinischen Praxis ist daher häufig eine sofortige empirische antimikrobielle Behandlung erforderlich, noch bevor mikrobiologische Ergebnisse vorliegen (Clode, 2010; Matthews, 2009). Gleichzeitig limitieren zunehmende antimikrobielle Resistenzen die Wirksamkeit etablierter Therapiekonzepte und erschweren eine gezielte Wirkstoffauswahl (Foote et al., 2023; Vercruyse et al., 2022; Verdenius et al., 2024).

Vor dem Hintergrund der zunehmenden Verbreitung antimikrobieller Resistenzen, regulatorischer Einschränkungen beim generellen Antibiotikaeinsatz sowie der wachsenden Bedeutung des One-Health-Ansatzes geraten etablierte therapeutische Konzepte bei infektiösen Hornhauterkrankungen zunehmend unter Druck (Hellander Edman et al., 2019; Raidal, 2019; Sauer et al., 2003). Es gewinnen antibiotikasparende und ergänzende Strategien deutlich an Relevanz. Insbesondere lokal applizierbare, nicht antibiotische antimikrobielle beziehungsweise antiseptische Substanzen rücken verstärkt in den Fokus, da sie ein breites Wirkspektrum aufweisen und unabhängig von klassischen Resistenzmechanismen eingesetzt werden können. Vor allem Povidon-Iod (PVP-I), hypochlorige Säure (HOCl) und Polyhexanid (PHMB) werden

in der aktuellen Literatur zunehmend als vielversprechende Alternativen oder adjuvante Therapieoptionen bei infektiösen Hornhauterkrankungen diskutiert.

Im Folgenden werden die anatomischen und physiologischen Grundlagen der equinen Kornea dargestellt. Die Pathogenese und klinischen Charakteristika kornealer Erkrankungen werden mit besonderem Schwerpunkt auf der infektiösen und bakteriellen ulzerativen Keratitis zusammengefasst. Zudem werden etablierte therapeutische Konzepte kritisch beleuchtet.

Aufbauend darauf werden ausgewählte antiseptische Substanzen hinsichtlich ihrer Wirkmechanismen, Anwendungsmöglichkeiten und okulären Verträglichkeit dargestellt, um eine strukturierte Grundlage für die Bewertung antibiotikasparenden oder ergänzender Therapiestrategien zu schaffen.

2 Literaturübersicht

2.1 Allgemeine Anatomie und funktionelle Grundlagen des Pferdeauges

Das Sehorgan des Pferdes reagiert auf Lichtreize im sichtbaren Wellenlängenbereich zwischen etwa 400–700 nm und weist artspezifische Besonderheiten, darunter beispielsweise ein dichromatisches Farbsehen sowie eine funktionelle Anpassung an geringe Lichtintensitäten, auf (Macuda & Timney, 1999). Es ermöglicht sowohl die Orientierung im Nah- als auch im Fernbereich und umfasst neben dem Augapfel (Bulbus) den Sehnerven, die zentralen Sehbahnen sowie die kortikalen Sehzentren. Die seitliche Anordnung der Augen am Kopf des Pferdes führt zur Ausbildung ausgeprägter monokularer Sehfelder mit einer Divergenz der Augenachsen von etwa 90° und ermöglicht dadurch ein weitreichendes panoramisches Sichtfeld (Nickel et al., 2004).

Der Augapfel ist in der knöchernen Orbita positioniert und wird dort durch ein retrobulbäres Fettpolster sowie die Periorbita stabilisiert. Der nach außen exponierte Anteil des Bulbus ist äußeren Einwirkungen ausgesetzt, wird jedoch durch die Augenlider geschützt, die über den Lidschlussreflex eine wirksame Barriere gegenüber mechanischen, optischen und chemischen Reizen darstellen. Ergänzend übernehmen Bindehaut und Tränenapparat eine schützende Funktion, indem ihre Sekrete die vordere Bulbusoberfläche befeuchten, reinigen und zur Stabilität des Tränenfilms beitragen (Liebich & König, 2005; Nickel et al., 2004).

Morphometrisch weist der equine Augapfel einen mittleren Längs-, Quer- und Vertikaldurchmesser von etwa 42,4 : 49,8 : 45,0 mm auf (Nickel et al., 2004) und ist damit insgesamt breiter als hoch. Das Bulbusvolumen liegt zwischen 38,0 und 57,7 cm³ (Clode & Matthews, 2011). Der Augapfel stellt einen Hohlraum dar, der mit lichtbrechenden Medien unterschiedlicher Konsistenz gefüllt ist. Anatomisch wird der Bulbus von drei konzentrisch angeordneten Häuten gebildet: Der inneren Augenhaut (Tunica interna bulbi, Retina), der mittleren Augenhaut (Tunica vasculosa bulbi, bestehend aus Choroidea, Corpus ciliare und Iris) sowie der äußeren Augenhaut (Tunica fibrosa bulbi), die sich aus der Lederhaut (Sklera) und der transparenten Hornhaut (Kornea) zusammensetzt.

2.1.1 Die Kornea im Detail

Die Kornea bildet den vordersten Abschnitt der äußeren Augenhaut und stellt die zentrale optische Grenzfläche zwischen der Umwelt und den intraokulären Strukturen dar. Aufgrund des ausgeprägten Brechungsindexunterschieds an der Luft-Kornea-Grenzfläche trägt sie maßgeblich zur Gesamtbrechkraft des Auges bei (Clode & Matthews, 2011). Gleichzeitig fungiert sie als mechanische, immunologische und metabolische Barriere (Clode & Matthews, 2011; Tóth et al., 2010).

Beim Pferd besitzt die Kornea eine querovale bis eiförmige Gestalt, wobei der stumpfe Pol nasal und der spitze Pol temporal lokalisiert ist (Nickel et al., 2004; Tóth et al., 2010). Dorsal und ventral wird sie stärker von der Sklera überlappt als in den horizontalen Meridianen (Nickel et al., 2004). Diese Form- und Lagebeziehungen beeinflussen sowohl die biomechanischen Eigenschaften als auch die optische Abbildung (Clode & Matthews, 2011; Nickel et al., 2004). Die Kornea zeigt altersabhängige Größenveränderungen. Beim adulten Pferd beträgt der horizontale Durchmesser etwa 29,7–34,0 mm, während der vertikale Durchmesser zwischen 23,0 und 26,5 mm liegt. Bei jüngeren Pferden sind geringere Maße beschrieben, mit horizontalen Durchmessern von 20,5–26,6 mm und vertikalen Durchmessern von 19,5–24,0 mm (Clode & Matthews, 2011; Ramsey et al., 1999). Eine Zunahme der Korneagröße kann bis zum fünften beziehungsweise siebten Lebensjahr festgestellt werden (Plummer et al., 2003).

2.1.2 *Strukturorganisation der Kornea*

Die Transparenz der Kornea ist das Ergebnis eines sensiblen Zusammenspiels zwischen ihrer hochgeordneten Gewebestruktur, der streng kontrollierten Hydratationsbalance und einer ausreichenden metabolischen Versorgung. Untersuchungen an enukleierten equinen Augen zeigen, dass die zentrale Kornea im Bereich des Vertex corneae dünner ausgeprägt ist als die peripheren Abschnitte am Limbus corneae. Darüber hinaus sind dorsale und ventrale Bereiche signifikant dicker als zentrale und laterale Areale (Andrew et al., 2001). Die mittlere Gesamtdicke der equinen Kornea liegt dabei im Bereich von etwa 835–893 μm (Andrew et al., 2001; Ledbetter & Scarlett, 2009).

Unabhängig von Alter und Geschlecht bleibt die Gesamtdicke der Kornea weitgehend konstant. Eine Ausnahme stellen Rocky-Mountain-Pferde dar, bei denen die Korneadicke mit dem Alter zunimmt (Ramsey et al., 1999). Im Vergleich zu anderen Säugetierarten ist die Kornea des Pferdes relativ flach gekrümmt und weist eine durchschnittliche Brechkraft von rund 16,46 \pm 1,5 Dioptrien auf (Clode & Matthews, 2011).

Auf histologischer Ebene zeigt die Kornea einen dreischichtigen Aufbau, bestehend aus einem mehrschichtigen Epithel, dem überwiegend hydrophilen Stroma sowie dem daran angrenzenden Endothel (Andrew et al., 2001; Clode & Matthews, 2011; König & Liebich, 2005; Ledbetter & Scarlett, 2009).

2.1.2.1 Das Epithel

Die äußerste Schicht der Hornhaut wird durch das Korneaepithel gebildet, ein mehrschichtiges, nicht verhorntes Plattenepithel (Epithelium anterius corneae). Im Bereich des Anulus conjunctivae erfolgt der Übergang aus der einschichtigen Tunica conjunctiva bulbi in das korneale Epithel. Es besteht aus etwa 8–12 Zellschichten und erreicht eine Dicke von rund 131–163 μm (Ledbetter & Scarlett, 2009). Die strukturelle Integrität des Epithels wird durch einen

komplexen Haftapparat gewährleistet. Flügel- und Basalzellen sind über Hemidesmosomen an der Basalmembran befestigt. Von dort aus verlaufen Ankerfibrillen durch die Basalmembran und verankern sich in Ankerplaques des anterioren Stromas, wodurch eine feste Verbindung zwischen Epithel, Basalmembran und Stroma entsteht (Gipson et al., 1987). Eine klar abgegrenzte Bowmansche Membran ist beim Pferd nicht vorhanden, sodass das Korneaepithel unmittelbar in das Stroma übergeht (Nickel et al., 2004).

2.1.2.2 Das Stroma

Das Stroma nimmt den größten Anteil der Hornhaut ein und trägt etwa 90 % zur Gesamtdicke der Kornea bei. Das Gewebe besteht zu circa 75–80 % aus Wasser und zeichnet sich durch eine geordnete, lamelläre Kollagenstruktur aus. Diese wird durch eine extrazelluläre Matrix ergänzt, die proteoglykanreiche Bestandteile wie Dermatan-, Chondroitin- und Keratansulfat enthält (Clode & Matthews, 2011). Innerhalb des Stromas bestehen schichtabhängige Unterschiede in der Zusammensetzung der Glykosaminoglykane, mit einem relativen Überwiegen von Chondroitin-4-Sulfat in tieferen und Chondroitin-6-Sulfat in oberflächlichen Regionen. Diese Variationen sind funktionell relevant für die Hydratation des Gewebes und die Aufrechterhaltung der kornealen Transparenz (Biros et al., 2002). Zelluläre Elemente des Stromas sind Keratozyten, die vor allem in den anterioren Schichten in höherer Dichte vorkommen (Ledbetter & Scarlett, 2009). Die hintere Begrenzung des Stromas wird durch die Lamina limitans posterior (Descemet-Membran) gebildet, die als Basalmembran des Endothels dient und im Verlauf des Lebens in Dicke zunimmt (Clode & Matthews, 2011).

2.1.2.3 Das Endothel

Das Endothel besteht aus einer kontinuierlichen, einschichtigen Zellschicht an der inneren Oberfläche der Hornhaut und steht in direktem Kontakt mit dem Kammerwasser der vorderen Augenkammer. Die Endothelzellen sind überwiegend hexagonal, zu einem geringeren Anteil auch pentagonal geformt (Andrew et al., 2001; Ledbetter & Scarlett, 2009). Die Zelldichte variiert alters- und methodenabhängig und wird mit etwa 1705 bis 3155 Zellen/mm² angegeben, wobei im Verlauf des Alterns eine signifikante Abnahme beschrieben ist (Andrew et al., 2001; Ledbetter & Scarlett, 2009).

Funktionell ist das Endothel wesentlich an der aktiven Regulation des stromalen Wasserhaushalts beteiligt. Über spezialisierte Transport- und Pumpmechanismen steuert es den Flüssigkeits- und Stoffaustausch zwischen Kammerwasser und kornealem Gewebe und trägt so zur Erhaltung einer relativen stromalen Dehydratation und Transparenz bei. Die Effizienz dieses Systems wird unter anderem durch Zellgröße, Zellform und Zelldichte sowie durch die Verfügbarkeit bestimmter Ionen wie Calcium, Glutathion und Bicarbonat beeinflusst (Clode & Matthews, 2011).

2.1.3 *Innervation und sensorische Funktion*

Die Kornea des Pferdes ist dicht sensibel innerviert und weist eine hohe funktionelle Abhängigkeit von ihrer nervalen Versorgung auf. Die sensiblen Nervenfasern entstammen dem ophthalmischen Ast des Nervus trigeminus und treten überwiegend über den Limbus in das korneale Gewebe ein. Nach dem Eintritt verzweigen sie sich in oberflächennahen Stromaschichten und bilden subepitheliale Nervenplexus, aus denen freie Nervenendigungen in die epithelialen Schichten aufsteigen. Tiefere korneale Gewebeschichten sind demgegenüber nur geringfügig innerviert (Dawson et al., 2011; Nickel et al., 2004).

Die Korneasensibilität zeigt eine regionale Differenzierung. Höhere Sensibilitätswerte werden insbesondere in zentralen, lateralen und ventralen Arealen beschrieben, während der nasale und dorsale Bereich eine vergleichsweise geringere Sensibilität aufweist (Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011).

Die sensible Innervation erfüllt eine zentrale Rolle für korneale Schutzmechanismen, indem sie nozizeptive Reize vermittelt und reflektorische Lidschluss- und Tränenreaktionen auslöst. Darüber hinaus besitzt sie eine Bedeutung für den Erhalt der epithelialen Integrität und unterstützt regenerative Prozesse nach oberflächlichen Läsionen. Neurogene Mediatoren tragen hierbei zur Regulation von Zellmigration, Proliferation und Differenzierung bei (Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011; Dawson et al., 2011; Tóth et al., 2010).

Eine verminderte Korneasensibilität ist in der veterinärmedizinischen Literatur mit einer erhöhten Anfälligkeit für Ulzerationen sowie mit einer verzögerten epithelialen Wundheilung assoziiert. Insbesondere bei chronischen oder tiefen Hornhautläsionen kann eine gestörte nervale Versorgung die Reparaturmechanismen der Kornea nachhaltig beeinträchtigen und somit den klinischen Verlauf ungünstig beeinflussen (Clode & Matthews, 2011; Tóth et al., 2010).

2.1.4 *Immunologische Besonderheiten*

Die Kornea wird in der Literatur als immunologisch privilegiertes Gewebe beschrieben. Dieses besondere immunologische Milieu dient dem Schutz intraokulärer Strukturen und der Aufrechterhaltung der optischen Transparenz, ist jedoch mit einer funktionell reduzierten lokalen Immunreaktivität verbunden (Clode & Matthews, 2011). Das immunologische Privileg stellt dabei keinen statischen Zustand dar, sondern ein funktionelles Gleichgewicht zwischen Immuntoleranz und kontrollierter Abwehr.

Zentrale strukturelle Voraussetzungen für dieses Gleichgewicht sind die physiologische Blut- und Lymphgefäßfreiheit der Kornea sowie die Integrität des kornealen Endothels. Beide Faktoren limitieren den Zugang immunkompetenter Zellen und löslicher Immunmediatoren zum kornealen Gewebe und tragen wesentlich zur Aufrechterhaltung der immunologischen Isolation bei (Hori & Niederkorn, 2007). Eine Störung dieser Strukturen kann die lokale Immunhomöostase nachhaltig beeinträchtigen.

Ergänzend wirken verschiedene immunmodulatorische Mechanismen, die eine überschießende Immunantwort verhindern. Hierzu zählen unter anderem eine reduzierte Antigenpräsentation, die Expression regulatorischer Oberflächenmoleküle sowie komplementhemmende Proteine. Die insgesamt geringe Dichte antigenpräsentierender Zellen im zentralen Korneaareal unterstützt zusätzlich den Erhalt des immunologischen Privilegs (Cursiefen, 2007; Kaplan & Niederkorn, 2007; Wu et al., 2024). Unter entzündlichen Bedingungen kann dieses fein regulierte Gleichgewicht aufgehoben werden. Proinflammatorische Zytokine, insbesondere IL-1 und TNF- α , fördern die Rekrutierung und Aktivierung antigenpräsentierender Zellen und induzieren die Expression von MHC-Klasse-II-Molekülen im kornealen Gewebe. In Verbindung mit einer entzündungsassoziierten Lymphangiogenese wird der Zugang zur adaptiven Immunantwort ermöglicht. Damit kommt es zum Verlust des immunologischen Privilegs (Cursiefen, 2007; Dana, 2005).

Diese immunologischen Veränderungen besitzen eine große klinische Relevanz, da sie zur Entstehung und möglichen Persistenz entzündlicher Korneaerkrankungen beitragen und die Gewebemöostase nachhaltig beeinflussen können.

2.1.5 Zelluläre Organisation

Die Kornea weist eine spezialisierte zelluläre Organisation auf, die Transparenz, Barrierefunktion und Regenerationsfähigkeit ermöglicht.

Langerhans-Zellen sind vorwiegend im basalen Korneaepithel lokalisiert, während dendritische Zellen überwiegend im anterioren Stroma vorkommen. Diese Zellpopulationen übernehmen Aufgaben der immunologischen Überwachung und tragen bei geringer Dichte im zentralen Korneaareal zum Erhalt des immunologischen Privilegs bei (Ledbetter & Scarlett, 2009; Pérez-Torres et al., 2002).

Das Korneaepithel erfüllt eine zentrale Barriere- und Kommunikationsfunktion. Zelladhäsions- und Signalproteine wie E-Cadherin, β -Catenin und Connexin-43 sind überwiegend apikal und lateral exprimiert, während das Tight-Junction-Protein 1 zusätzlich in der basalen Zellschicht nachweisbar ist und zur epithelialen Stabilität beiträgt (Kammergruber et al., 2019).

Der Limbus stellt die Stammzellnische der Kornea dar und enthält Zellen mit regenerativem Potenzial, die Marker wie p63, CK14, und ABCG2 exprimieren. Insbesondere p63- und CK14- positive basale Epithelzellen sind wichtig für den Erhalt des Korneaepithels und die Regeneration nach epithelialen Defekten (Kammergruber et al., 2019; Ledbetter & Scarlett, 2009).

Eine intakte zelluläre Organisation ist Voraussetzung für die regenerative Kapazität der Kornea. Störungen der epithelialen Barriere, der immunologischen Balance oder der limbalen Stammzellfunktion können die Heilung beeinträchtigen und persistierende Läsionen begünstigen.

2.1.6 Wundheilungsgrundlagen

Die Wundheilung der Kornea verläuft schichtspezifisch und ist eng an die strukturellen und funktionellen Eigenschaften der einzelnen Gewebekompartimente gebunden. Art und Tiefe der Läsion bestimmen dabei maßgeblich den zeitlichen Verlauf und das funktionelle Ergebnis der Heilung (Clode & Matthews, 2011).

Oberflächliche epitheliale Defekte werden primär durch Zellmigration geschlossen. Ist die Basalmembran intakt, erfolgt die Reepithelialisierung in der Regel rasch, während Läsionen mit Basalmembranschädigung mit einer verzögerten Heilung assoziiert sind. Für das Pferd wird bei kornealen Ulzerationen eine durchschnittliche Heilungsrate von etwa 0,6 mm pro Tag beschrieben (Cintron et al., 1978; Clode & Matthews, 2011; Dawson et al., 2011; Gipson et al., 1987). Das Korneaepithel übernimmt dabei eine zentrale Barrierefunktion gegenüber mikrobieller Invasion und reguliert den Flüssigkeitseintritt in das Stroma. Der erhöhte Energiebedarf während der Heilung kann teilweise über subepitheliale Glykogenspeicher gedeckt werden (Dawson et al., 2011; Hanna et al., 1961).

Die stromale Wundheilung ist komplexer und durch eine frühe entzündliche Zellinfiltration sowie die Aktivierung und fibroblastische Transformation der Keratozyten gekennzeichnet. Dabei kommt es zur Synthese von Kollagen und extrazellulärer Matrix, wobei Matrixbestandteile wie Fibronectin die Zelladhäsion und -migration fördern. Das anschließende Remodeling mit Reorganisation der Kollagenfibrillen geht initial häufig mit einer verminderten Transparenz einher, kann jedoch langfristig zur partiellen Wiederherstellung der biomechanischen Stabilität beitragen (Dawson et al., 2011; Fini, 1999; Fujikawa et al., 1984; Jester et al., 1999).

Die Regenerationsfähigkeit des kornealen Endothels ist stark eingeschränkt. Zellverluste werden überwiegend durch Migration und Vergrößerung benachbarter Endothelzellen kompensiert, wobei Barriere- und Pumpfunktion bei ausreichender Zelldichte erhalten bleiben (Bourne & Kaufman, 1976; Wu et al., 2024).

Die korneale Wundheilung wird durch verschiedene Wachstumsfaktoren wie EGF, PDGF und TGF- β moduliert, die Prozesse wie Zellmigration, Proliferation und Entzündungsreaktionen beeinflussen. Ihre klinische Bedeutung beim Pferd ist bislang nur begrenzt charakterisiert (Clode & Matthews, 2011). Zusätzlich ist eine kontrollierte proteolytische Aktivität für Gewebeumbau und Reparatur erforderlich. Matrixmetalloproteinasen sind an physiologischen Umbauprozessen beteiligt, während inhibitorische Mechanismen eine überschießende Gewebedegradation begrenzen (Matsubara et al., 1991; Ollivier et al., 2007).

2.1.7 Physiologische Mikroflora der okulären Oberfläche

Die okuläre Oberfläche des klinisch gesunden Pferdes ist regelmäßig von einer physiologischen Mikroflora besiedelt. Diese besteht überwiegend aus grampositiven Bakterien, die in geringer Dichte und ohne klinische Entzündungszeichen nachweisbar sind. In der

Literatur werden insbesondere koagulasenegative *Staphylococcus*-Spezies, α -hämolisierende *Streptococcus*-Spezies sowie *Bacillus*- und *Corynebacterium*-Arten als häufige Vertreter beschrieben (Andrew et al., 2003; Berkowski et al., 2019; Jinks et al., 2020; Sauer et al., 2003; Whitley & Moore, 1984).

Unabhängig von kulturabhängigen Methoden zeigen molekularbiologische Analysen mittels Next-Generation-Sequencing (NGS), dass die okuläre Oberfläche gesunder Pferde eine deutlich höhere bakterielle Diversität aufweist als bislang angenommen. Dabei dominieren die Phyla Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria und Bacteroidetes, die zusammen den Großteil der bakteriellen Gemeinschaft ausmachen (Santibáñez et al., 2022; Scott et al., 2019). Auf Ebene der Familien werden unter anderem Pasteurellaceae, Sphingomonadaceae, Moraxellaceae sowie Vertreter der Ordnung Cardiobacteriales in relevanter Häufigkeit nachgewiesen (Scott et al., 2019). Insgesamt lassen sich mehrere hundert bakterielle Gattungen identifizieren, darunter häufig *Massilia*, *Pedobacter*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Suttonella* und *Verticia* (Santibáñez et al., 2022).

Gramnegative Bakterien können somit regelmäßig Bestandteil der physiologischen Flora sein, werden jedoch in kulturabhängigen Studien häufig unterschätzt.

Auch Pilze können Teil der physiologischen okulären Flora sein, treten jedoch insgesamt in geringerer relativer Abundanz auf. Bei klinisch unauffälligen Pferden werden hierbei vor allem Umweltpilze wie *Cladosporium*, *Alternaria*, *Fusarium* sowie *Aspergillus*-Spezies nachgewiesen (Rosa et al., 2003; Samuelson et al., 1984; Walsh et al., 2021; Whitley & Moore, 1984). Molekulargenetische Analysen der okulären Mykobiota zeigen, dass auch zusätzlich Gattungen wie *Leptosphaerulina*, Vertreter der Familien Pleosporaceae und Montagnulaceae sowie *Pestalotiopsis* regelmäßig vorkommen (Walsh et al., 2021). Die Zusammensetzung und Diversität der mykotischen Flora wird dabei signifikant durch Umweltfaktoren wie Haltungsform und Exposition gegenüber Außenbedingungen beeinflusst (Walsh et al., 2021).

Die Zusammensetzung der physiologischen Mikroflora unterliegt insgesamt individuellen und umweltbedingten Schwankungen, bleibt jedoch bei intakter epithelialer Barriere und funktionseller Immunhomöostase in der Regel ohne pathologische Bedeutung. Bei Störungen der okulären Oberflächenintegrität oder lokalen Abwehrmechanismen kommt es zu einer messbaren Verschiebung der mikrobiellen Gemeinschaftsstruktur mit Reduktion der Diversität und relativer Zunahme potenziell pathogener Taxa, insbesondere aus der Klasse der Bacilli und der Familie Staphylococcaceae, was die Entstehung infektiöser Keratitiden begünstigen kann (Julien et al., 2023).

2.2 Korneale Erkrankungen des Pferdes

Korneale Erkrankungen gehören zu den am häufigsten beschriebenen ophthalmologischen Krankheitsbildern beim Pferd (Clode & Matthews, 2011). Sie gehen häufig mit okulären

Schmerzen, einer Beeinträchtigung des Visus sowie funktionellen Einschränkungen des betroffenen Auges einher und können bei unzureichender oder verzögerter Behandlung zu bleibenden strukturellen Schäden bis hin zum Verlust des Bulbus führen. Entsprechend werden korneale Erkrankungen beim Pferd in der Literatur als potenziell seh- und bulbusbedrohende Entitäten eingeordnet, die ein frühzeitiges, sorgfältiges und oftmals intensives diagnostisches sowie therapeutisches Vorgehen erfordern (Cabrera-Aguas et al., 2022; Clode, 2010).

2.2.1 Überblick Pathologien

Erkrankungen der Kornea des Pferdes umfassen ein breites Spektrum angeborener und erworbener Veränderungen. Zu den angeborenen Anomalien zählen unter anderem Megalokornea, Mikrokornea sowie korneale Dermoiden. Erworbene Erkrankungen können infektiöser oder nichtinfektiöser Genese sein und sowohl ulzerative als auch nichtulzerative Verlaufsformen annehmen (Clode & Matthews, 2011).

Beschrieben werden darunter vielfältige Erkrankungen wie traumatische oberflächliche bis tiefe Läsionen, therapieresistente Ulzera, eosinophile Keratitiden, korneale Sequester sowie strahlen- oder chemisch bedingte Keratopathien, ferner immunvermittelte Entzündungen, stromale Abszesse, parasitäre Erkrankungen bis zu degenerativen Veränderungen und Neoplasien der Kornea. Neoplastische Veränderungen umfassen unter anderem stromal invasive Plattenepithelkarzinome, korneale Lymphome sowie seltene vaskuläre Tumoren wie Hämangiosarkome (Clode & Matthews, 2011).

2.2.2 Keratitis des Pferdes

Innerhalb des heterogenen Spektrums kornealer Erkrankungen nimmt die Keratitis aufgrund ihrer Häufigkeit und ihres potenziell schweren Verlaufs eine zentrale Stellung in der klinischen Praxis ein. Beim Pferd kann sie infektiöser oder nichtinfektiöser Genese sein, wobei insbesondere infektiöse Keratitiden oft eine Schädigung des Korneaepithels voraussetzen, durch die die physiologische Barrierefunktion der Hornhaut beeinträchtigt wird (Clode & Matthews, 2011).

Das intakte Korneaepithel bildet zusammen mit dem Tränenfilm eine effektive physikalische und immunologische Barriere gegenüber Mikroorganismen. Wird diese gestört, kann es zur Etablierung einer kornealen Infektion mit nachfolgender entzündlicher Reaktion kommen (Andrew et al., 1998; Andrew & Willis, 2005; D. E. Brooks & Plummer, 2022; Hamor & Whelan, 1999; Nasisse & Nelms, 1992; Schieder et al., 2021; Strubbe et al., 2000). Aufgrund ihrer Haltungs- und Umweltbedingungen sind Pferde dabei kontinuierlich potenziell pathogenen Mikroorganismen ausgesetzt, sodass bereits geringfügige Läsionen der okulären Oberfläche eine mikrobielle Invasion begünstigen können (Clode & Matthews, 2011).

Neben infektiösen Auslösern tragen auch nichtinfektiöse Prozesse wie immunvermittelte Reaktionen, traumatische Einwirkungen sowie toxische oder medikamentös bedingte Schädigungen zur Entstehung einer Keratitis bei. Diese Formen sind durch das Fehlen eines primär nachweisbaren Erregers gekennzeichnet, können jedoch sekundär durch mikrobiellen Befall kompliziert werden (Andrew et al., 2003; Andrew & Willis, 2005; Cutler, 2004; Schieder et al., 2023).

2.2.2.1 Definition und Einteilung infektiöser Keratitiden

Die infektiöse Keratitis stellt eine entzündliche Erkrankung der Kornea dar. Diese wird durch das Eindringen und die Vermehrung von Mikroorganismen im kornealen Gewebe verursacht. Als Erreger kommen vor allem Bakterien, Pilze und Viren in Betracht, während parasitäre Ursachen seltener sind (Clode & Matthews, 2011). Eine bakterielle Beteiligung tritt dabei häufig sekundär im Krankheitsverlauf auf, insbesondere nach vorbestehender Schädigung des Korneaepithels und damit verbundener Beeinträchtigung der epithelialen Barrierefunktion (Clode & Matthews, 2011; Schieder et al., 2023).

Die Einteilung infektiöser Keratitiden erfolgt unter anderem anhand der Ausdehnung der entzündlichen Veränderungen innerhalb der Hornhaut.

Oberflächliche Verlaufsformen (*Keratitis superficialis*) betreffen primär das Korneaepithel, während sich bei tiefen Verlaufsformen (*Keratitis profunda*) die Entzündung mit Durchbruch der Basalmembran auf das mittlere bis tiefe Stroma erstreckt. Tiefe infektiöse Keratitiden sind häufig mit stromalen Abszessen assoziiert und gehen in der Regel mit einem schwereren klinischen Verlauf einher (Andrew & Willis, 2005; Clode & Matthews, 2011; Eule & Schmidt, 2017; Schieder et al., 2023).

Darüber hinaus wird zwischen ulzerativen und nichtulzerativen Formen unterschieden. Die ulzerative Keratitis ist durch einen umschriebenen Substanzverlust des Korneagewebes gekennzeichnet, der in Tiefe und Ausdehnung variiert. Beim Pferd werden klinisch vor allem ulzerative Verlaufsformen beobachtet, da bereits oberflächliche epitheliale Defekte die Barrierefunktion der Kornea beeinträchtigen und damit eine mikrobielle Besiedelung sowie eine Beteiligung stromaler Schichten und einen progressiven Zerfall kornealer Strukturen begünstigen können. Diese Unterscheidung ist für die klinische Beurteilung, die Wahl des therapeutischen Vorgehens und die prognostische Einschätzung von wesentlicher Bedeutung (Andrew & Willis, 2005; Hamor & Whelan, 1999; Nasisse & Nelms, 1992).

2.2.2.2 Equine bakterielle ulzerative Keratitis

Innerhalb der infektiösen Keratitiden kommt diesen ulzerativen Verlaufsformen eine besondere klinische Bedeutung zu, da sie beim Pferd häufig durch einen raschen Krankheitsverlauf, ausgeprägte entzündliche Reaktionen und ein erhöhtes Risiko für Visusverlust oder den Verlust

des Bulbus gekennzeichnet sind. In einer Vielzahl der Fälle sind bakterielle Erreger beteiligt, wodurch die Verlaufsformen therapeutisch besonders anspruchsvoll sind. Entsprechend zählt die bakterielle ulzerative Keratitis zu den klinisch relevantesten Formen der infektiösen Keratitis beim Pferd (Clode & Matthews, 2011).

2.2.2.3 Prädisponierende Faktoren und Pathogenese

Der Entstehung der bakteriellen ulzerativen Keratitis geht häufig eine epitheliale Läsion voraus, die in vielen Fällen durch ein traumatisches Ereignis, insbesondere durch Kontakt mit pflanzlichem Material, Fremdkörpern oder mechanischen Reizen aus der Umgebung, verursacht wird. Unter diesen Bedingungen begünstigt die Freilegung der Basalmembran und des Stromas sowohl das Eindringen exogener Erreger als auch die Invasion opportunistischer Mikroorganismen der physiologischen okulären Mikroflora. Darüber hinaus erhöhen vorgeschädigte okuläre Strukturen, etwa infolge chronischer Reizungen oder vorbestehender entzündlicher Erkrankungen, die Anfälligkeit der Kornea für eine bakterielle Kolonisation und sekundäre Infektion (Clode & Matthews, 2011; Gemensky-Metzler et al., 2005).

Nach Etablierung der bakteriellen Infektion kommt es rasch zur Ausbildung einer lokalen Entzündungsreaktion, die durch die Einwanderung neutrophiler Granulozyten sowie weiterer inflammatorischer Zellen geprägt ist (Matsubara et al., 1991; Strubbe et al., 2000). Diese Immunantwort ist zwar auf die Kontrolle der bakteriellen Erreger ausgerichtet, trägt jedoch gleichzeitig in erheblichem Maß zur Schädigung des kornealen Gewebes bei (Ripple et al., 1986; Twining et al., 1986). Es setzen aktivierte Entzündungszellen ebenso wie korneale Epithelzellen, Keratozyten und stromale Fibroblasten verschiedene proteolytische Enzyme frei, die den Abbau stromaler Gewebestrukturen fördern können (Matsubara et al., 1991; Ripple et al., 1986; Strubbe et al., 2000; Twining et al., 1986).

Ein zentrales pathogenetisches Merkmal der bakteriellen ulzerativen Keratitis ist ein Ungleichgewicht zwischen proteolytischen Enzymen und ihren physiologischen Inhibitoren zugunsten einer überschießenden Proteaseaktivität. In infizierten Hornhäuten kommt es dabei zu einer vermehrten Expression und Freisetzung von Matrix-Metalloproteinasen, insbesondere MMP-2 und MMP-9, sowie von Serinproteasen wie der neutrophilen Elastase, die sowohl von bakteriellen Erregern als auch von aktivierten Entzündungszellen, Keratozyten und stromalen Fibroblasten gebildet werden. Die resultierende Degradation von Kollagenfasern und Proteoglykanen der extrazellulären Matrix führt zu einer progressiven stromalen Destruktion, die sich klinisch in einer zunehmenden Vertiefung des Ulkusbetts bis hin zur Entwicklung einer Keratomalazie äußern kann. Die Ausprägung dieser Prozesse wird sowohl durch die lokale Immunreaktion als auch durch bakterielle Einflussfaktoren moduliert (Fini, 1999; Ollivier et al., 2004, 2007; Ripple et al., 1986; Twining et al., 1986).

Darüber hinaus besitzen einzelne bakterielle Spezies spezifische Virulenzmechanismen, die den Krankheitsverlauf zusätzlich beeinflussen. Beispielsweise sind Infektionen mit β -hämolytischen Streptokokken oder Pseudomonaden dabei häufig mit einem rasch fortschreitenden Verlauf, ausgeprägter stromaler Destruktion, intensiver Entzündungsreaktion und einem erhöhten Risiko für die Ausbildung einer Keratomalazie assoziiert (Andrew & Willis, 2005). Insgesamt wird der Schweregrad, die Dynamik und die Prognose der bakteriellen ulzerativen Keratitis beim Pferd durch das Zusammenspiel bakterieller Invasion, lokaler Immunantwort und proteolytischer Gewebeschädigung maßgeblich beeinflusst (Clode & Matthews, 2011).

2.2.2.4 Klinische Symptomatik

Die klinische Symptomatik der bakteriellen ulzerativen Keratitis beim Pferd ergibt sich aus den entzündlichen Veränderungen der Kornea sowie aus begleitenden Reaktionen angrenzender intraokulärer Strukturen.

2.2.2.4.1 Veränderungen der Kornea

Bei bakteriellen Keratitiden treten häufig ausgeprägte stromale Entzündungsreaktionen auf, die mit einem deutlichen Korneaödem, einem zellulären Infiltrat und einer zunehmenden Vertiefung des Ulkusbetts einhergehen können (Clode & Matthews, 2011).

Die Avaskularität der gesunden Kornea ist eine wesentliche Voraussetzung für ihre optische Klarheit. Im Verlauf persistierender oder unzureichend kontrollierter Entzündungen kann es jedoch zur Ausbildung einer kornealen Neovaskularisation kommen, die durch aktivierte Entzündungszellen sowie Wachstumsfaktoren wie VEGF, bFGF und TGF- β vermittelt wird (Chung et al., 2009; Clode & Matthews, 2011; Klenkler & Sheardown, 2004). Die Neovaskularisation stellt zunächst einen reparativen Mechanismus zur Unterstützung der Wundheilung dar, ist mittel- und teils langfristig jedoch mit einer Beeinträchtigung der kornealen Transparenz verbunden (Ben Ezra, 1979; Chung et al., 2009; Dawson et al., 2011).

Ein ausgeprägtes Korneaödem infolge epithelialer oder endothelialer Dysfunktion führt klinisch zu einer Trübung der Hornhaut und einer relevanten Einschränkung der Sehfunktion (Clode & Matthews, 2011).

2.2.2.4.2 Allgemeine klinische Symptome

Bakterielle, teils ulzerative Keratitiden äußern sich initial häufig durch unspezifische okuläre Reizerscheinungen. Typischerweise bestehen ausgeprägte Schmerzen mit Blepharospasmus, begleitet von Epiphora und Photophobie, sowie einer sichtbaren Trübung der Kornea. Mit fortschreitender stromaler Beteiligung kommt es häufig zu einem zunehmenden Verlust der Transparenz, der bis zur Einschränkung der Sehfähigkeit führen kann (Clode & Matthews, 2011).

Außerdem tritt eine begleitende anteriore Uveitis bei bakteriellen Keratitiden häufig auf und kann sich klinisch unter anderem durch Miosis, Kammerwasserflare, Hypopyon oder eine okuläre Hypotonie manifestieren (Austin et al., 2017; Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011; Eule & Schmidt, 2017).

2.2.2.4.3 Chronische Verläufe und Komplikationen

Bei unzureichender Kontrolle der bakteriellen Infektion können sich chronische, nicht heilende Hornhautulzera entwickeln, die histologisch durch eine gestörte epitheliale Anheftung, eine epitheliale Dysmaturität sowie eine milde bis moderate stromale Entzündung gekennzeichnet sind (Hempstead et al., 2014). Zu den klinisch relevanten Komplikationen zählen neben persistierenden Ulzera insbesondere die stromale Kolliquation und eine bleibende Narbenbildung, die mit einer dauerhaften Beeinträchtigung der kornealen Transparenz und damit der Sehfunktion einhergehen können (Clode & Matthews, 2011; Ollivier et al., 2007). Bei Therapieversagen kann es schließlich zum Verlust des Auges kommen (Clode, 2010).

2.2.2.5 Diagnostik

Die Diagnostik erfolgt im Rahmen einer strukturierten ophthalmologischen Untersuchung mit Fokus auf den vorderen Augenabschnitt. Dabei werden Lokalisation, Ausdehnung und Tiefenausmaß kornealer Läsionen systematisch beurteilt und mögliche intraokuläre Begleitreaktionen erfasst. Klinische Hinweise auf eine anteriore Uveitis umfassen unter anderem Miosis, Kammerwasserflare, Hypopyon sowie eine okuläre Hypotonie (Brooks & Plummer, 2022; Schieder et al., 2023).

Zur Identifikation epithelialer Defekte und ulzerativer Veränderungen der Kornea wird routinemäßig eine Fluoreszeinfärbung durchgeführt, die eine präzise Beurteilung von Lokalisation und Ausmaß der Hornhautläsionen erlaubt (Clode & Matthews, 2011).

Für die weiterführende Abklärung sollten Abstriche von Konjunktiva und Kornea sowie Hornhautgeschabsel zur zytologischen und mikrobiologischen Untersuchung entnommen werden. Diese Maßnahmen sind auch bei klinisch nicht eindeutig infektiöser Genese indiziert, da frühe Stadien oder sekundär infizierte Keratitiden initial unspezifische Befunde zeigen können. Die Probengewinnung sollte nach Möglichkeit vor Beginn einer antimikrobiellen Therapie erfolgen, um die diagnostische Aussagekraft mikrobiologischer Verfahren nicht zu beeinträchtigen (Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011; Eule & Schmidt, 2017).

Die definitive Diagnosestellung basiert auf der Kombination klinischer Befunde mit den Ergebnissen der kornealen Zytologie sowie der bakteriologischen Kultur einschließlich Antibiotikaresistenztestung. Die Zytologie liefert rasch Hinweise auf eine bakterielle Beteiligung und unterstützt die initiale therapeutische Entscheidungsfindung, insbesondere bei ausgeprägten Entzündungsreaktionen oder rasch progredienten Läsionen. Die kulturelle

Erregeranzucht mit anschließender Resistenzprüfung ist für eine gezielte Anpassung der antimikrobiellen Therapie sowie für die Beurteilung des weiteren Krankheitsverlaufs von zentraler Bedeutung (Brooks & Plummer, 2022; Eule & Schmidt, 2017; Massa et al., 1999; Schieder et al., 2023).

Weiterführende diagnostische Maßnahmen richten sich nach dem klinischen Verlauf, der vermuteten Ätiologie und dem Ansprechen auf die initiale Therapie (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022).

2.2.2.6 Ätiologie und bakterielles Erregerspektrum

Bakterielle Erreger stellen einen wesentlichen ätiologischen Faktor der ulzerativen Keratitis des Pferdes dar. In einem großen Anteil der klinischen Fälle lassen sich bakterielle Pathogene kultivieren, wobei positive Kulturergebnisse typischerweise in etwa 35–55 % der untersuchten Proben beschrieben werden (Berkowski et al., 2019; Mustikka et al., 2020; Uchida-Fujii et al., 2024; Verdenius et al., 2024). In einzelnen Untersuchungen wurden Bakterien sogar in bis zu 85 % der entnommenen Proben nachgewiesen, wobei diese in rund 55 % der Kulturen als alleinige Erreger identifiziert werden konnten (Uchida-Fujii et al., 2024). Insgesamt zeigt sich eine erhebliche Variabilität der bakteriellen Nachweisraten, die in der Literatur in Abhängigkeit der mikrobiologischen Nachweisverfahren zwischen 35 und 100 % liegt und insbesondere durch vorausgegangene antimikrobielle Behandlungen beeinflusst wird (Andrew et al., 2003; Brooks & Plummer, 2022; Vercruysse et al., 2022; Verdenius et al., 2024).

Neben monomikrobiellen Infektionen treten auch polymikrobielle Besiedlungen der Hornhaut auf. In fast 31 % der positiven Kulturen konnten mehrere bakterielle Spezies gleichzeitig isoliert werden (Vercruysse et al., 2022).

Über verschiedene geografische Regionen hinweg dominieren konsistent *Streptococcus*-, *Staphylococcus*- und *Pseudomonas*-Spezies, wobei deren relative Prävalenz erheblichen regionalen Schwankungen unterliegt (Andrew et al., 2003; Deniaud & Tee, 2023; Foote et al., 2023; Keller & Hendrix, 2005; Moore et al., 1995; Mustikka et al., 2020; Sauer et al., 2003; Vercruysse et al., 2022; Verdenius et al., 2024). Saisonale Unterschiede scheinen in den Daten einer Studie von untergeordneter Bedeutung zu sein (Andrew et al., 2003).

Historisch galt *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* als der am häufigsten isolierte bakterielle Erreger und machte je nach Region etwa 13–47 % der positiven Kulturen aus, insbesondere in Nordamerika und Nordeuropa (Keller & Hendrix, 2005; Mustikka et al., 2020; Vercruysse et al., 2022). In jüngeren Erhebungen zeigt sich jedoch in vielen Regionen eine Verschiebung hin zu einer Dominanz von *Staphylococcus*-Arten, deren Anteile zwischen 29 und 48 % liegen können. Dabei fällt ein hoher Anteil methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus* (MRSA) auf, der in einzelnen Kollektiven bis zu 50 % der *S. aureus*-Isolate umfasst (Foote et al., 2023; Vercruysse et al., 2022; Verdenius et al., 2024).

Pseudomonas aeruginosa weist eine ausgeprägte geografische Variabilität auf. Während in europäischen Studien nur geringe Prävalenzen von 1,4 % berichtet wurden, erreichen die Anteile in Australien Werte von bis zu 64,3 % (Deniaud & Tee, 2023; Vercruyse et al., 2022). Darüber hinaus beeinflussen vorausgegangene therapeutische Maßnahmen, insbesondere der Einsatz topischer Kortikosteroide oder antimikrobieller Substanzen, das isolierte Erregerspektrum in erheblichem Maße (Keller & Hendrix, 2005; Mustikka et al., 2020).

Zusätzlich zu den häufigsten Erregern wurden in etwa 13 % der Fälle auch *Actinobacillus*- und *Aerococcus*-Spezies, anaerobe Bakterien (Ledbetter & Scarlett, 2008), sowie seltene Isolate wie *Listeria monocytogenes* und *Pantoea agglomerans* nachgewiesen (Foote et al., 2023; Heun et al., 2025; Ledbetter & Scarlett, 2008; Vercruyse et al., 2022).

Obwohl der Schwerpunkt dieses Abschnitts auf bakteriellen Erregern liegt, ist zu berücksichtigen, dass fungale Pathogene ebenfalls einen substantziellen Anteil an infektiösen Keratitiden des Pferdes ausmachen (Brooks & Galera, 2012; Ferreira et al., 2017; Reed et al., 2013; Voelter-Ratson et al., 2013; Wada et al., 2013).

2.3 Therapeutische Konzepte Keratitis

2.3.1 Grundprinzipien

Die infektiöse Keratitis des Pferdes erfordert ein frühzeitiges und konsequentes therapeutisches Vorgehen, da der Krankheitsverlauf häufig rasch fortschreitet und mit einem hohen Risiko für stromale Destruktion sowie funktionellen oder strukturellen Verlust des Auges verbunden ist (Clode, 2010; Matthews, 2009). Ziel der Therapie ist die rasche Kontrolle infektiöser Prozesse, die maßgeblich zur kornealen Einschmelzung, intraokularen Entzündung und okulären Schmerzsymptomatik beitragen (Clode, 2010).

Der Therapiebeginn erfolgt in der Regel empirisch auf Grundlage der initialen ophthalmologischen Befunde und sollte durch zytologische und mikrobiologische Diagnostik begleitet sowie kontinuierlich an den klinischen Verlauf angepasst werden (Matthews, 2009). Dabei ist zwischen prophylaktischer antimikrobieller Behandlung oberflächlicher Läsionen und einer intensivierten Therapie bei manifester Infektion zu differenzieren (Clode, 2010).

Neben der Erregerkontrolle sind die frühzeitige Hemmung proteolytischer Prozesse sowie die konsequente Behandlung einer begleitenden anterioren Uveitis essenzielle Bestandteile des Therapiekonzepts, um Schmerzen zu reduzieren und die Prognose zu verbessern (Matthews, 2009; Ollivier et al., 2004; Strubbe et al., 2000).

2.3.2 Antimikrobielle Therapie

Die lokale antimikrobielle Therapie stellt in der Behandlung der infektiösen Keratitis des Pferdes weiterhin einen zentralen, jedoch in ihrer Wirksamkeit begrenzten Therapiebaustein dar. Zwar ist sie für die initiale Infektionskontrolle von Bedeutung, ihr Einsatz erfolgt jedoch häufig

empirisch. Dies ist vor allem darauf zurückzuführen, dass der Krankheitsverlauf meist rasch fortschreitet und mikrobiologische Befunde nicht unmittelbar verfügbar sind, bei Vorliegen jedoch zwingend angepasst werden müssen (Clode, 2010; Clode & Matthews, 2011; Matthews, 2009).

Die lokale Applikation antimikrobieller Wirkstoffe stellt damit weiterhin den therapeutischen Standard dar, ist jedoch durch pharmakokinetische Limitationen gekennzeichnet. Aufgrund der raschen Elimination über den Tränenfilm und der ausgeprägten Konzentrationsabhängigkeit der antibakteriellen Wirkung sind hohe Applikationsfrequenzen erforderlich, um wirksame Wirkstoffspiegel auf der Hornhaut zu erreichen (Matthews, 2009).

Die Auswahl geeigneter Substanzklassen wird wesentlich durch den Zustand des Hornhautepithels beeinflusst. Bei ulzerativen Läsionen erlaubt der Verlust der epithelialen Barriere den Einsatz hydrophiler Antibiotika wie Aminoglykosiden oder β -Laktamen, die teils höhere stromale Konzentrationen erreichen können. Bei intaktem Epithel, etwa bei stromalen Abszessen, sind hingegen lipophile Substanzen erforderlich, um die epitheliale Barriere zu überwinden, darunter Fluorchinolone oder Chloramphenicol (Matthews, 2009).

Fluorchinolone werden aufgrund ihres breiten Wirkspektrums und ihrer guten Hornhautpenetration häufig als empirische Initialtherapie eingesetzt, insbesondere bei Verdacht auf gramnegative Erreger wie *Pseudomonas* spp. (Sauer et al., 2003). Kombinationstherapien, etwa aus Aminoglykosiden und Cephalosporinen, werden oft empirisch eingesetzt, um das Wirkspektrum zu erweitern und therapeutische Lücken zu schließen (Matthews, 2009). Zunehmend zeigen jedoch aktuelle Studien, wie bereits dargestellt, deutliche geografische Unterschiede im Erregerspektrum sowie eine wachsende Variabilität der antimikrobiellen Empfindlichkeitsmuster okulärer Pathogene. Dadurch wird die Vorhersagbarkeit des Therapieerfolgs rein empirischer Konzepte weiter eingeschränkt (Foote et al., 2023; Vercruyssen et al., 2022; Verdenius et al., 2024). Daher gewinnt die frühzeitige mikrobiologische Diagnostik einschließlich Kultur und Resistenztestung an Bedeutung und bleibt essenziell, um eine gezielte Therapieanpassung zu ermöglichen und den selektiven Druck auf Resistenzentwicklungen zu reduzieren.

Bei tiefer stromaler Beteiligung oder intraokularer Mitbeteiligung kann die topische antimikrobielle Therapie durch eine systemische Antibiose ergänzt werden. Diese antimikrobielle Wirksamkeit ist jedoch variabel und hängt wesentlich vom Entzündungsgrad sowie von der Permeabilität der Blut-Augen-Schranken ab (Clode & Matthews, 2011; Matthews, 2009). Entsprechend ist die systemische Antibiotikatherapie nicht als primäre Behandlungsoption zu verstehen, sondern kann in ausgewählten Fällen, etwa bei tiefen stromalen Läsionen oder ausgeprägter intraokularer Entzündung, erwogen werden. Voraussetzung hierfür ist jedoch, dass am okulären Wirkort therapeutisch relevante Wirkstoffkonzentrationen erreicht werden.

Für das Pferd ist die pharmakokinetische Datenlage hierzu insgesamt sehr begrenzt. Entsprechende Penetrationsdaten systemisch applizierter Antibiotika liegen bislang im Wesentlichen nur für Doxycyclin vor, insgesamt zeigt sich jedoch eine geringe intraokulare Verfügbarkeit. Nach oraler Gabe von Doxycyclin in einer Dosierung von 10 mg/kg alle 12 Stunden über fünf Tage konnten im gesunden Auge keine messbaren Konzentrationen im Kammerwasser nachgewiesen werden ($< 0,15 \mu\text{g/mL}$), während im Glaskörper am fünften Tag nur niedrige Konzentrationen von etwa $0,17 \mu\text{g/mL}$ erreicht wurden (Gilmour et al., 2005). Nach höherer Dosierung von 20 mg/kg alle 24 Stunden wurden Kammerwasserkonzentrationen von etwa 7,5–10 % der Plasmaspiegel gemessen. Diese Dosierung erzeugte Wirkstoffspiegel, die für Erreger mit einer minimalen Hemmkonzentration (MHK) $\leq 0,25 \mu\text{g/mL}$ ausreichend sind, während bei MHK-Werten von $0,5\text{--}1,0 \mu\text{g/mL}$ eine Gabe alle 12 Stunden erforderlich sein kann (Davis et al., 2006). Trotz der geringen Penetration im gesunden Auge wird Doxycyclin häufig bei Erkrankungen wie der equinen rezidivierenden Uveitis eingesetzt, da Entzündungen die Blut-Augen-Schranke verändern und die intraokulare Penetration erhöhen können (Matthews, 2009).

Doxycyclin wird neben seiner antimikrobiellen Wirkung auch aufgrund antiinflammatorischer und antikollagenolytischer Effekte diskutiert, insbesondere im entzündeten Auge (Bian et al., 2016; Clode & Matthews, 2011; Han et al., 2014; Weinberg, 2005; Yi & Zou, 2019). Weitere systemisch applizierte Antibiotika, darunter Fluorchinolone, andere Tetracykline und potenzierte Sulfonamide, werden zwar klinisch eingesetzt, jedoch fehlen bislang verlässliche Studien zum Nachweis therapeutisch relevanter Wirkstoffkonzentrationen in Hornhaut oder Kammerwasser, sodass deren okuläre Penetration beim Pferd nicht ausreichend belegt ist (Clode, 2010; Matthews, 2009).

Der Einsatz systemischer Antibiosen bei Keratitiden sollte vor diesem Hintergrund kritisch hinterfragt werden und auf begründete Einzelfälle beschränkt bleiben, da die klinische Wirksamkeit dieser Therapie limitiert ist und die Selektion resistenter Erreger begünstigt werden kann (Clode, 2010; Matthews, 2009).

2.3.3 *Ergänzende und unterstützende Therapiestrategien*

2.3.3.1 Kontrolle der Proteolyse

Die frühzeitige Kontrolle überschießender proteolytischer Aktivität stellt einen zentralen Bestandteil der Therapie der infektiösen ulzerativen Keratitis des Pferdes dar, da das Hornhautstroma eine ausgeprägte Anfälligkeit gegenüber proteasevermittelten Abbauprozessen aufweist und selbst initial begrenzte Läsionen rasch zu tiefen Ulzera mit Keratomalazie progredieren können (Ollivier et al., 2004, 2007; Strubbe et al., 2000). Pathophysiologisch liegt der stromalen Destruktion ein Ungleichgewicht zwischen proteolytischen Enzymen und ihren

endogenen Inhibitoren zugrunde. Da diese Prozesse weitgehend unabhängig vom spezifischen Erregertyp ablaufen, wird eine antiproteolytische Therapie frühzeitig und unabhängig vom mikrobiologischen Befund empfohlen, mit dem Ziel, die stromale Stabilität zu erhalten, die Ulkusprogression zu verlangsamen und das Risiko einer kornealen Einschmelzung zu reduzieren (Clode, 2010; Matthews, 2009).

Als wirksame topische Antiproteasen gelten unter anderem autologes Serum, Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) oder N-Acetylcystein, die durch Hemmung von Matrix-Metalloproteinasen oder Neutralisation neutrophiler Elastase zur Reduktion der proteolytischen Gesamtaktivität beitragen (Brooks & Ollivier, 2004; Ollivier et al., 2004). Dabei ist zu beachten, dass insbesondere der zeitgleiche Einsatz von EDTA mit anderen Arzneimitteln Wechselwirkungen durch Metallchelation verursachen kann (Al-Hity et al., 2017).

2.3.3.2 Entzündungs- und Schmerzmanagement

Infektiöse Keratitiden des Pferdes gehen teils mit einer ausgeprägten reflektorischen anterioren Uveitis einher, die wesentlich zur okulären Schmerzsymptomatik und zur Progression des Krankheitsgeschehens beiträgt (Clode, 2010; Clode & Matthews, 2011). Entsprechend kommt der gezielten Kontrolle intraokularer Entzündungsprozesse eine zentrale therapeutische Bedeutung zu. Zur Schmerzlinderung und Reduktion entzündlicher Reaktionen werden topische Mydriatika und Cycloplegika eingesetzt, wobei Atropin eine essenzielle Rolle einnimmt. Neben der analgetischen Wirkung trägt diese Therapie zur Prävention posteriorer Synechien bei (Clode & Matthews, 2011; Matthews, 2009). Ergänzend kommen systemische nichtsteroidale Antiphlogistika zur Anwendung, um die entzündungsbedingte Schmerzhaftigkeit weiter zu reduzieren (Clode, 2010; Matthews, 2009). Lokale Kortikosteroide gelten bei infektiösen Hornhauterkrankungen hingegen als kontraindiziert, da sie sowohl die lokale Immunabwehr als auch die korneale Wundheilung negativ beeinflussen können (Clode & Matthews, 2011).

2.3.3.3 Chirurgische Therapie

Chirurgische Maßnahmen werden bei der infektiösen Keratitis des Pferdes eingesetzt, wenn die Läsion unter konservativer Therapie nicht ausreichend kontrolliert werden kann oder eine fortschreitende stromale Destruktion mit Perforationsrisiko besteht (Clode, 2010; Matthews, 2009). Ziel ist dabei primär die strukturelle Stabilisierung der Kornea sowie die Unterstützung lokaler Abwehr- und Heilungsprozesse durch Entfernung infizierten Gewebes und Bereitstellung vaskularisierter Gewebeanteile (Ollivier et al., 2004, 2007). Abhängig von Ausdehnung und Tiefe der Läsion können Keratektomien zur Reduktion der Erregerlast und Verbesserung der Wirkstoffpenetration sowie Konjunktivallappen oder lamelläre Keratoplastiken bei tiefer

stromaler Beteiligung eingesetzt werden (Andrew & Willis, 2005; D. E. Brooks & Plummer, 2022; D. Brooks & Galera, 2012; Matthews, 2009).

2.3.4 Prognostische Bedeutung der Therapie

Die Prognose der infektiösen Keratitis des Pferdes wird wesentlich durch den Zeitpunkt des Therapiebeginns sowie durch die Kontrolle infektiöser, proteolytischer und intraokularer Entzündungsprozesse bestimmt (Berkowski et al., 2019; Clode, 2010; Gaarder et al., 1998; Matthews, 2009). Eine initial empirische antimikrobielle Therapie ist in der Akutphase häufig erforderlich, gewährleistet jedoch keinen günstigen Verlauf (Clode, 2010). Vor dem Hintergrund zunehmender Resistenzentwicklungen kommt der frühzeitigen mikrobiologischen Diagnostik mit gezielter Therapieanpassung eine wachsende Bedeutung zu. Bei konsequentem Vorgehen lassen sich dennoch in vielen Fällen funktionell zufriedenstellende Ergebnisse erzielen, auch wenn residuale Hornhauttrübungen häufig persistieren (Berkowski et al., 2019; Gaarder et al., 1998; Matthews, 2009). Verzögerungen in Diagnostik oder der optimalen Therapie begünstigen eine progressive stromale Destruktion mit erhöhtem Risiko für bleibende Sehstörungen bis hin zum Verlust des Auges (Clode, 2010).

2.4 Grenzen der antibiotischen Therapie und Resistenzproblematik

Die antibiotische Therapie ist ein wesentlicher Bestandteil der Behandlung der bakteriellen ulzerativen Keratitis des Pferdes, ihre Wirksamkeit wird jedoch zunehmend durch antimikrobielle Resistenzen begrenzt. Dies schränkt insbesondere empirische Therapiekonzepte ein und kann mit verzögertem Therapieansprechen oder Therapieversagen einhergehen.

Vor dem Hintergrund des häufig erforderlichen sofortigen Therapiebeginns und der ausgeprägten regionalen sowie therapieassoziierten Variabilität bakterieller Resistenzmuster stößt eine primär empirische Antibiotikatherapie zunehmend an ihre Grenzen und erfordert eine stärker kultur- und resistenzbasierte Behandlungsstrategie. Ergänzende und antibiotikasparsende Therapieansätze gewinnen daher an klinischer Relevanz (Foote et al., 2023; Verduyse et al., 2022).

2.4.1 Einfluss topischer Antibiotika auf die okuläre Mikroflora

Der Einsatz topischer Antibiotika kann die Zusammensetzung der physiologischen okulären Mikroflora, welche in 2.1.7 näher beschrieben ist, verändern und dadurch einen Selektionsdruck auf der okulären Oberfläche ausüben. NGS-basierte Untersuchungen zeigen, dass bereits kurz nach Therapiebeginn Veränderungen der mikrobiellen Diversität auftreten, darunter eine generelle Abnahme von Proteobacteria sowie einzelner kommensaler Gattungen wie *Suttonella*, *Nicoletella* und *Pasteurella*, bei gleichzeitiger relativer Zunahme von Firmicutes und

Bacteroidetes. Dies weist auf eine vorübergehende Verschiebung des mikrobiellen Gleichgewichts hin (Martin de Bustamante et al., 2025).

Auch kulturbasierte Studien berichten nach antibiotischer Behandlung über eine Abnahme grampositiver Keime und eine relative Zunahme gramnegativer Organismen, teilweise in Verbindung mit erhöhten Resistenzraten (Gemensky-Metzler et al., 2005; Moore et al., 1995). Andere Untersuchungen mit unterschiedlicher Methodik zeigen hingegen, dass die dominierenden bakteriellen Taxa der okulären Oberfläche trotz kurzfristiger topischer Antibiotikatherapie weitgehend erhalten bleiben können (Scott et al., 2019).

Insgesamt sprechen die verfügbaren Daten dafür, dass antibiotikabedingte Veränderungen der okulären Mikroflora meist zeitlich begrenzt sind und sich die mikrobielle Gemeinschaft innerhalb von etwa drei bis vier Wochen weitgehend erholt, auch wenn geringfügige Verschiebungen länger bestehen bleiben können (Martin de Bustamante et al., 2025). Während dieser Phase kann die Reduktion kommensaler Bakterien jedoch dazu führen, dass potenziell pathogene oder bereits resistente Keime leichter an Bedeutung gewinnen und sich etablieren. Der Einsatz topischer Antibiotika kann somit Einfluss auf die Zusammensetzung und Resistenzmerkmale der bei okulären Infektionen nachgewiesenen bakteriellen Erreger nehmen.

2.4.2 Resistenzlage vorkommender Bakterien

In mehreren aktuellen Untersuchungen wird eine zunehmende Prävalenz resistenter und multiresistenter bakterieller Isolate bei equiner infektiöser Keratitis beschrieben, wodurch antimikrobielle Resistenzen zu einer zentralen Herausforderung der klinischen Therapie geworden sind (Vercruysse et al., 2022; Verdenius et al., 2024). Dabei zeigen sich ausgeprägte Unterschiede der Resistenzmuster in Abhängigkeit von geografischer Region, Untersuchungszeitraum sowie vorausgegangener antimikrobieller Exposition (Alexandrakis et al., 2000; Andrew et al., 2003; Deniaud & Tee, 2023; Foote et al., 2023).

Ein wesentlicher Einflussfaktor auf die Resistenzentwicklung ist die Vorbehandlung mit topischen Antibiotika. So wurde eine Gentamicin-Resistenz signifikant häufiger bei Pferden nach vorausgegangener Gentamicin-Therapie nachgewiesen (Verdenius et al., 2024). Auch der Einsatz von Kombinationspräparaten aus Neomycin, Polymyxin B und Dexamethason war mit einer erhöhten Isolation von *Staphylococcus* spp. assoziiert (Foote et al., 2023; Sauer et al., 2003).

Aminoglykoside, insbesondere Gentamicin und Tobramycin, galten über Jahrzehnte als zuverlässige Erstlinientherapeutika bei bakterieller Keratitis des Pferdes. Während frühere Studien hohe Sensibilitätsraten beschrieben, dokumentierten bereits Anfang der 2000er-Jahre erste Arbeiten einen signifikanten Anstieg der Resistenz von *Pseudomonas aeruginosa* gegenüber diesen Substanzen (Sauer et al., 2003). Neuere europäische und asiatische Studien

bestätigen inzwischen eine breite Resistenzverbreitung gegenüber Aminoglykosiden, insbesondere bei *Staphylococcus*- und *Pseudomonas*-Isolaten (Uchida-Fujii et al., 2024; Vercruyse et al., 2022). Methicillin-resistente Staphylokokken weisen dabei häufig ausgeprägte Multiresistenzen auf, mit Resistenzraten von bis zu 75–100 % gegenüber Gentamicin und Tetrazyklin (Vercruyse et al., 2022; Verdenius et al., 2024).

Auch für Fluorchinolone wird eine generelle Zunahme der Resistenz beschrieben. Frühere Untersuchungen zeigten überwiegend keine bis geringe Resistenzanteile (Sauer et al., 2003), während neuere Studien klinisch relevante Resistenzraten nachweisen. In Japan beispielsweise waren sämtliche untersuchte MRSA-Isolate gegenüber Ofloxacin resistent, während auch bei übrigen *Staphylococcus*- und *Streptococcus*-Spezies erhöhte Resistenzraten festgestellt wurden (Uchida-Fujii et al., 2024). In der Schweiz wurde zudem ein deutlicher Rückgang der Sensitivität von *Staphylococcus*-Isolaten gegenüber Enrofloxacin auf etwa 50 % beschrieben (Suter et al., 2018), während andere Untersuchungen weiterhin niedrigere Gesamtresistenzraten zeigten, was die Bedeutung regionaler Unterschiede unterstreicht (Vercruyse et al., 2022).

Polymyxin B, häufig Bestandteil topischer Kombinationspräparate, weist ebenfalls eine stark variable Wirksamkeit auf. Europäische Studien berichten über Resistenzraten zwischen etwa 40 und nahezu 60 % (Vercruyse et al., 2022), während australische Untersuchungen Resistenzraten von über 85 % bei *Pseudomonas*-Isolaten dokumentierten. Diese Unterschiede werden unter anderem mit dem häufigen Einsatz von Polymyxin B als empirische Erstlinientherapie in Verbindung gebracht (Deniaud & Tee, 2023).

Auch gegenüber Neomycin und Bacitracin wurden in mehreren Studien bereits hohe Resistenzraten beschrieben (Keller & Hendrix, 2005; Suter et al., 2018).

Insgesamt verdeutlichen diese Befunde, dass sich die Resistenzlage nicht homogen entwickelt, sondern maßgeblich durch lokale Erregerspektren und therapeutische Gewohnheiten geprägt ist.

Angesichts der hohen Resistenzraten gegenüber klassischen Erstlinientherapeutika wie Gentamicin und Polymyxin B erscheint eine allein empirische Therapie zunehmend unzureichend.

2.4.3 Fokus auf methicillin-resistente *Staphylococcus aureus*-Stämme

Der methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) hat sich als einer der klinisch relevantesten bakteriellen Erreger bei der equinen ulzerativen Keratitis etabliert. *Staphylococcus aureus* wird in bis zu 45–48 % der bakteriellen Isolate nachgewiesen, wobei bis zur Hälfte dieser Stämme eine Resistenz gegen Methicillin vorliegt (Vercruyse et al., 2022; Verdenius et al., 2024). Diese Befunde verdeutlichen, dass MRSA inzwischen einen substantiellen Anteil bakterieller Keratitiden beim Pferd verursacht.

Charakteristisch für MRSA-Isolate ist eine ausgeprägte Multiresistenz gegenüber zahlreichen Antibiotikaklassen, die üblicherweise im Rahmen empirischer Therapiekonzepte eingesetzt werden. Beschrieben sind vollständige Resistenzen gegenüber Tetracyklinen, hohe Resistenzraten gegenüber Gentamicin sowie häufig verminderte Empfindlichkeiten oder Resistenzen gegenüber Fluorchinolonen. Zusätzlich vermittelt das *mecA*-Gen eine Resistenz gegenüber sämtlichen β -Laktam-Antibiotika, wodurch die therapeutischen Optionen weiter eingeschränkt werden (Soimala et al., 2018; Vercruyssen et al., 2022).

MRSA ist sowohl in der Umwelt als auch in klinischen Einrichtungen weit verbreitet und kann die okuläre Oberfläche in relevanter Häufigkeit kolonisieren. Dadurch steht ein leicht verfügbares Reservoir multiresistenter Erreger zur Verfügung, welches die Entstehung von Infektionen begünstigt und deren therapeutische Kontrolle zusätzlich erschwert (Soimala et al., 2018; Weese et al., 2005).

Das häufige Auftreten von MRSA, seine ausgeprägte Multiresistenz, sowie die eingeschränkte Wirksamkeit etablierter Antibiotika erschweren die antibiotische Behandlung der equinen ulzerativen Keratitis. Dies unterstreicht die Notwendigkeit alternativer oder ergänzender antimikrobieller Behandlungsstrategien.

2.4.4 Auswirkungen auf die Therapie und den One-Health-Ansatz

Die zunehmende Prävalenz resistenter bakterieller Erreger, insbesondere multiresistenter Stämme wie MRSA begrenzt die Wirksamkeit etablierter antibiotischer Therapien bei der equinen infektiösen Keratitis zunehmend. Therapieassoziierte Veränderungen der okulären Mikroflora nach lokaler Antibiotikatherapie können diese Entwicklung zusätzlich beeinflussen. Damit stoßen insbesondere empirische Behandlungsstrategien bei resistenten Erregern vermehrt an ihre Grenzen (Hellander-Edman et al., 2013; Martin de Bustamante et al., 2025; Raidal, 2019; Sauer et al., 2003).

Neben der Resistenzproblematik sind auch therapieassoziierte Effekte zu berücksichtigen. Die wiederholte oder hochdosierte topische Anwendung bestimmter Antibiotika, darunter Gentamicin, Ciprofloxacin und Tobramycin, wurde mit einer verzögerten kornealen Epithelregeneration in Verbindung gebracht und kann die lokale Gewebelastung erhöhen (Stern et al., 1983). Zudem können Wechselwirkungen oder antagonistische Effekte zwischen gleichzeitig eingesetzten Antibiotika die therapeutische Wirksamkeit beeinträchtigen (Yilancioglu, 2019).

Regulatorische Vorgaben haben den Einsatz kritischer antimikrobieller Wirkstoffe in der Veterinärmedizin in den letzten Jahren zunehmend eingeschränkt und an eine mikrobiologische Indikationsstellung sowie eine engmaschige therapeutische Kontrolle geknüpft (European Parliament and the Council of the European Union, 2019).

Diese Entwicklungen sind auch im Kontext des One-Health-Ansatzes von besonderer Bedeutung, der die enge Verknüpfung von Human-, Tier- und Umweltgesundheit betont und im Umgang mit antimikrobiellen Resistenzen eine sektorübergreifende Verantwortung fordert (Robinson et al., 2016; Zinsstag, 2011). Da resistente Erreger wie MRSA sowohl Tiere als auch Menschen betreffen und durch Umwelt- und Nutzungseinflüsse begünstigt werden, besitzt der verantwortungsvolle Einsatz von Antibiotika in der Pferdemedizin eine Relevanz über den individuellen klinischen Fall hinaus (Robinson et al., 2016; World Organisation for Animal Health (WOAH), 2023; Zinsstag, 2011).

Vor diesem Hintergrund rücken antibiotikaspärende oder ergänzende Therapiekonzepte, einschließlich antiseptischer Behandlungsansätze, zunehmend in den Fokus der klinischen Diskussion.

2.5 Nicht-antibiotische antimikrobielle Substanzen

2.5.1 Grundlagen antiseptischer Wirkstoffe und Mechanismen

Antiseptische Wirkstoffe umfassen eine chemisch heterogene Gruppe von Substanzen, die zur lokalen Reduktion oder Inaktivierung von Mikroorganismen auf lebendem Gewebe eingesetzt werden. Im Gegensatz zu Desinfektionsmitteln sind sie für die Anwendung auf Haut, Schleimhäuten und Wunden vorgesehen und dienen der Minimierung des Infektionsrisikos (Franklin & Snow, 1973; Gjorgjeska et al., 2018).

Unterschiedliche chemische Stoffgruppen, darunter Biguanide, halogenfreisetzende Verbindungen, Silberverbindungen, Phenole sowie quartäre Ammoniumverbindungen, entfalten ihre antiseptische Wirkung überwiegend über unspezifische Mechanismen. Diese beruhen auf der Interaktion mit der mikrobiellen Zelloberfläche, der Störung der Zellmembran sowie der Beeinträchtigung zentraler Protein- und Enzymfunktionen, wodurch Wachstum und Replikation der Mikroorganismen gehemmt werden (Gjorgjeska et al., 2018; McDonnell & Russell, 1999).

Die Wirksamkeit antiseptischer Substanzen ist abhängig von Konzentration, Expositionsdauer und Zielorganismus. Verminderte Empfindlichkeiten können auftreten, etwa durch Biofilmbildung oder veränderte Zellpermeabilität, sind jedoch in ihrer klinischen Relevanz von klassischen Antibiotikaresistenzen abzugrenzen (Alp, 2007; Gjorgjeska et al., 2018).

Im Unterschied zu Antibiotika, die selektiv in spezifische Stoffwechselprozesse eingreifen, wirken Antiseptika nicht selektiv. Diese Eigenschaften machen sie zu potenziell sinnvollen Ergänzungen von Therapiekonzepten, insbesondere im Kontext zunehmender Resistenzentwicklung (Hänsel et al., 1980; Maihoub et al., 2024; McDonnell & Russell, 1999).

Im Folgenden werden ausgewählte antiseptische Substanzen im Hinblick auf ihre Anwendung und Verträglichkeit bei der equinen infektiösen Keratitis näher dargestellt.

2.5.2 Povidon-Iod

2.5.2.1 Physikalisch-chemische Wirkweise

Povidon-Iod (PVP-I) ist ein Iodophor, bei dem molekulares Iod in einem wasserlöslichen Komplex mit Polyvinylpyrrolidon gebunden vorliegt. Dieser Komplex fungiert als Reservoir, aus dem kontinuierlich biologisch aktives freies Iod freigesetzt wird. Die antimikrobielle Wirkung beruht auf dem raschen Eindringen des freien Iods in Bakterien und der unspezifischen Oxidation essenzieller Zellbestandteile. Dabei werden insbesondere schwefelhaltige Aminosäuren wie Cystein und Methionin oxidativ verändert, was zur Inaktivierung zentraler Enzymsysteme führt. Zusätzlich kommt es zu Interaktionen mit Nucleinsäuren und ungesättigten Fettsäuren, wodurch strukturelle und funktionelle Schäden an Zellmembranen entstehen, die letztlich zum Zelltod führen (Apostolov, 1980; Bigliardi et al., 2017; Irawan et al., 2024; McDonnell & Russell, 1999; Stern et al., 1983).

Die Vielzahl dieser Angriffspunkte erklärt das außergewöhnlich breite antimikrobielle Wirkungsspektrum von PVP-I, das grampositive und gramnegative Bakterien, bakterielle Sporen, Pilze, Protozoen sowie Viren umfasst (Barreto et al., 2020; Lachapelle et al., 2013). Besonders hervorzuheben ist die ausgeprägte viruzide Aktivität gegenüber behüllten und unbehüllten Viren. Die antimikrobielle Wirkung setzt so rasch ein, dass in experimentellen Untersuchungen Reduktionen der Keimzahl von über 99,99 % innerhalb von 30 bis 60 Sekunden beschrieben wurden (Kawana et al., 1997; Reimer et al., 2002; Tan & Johari, 2021).

Ein charakteristisches Merkmal von PVP-I ist seine nichtlineare, konzentrationsabhängige Wirksamkeit. Durch Verdünnung hochkonzentrierter Lösungen steigt die Menge verfügbaren freien Iods zunächst an, erreicht bei etwa 0,1 % ein Wirkmaximum und nimmt bei weiterer Verdünnung wieder ab. Dieser Effekt erklärt, weshalb moderat verdünnte Lösungen unter Umständen eine stärkere antimikrobielle Aktivität aufweisen als höher konzentrierte Präparate (Bigliardi et al., 2017; Gottardi, 1983; Rackur, 1985). Aufgrund des unspezifischen Wirkmechanismus und der Vielzahl an Zielstrukturen wurden bislang weder relevante bakterielle Resistenzen noch Kreuzresistenzen beschrieben, auch nicht bei langfristiger Anwendung (Barreto et al., 2020; Grzybowski et al., 2018).

2.5.2.2 Anwendung und Verträglichkeit

PVP-I wird seit mehreren Jahrzehnten in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzt und zeichnet sich durch ein breites antimikrobielles Wirkspektrum aus. Neben der raschen mikrobiellen Inaktivierung werden auch antibiofilme Effekte beschrieben. In vergleichenden *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen wird PVP-I aufgrund seines schnellen Wirkungseintritts als mindestens gleichwertig, teilweise auch als überlegen gegenüber anderen etablierten Antiseptika beurteilt (Koburger et al., 2010; Reimer et al., 2002).

In veterinärmedizinischen *in vitro*-Studien konnte eine bereits ausgeprägte bakterizide Wirksamkeit von PVP-I gegenüber typischen Erregern infektiöser Keratitiden nachgewiesen

werden, darunter *Staphylococcus*-, *Streptococcus*- und *Pseudomonas*-Isolate aus Kaninchen und feline Hornhautulzera (Wolff et al., 2025). Für equine Isolate liegt bislang eine Studie vor, in der PVP-I gegenüber *Pantoea agglomerans* eine rasche Keimreduktion erreichte (Heun et al., 2025). Diese experimentell ermittelten minimalen bakteriziden Konzentrationen lagen in beiden Arbeiten deutlich unterhalb der in der Literatur beschriebenen okulären Verträglichkeitsgrenzen, was auf ein breites therapeutisches Fenster hinweist (Heun et al., 2025; Wolff et al., 2025).

Für den ophthalmologischen Einsatz ist neben der antimikrobiellen Wirksamkeit insbesondere die lokale Verträglichkeit von zentraler Bedeutung. Diese ist maßgeblich von der eingesetzten Konzentration sowie der Expositionsdauer abhängig. Niedrig konzentrierte PVP-I-Lösungen zeigen eine zuverlässige bakterizide Wirkung bei gleichzeitig geringerer lokaler Reizwirkung im Vergleich zu höher konzentrierten Präparaten und sind daher insbesondere für empfindliche okuläre Gewebe von besonderem Interesse (Jiang et al., 2009; Kim et al., 2020; York, et al., 1988).

Tierexperimentelle sowie klinische Studien zeigen, dass topisch appliziertes PVP-I in Konzentrationen von 0,2–1,0 % überwiegend gut verträglich ist (Farkas et al., 2024; Jiang et al., 2009; Nair et al., 2023; York, et al., 1988). Während diese Konzentrationen ohne relevante Nebenwirkungen eingesetzt wurden, traten bei Konzentrationen von 2,5–5,0 % vereinzelt reversible konjunktivale Irritationen auf (Jiang et al., 2009). Ausgeprägte unerwünschte Effekte wurden somit überwiegend bei Konzentrationen beobachtet, die mindestens das 25-Fache der Konzentration von 0,1 % erreichten, bei der das Wirkmaximum beschrieben ist (Gottardi, 1983; Jiang et al., 2009).

2.5.3 Hypochlorige Säure

2.5.3.1 Physikalisch-chemische Wirkweise

Hypochlorige Säure (HOCl) ist wie PVP-I, ein halogenfreisetzendes Antiseptikum und stellt die mikrobiologisch aktivste Form chlorfreisetzender Verbindungen dar.

Ihre antimikrobielle Wirksamkeit ist pH-abhängig und erreicht im leicht sauren bis neutralen Bereich ihr Maximum, da unter diesen Bedingungen die biologisch aktive, ungeladene HOCl-Form überwiegt. In wässrigen Lösungen besteht ein Gleichgewicht zwischen hypochloriger Säure und Hypochlorit-Ionen, wobei die ungeladene Form Zellhüllen effizient durchdringen und intrazellulär wirksam werden kann (McDonnell & Russell, 1999; Wang et al., 2023).

Die antimikrobielle Aktivität beruht auf einer ausgeprägten oxidativen Reaktivität. HOCl oxidiert essenzielle zelluläre Komponenten, insbesondere Proteine und Enzyme, wobei funktionell relevante Thiolgruppen zu Disulfiden oder weiteroxidierten Derivaten umgewandelt werden. Darüber hinaus wurden direkte Effekte auf nukleäre Strukturen beschrieben, einschließlich einer Hemmung der DNA-Synthese durch chlorierte Nukleotidderivate. Bereits niedrige

Konzentrationen können das bakterielle Wachstum inhibieren, während höhere Konzentrationen zu strukturellen Schäden, erhöhter Membranpermeabilität und damit einhergehend schließlich zum Zelltod führen (Irawan et al., 2024; McDonnell & Russell, 1999). Diese oxidativen Angriffspunkte erklären die schnelle und breit wirksame antimikrobielle Aktivität hypochloriger Säure. Experimentelle Untersuchungen zeigten eine vollständige Inaktivierung verschiedener Mikroorganismen innerhalb sehr kurzer Zeit. In einer Studie wurde über vollständige Abtötungsraten innerhalb von zwölf Sekunden berichtet, wobei die minimalen bakteriziden Konzentrationen je nach Erreger im Bereich von 1/32- bis 1/64-Verdünnungen einer Stammlösung mit 218 ppm lagen, entsprechend Konzentrationen von etwa 5,5 bis 2,75 ppm (Sakarya et al., 2014). In vergleichenden Studien erreichte hypochlorige Säure in Konzentrationen von 500 bis 1500 mg/L innerhalb von fünf bis zehn Minuten eine mit etablierten Antiseptika vergleichbare oder teilweise überlegene Wirksamkeit (Herruzo & Herruzo, 2020).

Ein weiterer relevanter Aspekt ist die ausgeprägte antibiofilme Aktivität. Während Chlorhexidin in einer Konzentration von 1 % eine eingeschränkte Penetration von Biofilmen zeigte, erzielte hypochlorige Säure bei 1500 mg/L die höchste antibiofilme Wirksamkeit (Herruzo & Herruzo, 2020)

2.5.3.2 Anwendung und Verträglichkeit

HOCl wird in der Ophthalmologie zur direkten Anwendung an der okulären Oberfläche eingesetzt, unter anderem als Spül- und Hygienelösung für den Kontakt mit Kornea und Bindehaut und ist auch zugelassen (z. B. *Vetericin*®). In klinisch relevanten Konzentrationen von etwa 0,009–0,01 % wurde wiederholt eine effektive Reduktion der bakteriellen Belastung der okulären Oberfläche beschrieben, ohne die physiologische mikrobielle Diversität wesentlich zu beeinflussen (Hejkal et al., 2022; Stroman et al., 2017). Auch für HOCl wurde aus der Veterinärmedizin eine ausgeprägte bakterizide Wirksamkeit gegenüber typischen okulären Pathogenen von Hunden und Katzen nachgewiesen, wobei bereits sehr niedrige Konzentrationen eine vollständige Keimreduktion ermöglichten (Wolff et al., 2025). Ebenfalls konnte gegenüber *Pantoea agglomerans*-Isolaten aus equinen infektiösen Keratitiden eine hohe antiseptische Wirksamkeit bestätigt werden (Heun et al., 2025). Mehrere experimentelle und klinische Untersuchungen belegen eine sehr gute lokale Verträglichkeit hypochloriger Säure bei topischer Anwendung. In den genannten Konzentrationsbereichen traten weder relevante irritative Reaktionen noch toxische Effekte auf Kornea oder Bindehaut auf, auch nicht bei wiederholter Applikation (Hejkal et al., 2022; Stroman et al., 2017).

Diverse Studien stützen diese Befunde. In einem Modell der infektiösen bovinen Keratokonjunktivitis führte die topische Applikation von HOCl in einer Konzentration von 0,009 % zu einer verbesserten klinischen Situation mit reduzierter Schmerzhaftigkeit, geringerer Infektionsausprägung und verkürzter Heilungsdauer kornealer Läsionen (Gard et al., 2016). Ergänzend

wurden günstige Effekte auf die Migration von Fibroblasten und Keratinozyten beschrieben, was auf eine gute Verträglichkeit im Kontext der Wundheilung hinweist (Sakarya et al., 2014). Vergleicht man die in der ophthalmologischen Praxis eingesetzten Konzentrationen mit experimentell bestimmten minimalen bakteriziden Konzentrationen, liegen die applizierten HOCl-Konzentrationen deutlich höher, ohne dass relevante lokale Nebenwirkungen berichtet wurden. Dies spricht für eine breite Sicherheitsmarge, auch wenn belastbare Langzeitdaten zur kontinuierlichen Anwendung am equinen Auge bislang begrenzt sind.

2.5.4 *Polyhexanid*

2.5.4.1 Physikalisch-chemische Wirkweise

Polyhexanid, auch als Polyhexamethylenbiguanid (PHMB) bezeichnet, ist ein polymeres Biguanid mit kationischen Eigenschaften, das als membranaktives Antiseptikum eingesetzt wird. Aufgrund seiner positiven Ladung bindet PHMB bevorzugt an negativ geladene Strukturen der bakteriellen Zelloberfläche, insbesondere an phosphathaltige Bestandteile der Zellhülle, wodurch es vor allem bei gramnegativen Bakterien zu einer Destabilisierung der äußeren Membran kommt (McDonnell & Russell, 1999).

Auf Ebene der Zytoplasmamembran interagiert PHMB mit sauren Phospholipiden und induziert strukturelle Veränderungen wie Phasenseparation und die Ausbildung von Lipiddomänen. Dies führt zu einer erhöhten Membranpermeabilität mit konsekutivem Verlust von Kaliumionen und zunächst bakteriostatischen Effekten. In der Folge kommt es zu einem vollständigen Funktionsverlust der Membran und zum Absterben der Mikroorganismen (McDonnell & Russell, 1999).

Neben den membranassoziierten Effekten greift PHMB auch intrazellulär in essenzielle bakterielle Prozesse ein. Mehrere Studien beschreiben eine Beeinträchtigung der DNA-Replikation beziehungsweise von DNA-Reparaturmechanismen, wodurch die bakterielle Vermehrung effektiv unterbunden wird (Allen et al., 2004; Chindera et al., 2016; Niro et al., 2023; Sowlati-Hashjin et al., 2020). Der multifaktorielle Wirkmechanismus erschwert die Ausbildung mikrobieller Anpassungsmechanismen erheblich. Eine klinisch relevante Resistenzentwicklung gegenüber PHMB wurde bislang nicht beschrieben (Niro et al., 2023; Sowlati-Hashjin et al., 2020).

Die antimikrobielle Wirksamkeit von PHMB umfasst grampositive und gramnegative Bakterien sowie Pilze, Protozoen und virale Erreger. Bereits niedrige Konzentrationen zeigen eine ausgeprägte antibakterielle Aktivität, wobei wirksame Konzentrationen ab etwa 2 µg/mL beschrieben wurden (Fidelis et al., 2023; Lu et al., 2023; Zhou et al., 2024). Zudem konnte eine Wirksamkeit gegenüber methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus*-Stämmen nachgewiesen werden (Kamaruzzaman et al., 2016, 2017; Niro et al., 2023). Darüber hinaus besitzt PHMB

die Fähigkeit, bestehende Biofilme effektiv zu disruptieren und die bakterielle Belastung innerhalb biofilmassoziierten Strukturen zu reduzieren (Oluwole et al., 2022).

2.5.4.2 Anwendung und Verträglichkeit

In der Ophthalmologie wird Polyhexanid seit mehreren Jahrzehnten in unterschiedlichen Zubereitungen eingesetzt, unter anderem in Kontaktlinsenpflegelösungen, zur Behandlung der *Acanthamoeba*-Keratitis sowie als präoperatives Antiseptikum.

In humanophthalmologischen Anwendungen kamen dabei überwiegend Konzentrationen im Bereich von etwa 0,001 bis 0,02 % zum Einsatz, für die eine gute Verträglichkeit beschrieben wurde (Farkas et al., 2024; Hansmann et al., 2005; Hübner & Kramer, 2010; Niro et al., 2023; Rusiecka-Ziółkowska et al., 2023). Lediglich in Einzelfällen wurden bei Konzentrationen von 0,08 % milde unerwünschte Effekte beobachtet, wobei die Anwendung trotzdem insgesamt als gut verträglich eingestuft wurde (Papa et al., 2022).

Experimentelle Untersuchungen auf zellulärer und Gewebeebe stützen diese klinischen Beobachtungen. So wurde für PHMB eine gute zelluläre Verträglichkeit gegenüber epithelialen Zelllinien beschrieben, auch unter Bedingungen bakterieller Infektionen (Wiegand et al., 2009). Ergänzend zeigten *ex vivo*-Untersuchungen an kornealem Gewebe keine nachteiligen Auswirkungen auf die epitheliale Integrität oder die Wundheilung (Foja et al., 2024).

In Studien unter Verwendung klinischer Tierisolaten aus infektiösen Keratitiden konnte eine ausgeprägte bakterizide Aktivität gegenüber relevanten okulären Pathogenen nachgewiesen werden, darunter *Staphylococcus*-, *Streptococcus*- und *Pseudomonas*-Isolate aus kaninen und felines Hornhautulzera (Wolff et al., 2025) sowie *Pantoea agglomerans*-Isolate aus equinen infektiösen Keratitiden (Heun et al., 2025). Die hierfür erforderlichen minimalen bakteriziden Konzentrationen lagen deutlich unterhalb der in der ophthalmologischen Praxis eingesetzten Wirkstoffkonzentrationen, was auf ein breites therapeutisches Fenster hinweist (Heun et al., 2025; Wolff et al., 2025).

Insgesamt sprechen die verfügbaren experimentellen und klinischen Daten dafür, dass Polyhexanid in niedrigen Konzentrationen eine effektive antimikrobielle Wirkung mit guter lokaler und okulärer Verträglichkeit verbindet.

2.6 Forschungslücken

Trotz der klinischen Relevanz der equinen infektiösen Keratitis fehlt bislang eine allgemein gültige Therapie, was unter anderem auf das heterogene bakterielle Erregerspektrum sowie zunehmende Antibiotikaresistenzen zurückzuführen ist. Antiseptische Wirkstoffe werden daher als mögliche antibiotikaspärende oder ergänzende Therapieoptionen diskutiert. Die antiseptische Wirksamkeit und okuläre Verträglichkeit sind bislang jedoch nur unzureichend untersucht. Erste *in vitro*-Daten weisen zwar auf eine antimikrobielle Aktivität gegenüber ausgewählten bakteriellen Erregern hin, die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf das gesamte Erregerspektrum der equinen infektiösen Keratitis ist jedoch bislang nicht ausreichend validiert. Es besteht somit ein Bedarf an systematischen Untersuchungen zur Bewertung des Potenzials antiseptischer Substanzen in diesem Kontext.

3 Zielsetzung und Hypothese der Arbeit

Aufgrund des dargestellten wissenschaftlichen Stands ist das Ziel dieser Arbeit die Untersuchung der *in vitro*-antimikrobiellen Wirksamkeit ausgewählter Antiseptika gegenüber den häufigsten bakteriellen Erregern der equinen ulzerativen bakteriellen Keratitis. Dabei soll geprüft werden, ob Polyhexanid, Povidon-Iod und hypochlorige Säure als antibiotikaspärende oder ergänzende Behandlungsoptionen für ausgewählte klinische Situationen in Betracht kommen.

Es wird die Hypothese aufgestellt, dass alle getesteten Antiseptika das Wachstum der häufigsten bakteriellen Erreger der equinen ulzerativen bakteriellen Keratitis effektiv hemmen, und zwar in Konzentrationen, die für die okuläre Oberfläche als verträglich gelten.

4 Eigene Untersuchungen

Polyhexanide, Povidone-Iodine, and Hypochlorous Acid Show High In Vitro Antimicrobial Efficacy Against Pathogens Commonly Associated With Equine Infectious Keratitis

Leonie Maria Stolle¹, Hilke Oltmanns², Jessica Meißner², Frederik Heun¹, Ann-Kathrin Schieder³, Hinrich Tönjes Wolff⁴, Bernhard Ohnesorge¹, Claudia Busse⁴

¹ Clinic for Horses, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany

² Department of Toxicology and Pharmacy, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany

³ LABOKLIN GmbH & Co. KG, Bad Kissingen, Bavaria, Germany

⁴ Department of Ophthalmology, Clinic for Small Animals, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany

Veröffentlicht in:

Journal of Veterinary Ophthalmology, Januar 2026, Band 29, Heft 1

DOI: 10.1111/vop.70141

4.1 Abstract

Objective:

To determine the in vitro antimicrobial activity of specific antiseptics against common equine ocular surface pathogens.

Methods:

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) (n = 12), *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) (n = 9), *Enterobacter hormaechei* (*E. hormaechei*) (n = 6), and *Bacillus cereus* (*B. cereus*) (n = 5) were collected from corneal samples of horses with ulcerative keratitis. Reference strains were included. Minimum bactericidal concentrations (MBC) of polyhexanide, povidone-iodine, and hypochlorous acid were tested using the microdilution method. After incubation with the antimicrobial agent, the inocula were subcultured according to the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines. Colony growth was manually counted and photographically documented.

Results:

The MBC values of polyhexanide were 0.8-3.2 ppm for *S. aureus*, 0.8-1.6 ppm for *S. zooepidemicus*, 1.6-3.2 ppm for *E. hormaechei*, and 1.6-6.4 ppm for *B. cereus*. For povidone-iodine, values were 8-32 ppm for *S. aureus*, 4-16 ppm for *S. zooepidemicus*, 8-16 ppm for *E. hormaechei*, and 8-16 ppm for *B. cereus*. For hypochlorous acid, values were 0.4-6.4 ppm for *S. aureus*, 0.4-3.2 ppm for *S. zooepidemicus*, 0.8-1.6 ppm for *E. hormaechei*, and 1.6-6.4 ppm for *B. cereus*. The MBC values of methicillin-resistant *S. aureus* isolates were comparable to those of methicillin-susceptible isolates.

Conclusion:

All antiseptics are highly efficient against common equine ocular bacterial surface pathogens, in concentrations that are well below those of commercially available products. In accordance with the One Health approach, these findings highlight their potential in treating infectious ocular surface disease either as an alternative or alongside topical antibiotics. Further in vivo and clinical studies are required to investigate the translatability of their in vitro effectiveness to clinic cases.

ORIGINAL REPORT OPEN ACCESS

Beyond Antimicrobials—Advancing Infection Control in Prophylaxis and Therapy in Veterinary Ophthalmology

Polyhexanide, Povidone-Iodine, and Hypochlorous Acid Show High In Vitro Antimicrobial Efficacy Against Pathogens Commonly Associated With Equine Infectious Keratitis

Leonie Maria Stolle¹ | Hilke Oltmanns² | Jessica Meißner² | Frederik Heun¹ | Ann-Kathrin Schieder³ | Hinrich Tönjes Wolff⁴ | Bernhard Ohnesorge¹ | Claudia Busse⁴

¹Clinic for Horses, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany | ²Department of Pharmacology, Toxicology and Pharmacy, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany | ³LABOKLIN GmbH & Co. KG, Bad Kissingen, Bavaria, Germany | ⁴Department of Ophthalmology, Clinic for Small Animals, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, Hannover, Lower Saxony, Germany

Correspondence: Leonie Maria Stolle (leonie.stolle@tiho-hannover.de)

Received: 19 August 2025 | **Revised:** 23 December 2025 | **Accepted:** 6 January 2026

Keywords: antiseptics | bacteria | cornea | eye | horse | ophthalmic infection

ABSTRACT

Objective: To determine the in vitro antimicrobial activity of specific antiseptics against common equine ocular surface pathogens.

Methods: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ($n=12$), *Streptococcus equi* subspecies *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) ($n=9$), *Enterobacter hormaechei* (*E. hormaechei*) ($n=6$), and *Bacillus cereus* (*B. cereus*) ($n=5$) were collected from corneal samples of horses with ulcerative keratitis. Reference strains were included. Minimum bactericidal concentrations (MBC) of polyhexanide, povidone-iodine, and hypochlorous acid were tested using the microdilution method. After incubation with the antimicrobial agent, the inocula were subcultured according to the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines. Colony growth was manually counted and photographically documented.

Results: The MBC values of polyhexanide were 0.8–3.2 ppm for *S. aureus*, 0.8–1.6 ppm for *S. zooepidemicus*, 1.6–3.2 ppm for *E. hormaechei*, and 1.6–6.4 ppm for *B. cereus*. For povidone-iodine, values were 8–32 ppm for *S. aureus*, 4–16 ppm for *S. zooepidemicus*, 8–16 ppm for *E. hormaechei*, and 8–16 ppm for *B. cereus*. For hypochlorous acid, values were 0.4–6.4 ppm for *S. aureus*, 0.4–3.2 ppm for *S. zooepidemicus*, 0.8–1.6 ppm for *E. hormaechei*, and 1.6–6.4 ppm for *B. cereus*. The MBC values of methicillin-resistant *S. aureus* isolates were comparable to those of methicillin-susceptible isolates.

Conclusion: All antiseptics are highly efficient against common equine ocular bacterial surface pathogens, in concentrations that are well below those of commercially available products. In accordance with the One Health approach, these findings highlight their potential in treating infectious ocular surface disease either as an alternative or alongside topical antibiotics. Further in vivo and clinical studies are required to investigate the translatability of their in vitro effectiveness to clinic cases.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2026 The Author(s). *Veterinary Ophthalmology* published by Wiley Periodicals LLC on behalf of American College of Veterinary Ophthalmologists.

1 | Introduction

Equine infectious keratitis is a common and potentially vision- and globe-threatening ocular disease that requires intensive management [1–4]. While some cases of equine keratitis can lead to vision loss or require enucleation, many horses achieve favorable visual outcomes with appropriate treatment [2, 4–6]. A variety of pathogens can be involved in the development of equine infectious keratitis. In most cases, a positive bacterial culture can be obtained [7–9]. Considering that one study demonstrated that bacteria were involved in 85% of isolates from infectious keratitis cases, with 55% of cultures yielding bacteria as the sole pathogen, it indicates a significant role of bacterial agents in the disease's etiology [7]. There are geographical differences in the involved bacteria, and data from multiple countries have identified *Staphylococcus*, *Streptococcus*, and *Pseudomonas* as the most common bacterial genera [7, 9–14]. Alongside bacteria, fungal pathogens also contribute significantly to the disease's pathogenesis in horses [5, 15, 16].

In equine infectious keratitis, early treatment is crucial for preventing complications and preserving vision [1]. Initial treatment focuses on topical antibiotics to manage the infection and support healing [3, 4, 17, 18]. Due to the urgency of starting treatment, initial antimicrobial therapy must be empirical and initiated before culture and sensitivity results are available [3, 18]. Currently, this involves selecting topical antibiotics based on clinical evaluation and cytology examinations to characterize the infection and guide appropriate initial therapy. However, antibiotic susceptibility testing remains essential for guiding treatment, as resistance patterns vary among bacteria [11, 15], and it can facilitate adequate changes in medication if the initial treatment is ineffective in controlling the disease. The prevalence of multidrug-resistant isolates has risen in recent years, making antimicrobial resistance an escalating concern in clinical practice [9, 10]. This emphasizes the need for careful and judicious use of antibiotics in the treatment of infectious keratitis [19–21].

The rising resistance, combined with the fact that high concentrations and frequent topical application of certain antibiotics, such as gentamicin, ciprofloxacin, and tobramycin, can delay epithelial regeneration in experimental models [22], underscores the need for alternatives.

In recent years, the EU regulations [23] have increasingly restricted the use of critically important antimicrobials in veterinary medicine, requiring microbiological justification and fostering a more controlled and monitored prescription practice. Furthermore, antagonistic effects between concurrently administered antibiotics and their mutual interactions may reduce overall therapeutic efficacy [24]. All these points underscore the urgent need to explore alternative substances with antimicrobial properties for the treatment of equine infectious keratitis [25]. This is in accordance with the One Health approach [26], which emphasizes the interconnectedness of human, animal, and environmental health in addressing emerging zoonoses and other health challenges [27].

Antiseptics are increasingly being considered as alternatives to antibiotics in various medical fields [28–33]. While both

antibiotics and antiseptics have antibacterial properties, they are distinct categories of agents [34]. Antiseptics demonstrate broader spectrum antimicrobial activity and are less likely to induce resistance compared to antibiotics [35].

Several antiseptics, including povidone-iodine (PVP-I), hypochlorous acid (HOCl), and polyhexanide (PHMB), have been investigated for ocular use with positive outcomes to date. PVP-I remains the main antiseptic agent used for preoperative ocular antisepsis in ophthalmology [29]. However, PHMB shows broad-spectrum antimicrobial activity against bacteria, most fungi, and protozoa [36, 37] and HOCl has a potent oxidative antimicrobial effect against various pathogens. This may make them promising alternatives [38, 39]. Previous studies have investigated these antiseptic agents for ocular use, demonstrating good efficacy and tolerability for ocular applications [36–40]. Considering their proven antimicrobial effects and encouraging safety data, PHMB, PVP-I, and HOCl have promising potential to become essential therapeutic options in the future management of infectious keratitis as effective and well-tolerated alternatives to conventional antibiotics.

1.1 | Purpose

The purpose of this study was to determine the *in vitro* antimicrobial activity of PHMB, PVP-I, and HOCl against the most common pathogens found in eyes from horses with equine ulcerative bacterial keratitis.

We hypothesized that all tested antiseptics effectively inhibit bacterial growth of the most common bacterial pathogens in equine ulcerative bacterial keratitis at concentrations shown to be tolerated on the ocular surface.

2 | Materials and Methods

2.1 | Bacterial Isolates

Between August 2022 and August 2024, swab samples were collected from horses diagnosed with infectious ulcerative keratitis by experienced veterinarians based on clinical examination. Samples were obtained during routine diagnostic and therapeutic procedures. They originated from both cases examined at the authors' institution, the Clinic for Horses of the University of Veterinary Medicine Hannover, Germany, and from external equine clinics and veterinarians in Germany. All samples were processed either at the Institute of Microbiology of the University of Veterinary Medicine Hannover, Germany, or at LABOKLIN GmbH & Co. KG, Bad Kissingen, Germany. Cases were included if a corneal defect with a clear ulcerative appearance (epithelial, stromal, or melting ulcer) was present, while samples originating from outside Germany were excluded. When available, clinical information such as diagnosis, previous antimicrobial treatment, ulcer duration, and sampling site was recorded. Antimicrobial susceptibility results were documented when provided by the respective laboratory. All clinical and microbiological data were compiled and analyzed retrospectively in another project.

The isolates were identified via matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS).

These clinical samples were collected and analyzed to determine the most frequently occurring bacterial species. The most prevalent isolates were subsequently included in the antiseptic testing performed in this study. *Pantoea agglomerans* was the most commonly identified species overall, but it was evaluated separately in a previous study [41].

The four isolates with the highest regional incidence that were tested included 12 isolates of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), nine isolates of *Streptococcus equi* subspecies zoepidemicus (*S. zoepidemicus*), six isolates of *Bacillus cereus* (*B. cereus*), and five isolates of *Enterobacter hormaechei* (*E. hormaechei*). Six of the *S. aureus* isolates were methicillin-resistant.

Additionally, reference strains from the German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ, Braunschweig, Germany) were utilized, including *S. aureus* (DSM 1104), *S. zoepidemicus* (DSM 20727), and *B. cereus* (DSM 31).

2.2 | Antiseptic Agents

Three antiseptic agents, including PHMB, PVP-I, and HOCl, were evaluated and tested against all bacterial isolates, with all dilutions freshly prepared on the day of testing (Table 1).

2.3 | Preservation of Bacterial Isolates

Bacterial isolates were preserved by initial cultivation in Lysogeny broth (NaCl, 5 g/L; yeast extract, 5 g/L; tryptone, 10 g/L) overnight. Freshly isolated strains were suspended in

80% glycerol stock solution and stored in cryovials at -70°C . Before carrying out the experiment, fractional streaks were cultured on 5% Columbia Sheep Blood Agar (COLUMBIA AGAR WITH SHEEP BLOOD, Oxoid Deutschland GmbH, Wesel, Germany) and incubated for 16–24 h at 37°C to ensure viable cultures.

2.4 | Determination of Minimum Bactericidal Concentrations (MBCs)

The antimicrobial susceptibility of each bacterial isolate was assessed according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) guidelines for determining the bactericidal activity of antimicrobial agents (M26-A) [42]. A previously established modification of the CLSI M26-A [43] method was used for MBC testing. The MBC was assessed using a sub-culture method on agar plates after the bacteria had been incubated with various concentrations (Table 2) of the antimicrobial agent.

In this study, the MBC is defined as the lowest concentration at which 99.9% of the original bacterial population in the final inoculum is killed, as previously described [41–43].

Each isolate was tested in triplicate. Bacterial suspensions were adjusted in sterile saline (NaCl 0.9%, BRAUN, Frankfurt am Main, Germany) to 0.5 McFarland units (approximately 1.5×10^8 CFU/mL) using a densitometer (Biosan, Riga, Lettland). Further, the bacterial suspension was diluted twice in a 1:9 ratio to achieve an approximate concentration of 1.5×10^6 CFU/mL for the bacterial suspension.

TABLE 1 | Overview of the antiseptic agents used in this study, including the commercially available products, their original concentrations, and the dilution ranges obtained by dilution with phosphate-buffered saline.

Antiseptic agent	Used a commercially available product	Product concentration	Experimental model dilutions
PHMB	Polyhexanid-Lösung, Fagron, Glinde, Germany	20% =200000 ppm	0.00005%–0.00256% =0.05–25.6 ppm
PVP-I	PVP-I 1–100 g Poly(vinylpyrrolidone)-iodine complex PVP-I, Povadyne antiseptic, SIGMA-ALDRICH CHEMIE GmbH, Steinheim, Germany	100% =1000000 ppm	0.00005%–0.0256% =0.5–256 ppm
HOCl	Vetericyn.VF + plus eye and ear solution, Ecuphar GmbH, Greifswald, Germany	0.0275% =275 ppm	0.00005%–0.00256% =0.05–25.6 ppm

Note: Although these concentrations were generated as part of the experimental dilution protocol, only the concentrations listed in Table 2 were finally tested.

TABLE 2 | Concentration of used antiseptics in each dilution stage (V1–V8).

	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8
PHMB	6.4 ppm	3.2 ppm	1.6 ppm	0.8 ppm	0.4 ppm	0.2 ppm	0.1 ppm	0.05 ppm
PVP-I	64 ppm	32 ppm	16 ppm	8 ppm	4 ppm	2 ppm	1 ppm	0.5 ppm
HOCl	6.4 ppm	3.2 ppm	1.6 ppm	0.8 ppm	0.4 ppm	0.2 ppm	0.1 ppm	0.05 ppm

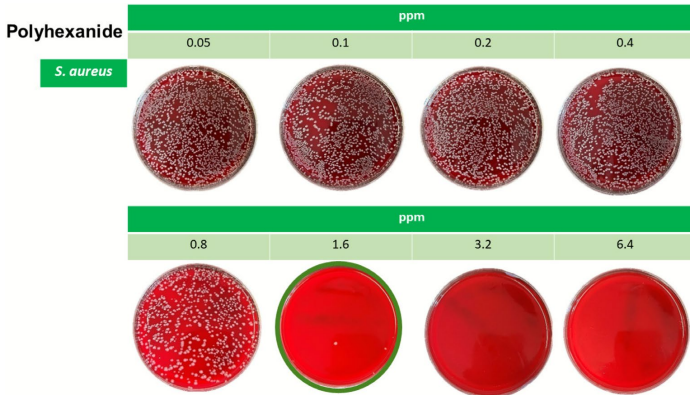


FIGURE 1 | This figure illustrates an example of the MBC assessment of PHMB against a *S. aureus* isolate. The image displays eight agar plates corresponding to serial dilutions of PHMB, with concentrations indicated in ppm above each plate. Following incubation (16–20 h), bacterial growth was visually assessed. Each plate was inoculated with approximately 7500 CFU of the test strain. In this specific example, visible growth of 4 CFU was observed at a PHMB concentration of 1.6 ppm and none at higher concentrations, indicating a $\geq 99.9\%$ reduction in viable bacterial count, thus defining the MBC at 1.6 ppm for this isolate.

The sterile antiseptics (PHMB, PVP-I, HOCl) were diluted in eight stages in a 1:1 ratio with phosphate-buffered saline (PBS) (Table 2). Each experimental setup included positive and negative controls.

A volume of 0.25 mL of each antiseptic dilution was combined with an equal volume of bacterial inoculum/suspension, which was diluted to a final concentration of approximately 1.5×10^6 CFU/mL, and incubated for 10 min. Following incubation, 0.1 mL of the mixture was combined with 0.9 mL of Dey-Engley-neutralizing broth (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) to terminate the antiseptic action, as used in a previous study [43], followed by an additional 5-min incubation. The neutralized mixture was then plated onto 5% Columbia sheep blood agar plates and incubated at 37°C for 16–20 h. Following this protocol, 7500 colony-forming units (CFU) were expected to be plated on each agar plate. The negative control contained no bacterial suspension but was handled in the same manner as all other samples (neutralizer and equal volumes). Similarly, the positive control did not contain any antiseptics, but the same amount of bacterial suspension as the other samples.

At the beginning of the experiment, preliminary tests were performed to verify that the densitometer-based adjustment in McFarland units [45, 46], corresponded to the targeted initial CFU per isolate. For species in which the desired concentration could not be reliably achieved using the McFarland setting, additional procedures were implemented, notably for *Bacillus cereus*, as described in the corresponding section.

The bacterial concentrations used for all analyses were therefore based on the previously validated measurements. Approximately 7500 CFU were applied per plate. Colony counts were recorded only for plates containing up to 300 CFU, whereas higher counts were classified as too numerous to count, in accordance with

standard microbiological guidelines, as overcrowding prevents accurate enumeration [44, 47].

Bacterial growth exceeding this threshold was therefore evaluated visually by counting after an incubation time of 16–20 h, with the critical number of colonies set at 7 CFU/agar, indicating a 99.9% inhibition of bacterial growth, based on an expected growth of approximately 7500 CFU per plate in the absence of antimicrobial activity (Figure 1).

The incubation period was narrowed to 16–20 h to improve accuracy by preventing overgrowth and allowing clearer counts, which was not necessary for pure culture growth but essential for antiseptic testing.

The MBC values were determined by counting the bacterial colonies grown on agar plates and performing calculations based on these counts.

2.5 | *Bacillus cereus*

Initial testing of *B. cereus* isolates revealed insufficient growth in pretests and positive control samples, as indicated by a reduced number of colonies and a spread-out growth pattern despite the absence of antiseptic agents. This finding suggests that adjusting the bacterial suspension solely to 0.5 McFarland units using a densitometer was not appropriate for this species. Due to the irregular colony formation, counting and defining MBC values were unreliable. Therefore, a preliminary growth assessment was conducted to ensure accurate determination.

Six *B. cereus* suspensions were prepared, and triplicate plating was performed at inoculation levels of 7500, 750, and 75 CFU per plate. The actual growth of colonies was counted to calculate a correction factor for the bacterial suspension dilution, allowing

for the precise determination of MBCs in subsequent assays. Following this factor, the bacterial suspension with a theoretical concentration of 0.5 MFU (of 1.5×10^8 CFU/mL) was only diluted in a 1:1.6 ratio to achieve a realistic bacterial concentration of 1.5×10^6 CFU/mL.

The main experiment was then performed as described above.

2.6 | Data Analysis

MBC values were determined by calculating viable bacterial reductions based on an expected untreated growth level of 7500 CFU per plate. The minimum bactericidal concentration was defined as the lowest antiseptic concentration producing a $\geq 99.9\%$ reduction in colony-forming units (≤ 7 CFU per plate). The corresponding concentration state is considered the MBC.

A descriptive analysis of the collected data was performed using Excel (Version 2405, June 11, Microsoft Office Professional). The figures were created with Excel, Microsoft PowerPoint 2016, and GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc.).

3 | Results

All tested antiseptics showed an in vitro antimicrobial effect at specific concentrations. None of the isolates exhibited resistance.

Positive controls consistently showed the expected bacterial growth, which was confirmed visually, validating the functionality of the culture media and methodology. Conversely, the negative controls consistently showed no growth, indicating successful prevention of contamination during the procedures.

3.1 | Polyhexanide

For all isolates the MBC for polyhexanide ranged from 0.8 to 6.4 ppm. For *S. aureus*, MBC values across all isolates ranged from 0.8 to 3.2 ppm (Figure 1). For the methicillin-resistant isolates it ranged from 0.8 to 1.6 ppm and for the methicillin-susceptible from 1.6 to 3.2 ppm. For *S. zooepidemicus*, the MBC was 1.6 ppm for nearly all isolates, with one isolate showing a lower value of 0.8 ppm. For *E. hormaechei*, MBC values ranged between 1.6 and 3.2 ppm. For *B. cereus*, MBC values ranged from 1.6 to 6.4 ppm (Figure 2a–d).

3.2 | Povidone-Iodine

For all isolates the MBC for povidone-iodine ranged from 8 to 32 ppm. The MBC values for PVP-I ranged for *S. aureus* from 8 to 32 ppm, with an MBC for the methicillin-resistant isolates of 8 ppm and for the methicillin-susceptible values from 8 to 32 ppm. For *S. zooepidemicus*, it ranged from 4 to 16 ppm. For *E. hormaechei*, the MBC was 16 ppm for most isolates, with one isolate showing a lower value of 8 ppm. For *B. cereus*, the values ranged between 8 and 16 ppm (Figure 2a–d).

3.3 | Hypochlorous Acid

For all isolates the MBC for hypochlorous acid ranged from 0.4 to 6.4 ppm. For *S. aureus*, the MBC values ranged from 0.4 to 6.4 ppm. For the methicillin-resistant isolates it ranged from 0.4 to 3.2 ppm and for the methicillin-susceptible from 0.4 to 6.4 ppm. For *S. zooepidemicus*, the MBC values ranged from 0.4 to 3.2 ppm. For *E. hormaechei*, most isolates required an MBC of 0.8 ppm, although one isolate required 1.6 ppm. For *B. cereus*, the MBC values ranged between 1.6 and 6.4 ppm (Figure 2a–d).

The MBC values for methicillin-resistant *S. aureus* were not higher than for methicillin-susceptible ones.

Across all isolates and antiseptics, the MBC values fell within a comparable overall range, and no consistent pattern indicating higher or lower requirements for any species or antiseptic was apparent. However, evaluation of Figure 2a–d shows that intraspecies variation was considerable, particularly for hypochlorous acid, with values for *S. aureus* ranging from 0.4 to 64 ppm and within *S. zooepidemicus* from 0.4 to 3.2 ppm. Variation was also observed for povidone-iodine, with MBCs for *S. aureus* ranging intraspecies from 8 to 32 ppm.

In total, the MBC at which all tested isolates were reliably killed was 6.4 ppm for polyhexanide, 32 ppm for povidone-iodine, and 6.4 ppm for hypochlorous acid.

4 | Discussion

In this study, we evaluated the in vitro bactericidal efficacy of PHMB, PVP-I, and HOCl against clinically relevant pathogens that were isolated from horses with ulcerative keratitis.

All tested antiseptics demonstrated excellent bactericidal activity. The maximal observed MBCs were 6.4 ppm for both PHMB and HOCl, and 32 ppm for PVP-I. These findings are consistent with previously published data. For PHMB, reported minimal inhibitory concentrations in human isolates range from 0.1 to 25 ppm [48, 49]. The MBC for PVP-I in this study was 32 ppm, which is consistent with values reported in previous in vitro studies involving other bacterial species [50]. In the case of HOCl, the MBC was 6.4 ppm, notably lower than concentrations reported in earlier studies, where up to 150 ppm was required to achieve bactericidal activity against *S. aureus* [51].

A comparative analysis with a parallel study performed under identical laboratory conditions, involving canine ocular isolates, yielded closely aligned results. In that study, the maximal MBCs were 3.2 ppm for PHMB, 32 ppm for PVP-I, and 1.6 ppm for HOCl [43]. The similarity of results underlines the consistency and potential cross-species applicability of these antiseptics, suggesting only a slight species-specific variance in susceptibility against the agents.

Given the frequent involvement of fungi in infectious keratitis, it is notable that all three antiseptics have also demonstrated strong antifungal activity in other studies [14, 52–57].

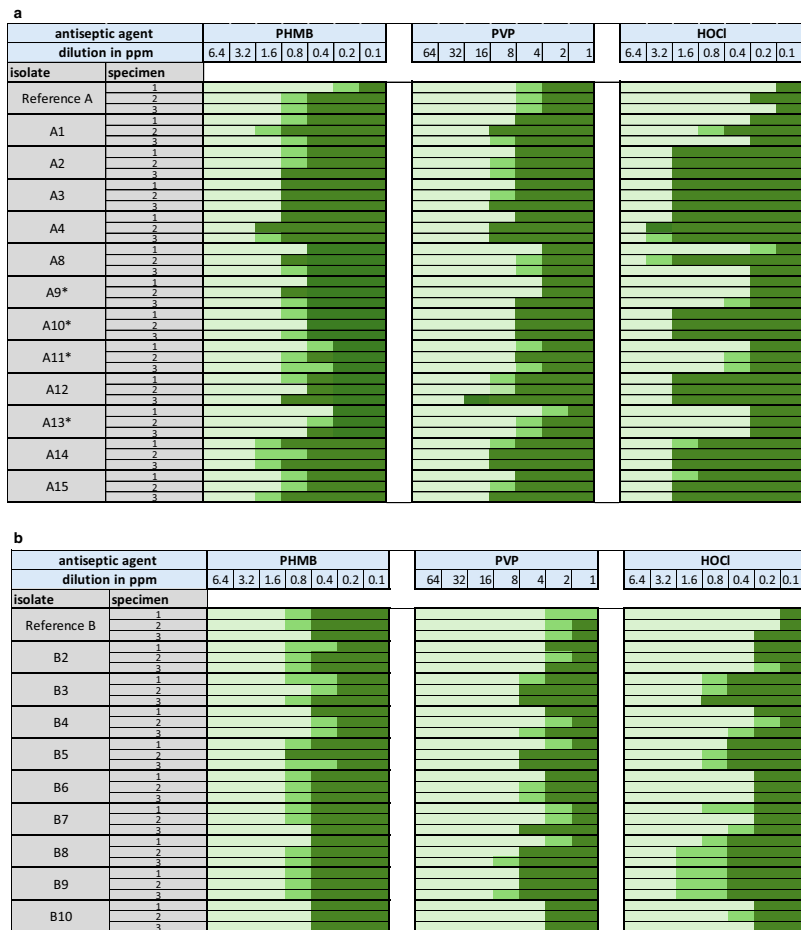


FIGURE 2 | Results for all tested isolates of the four bacteria species against the three antiseptics. Each isolate was tested in triplicate (row 1–3). Dark green fields indicate no observable reduction in colony growth with colony counts > 300. Medium green fields indicate a reduction of colony growth (colony counts between 8 and 300) but do not show a reduction that matches the MBC definition ($\leq 99.9\%$). Light green fields indicate a reduction in bacterial growth of $\geq 99.9\%$, which corresponds to the MBC (0–7 colonies). (a) Results for *S. aureus*, (b) Results for *S. zooepidemicus*, (c) Results for *E. hormaechei*, and (d) Results for *B. cereus*. HOCl = hypochlorous acid, PHMB = polyhexanide, PVP-I = povidone iodine, Reference = reference strain (DSMZ). * = methicillin resistant species.

Previous studies have not described differences in susceptibility between methicillin-resistant and methicillin-susceptible *S. aureus* [49]. In comparison, our data appear to show a similar pattern.

To evaluate the relevance of our findings, all isolates were compared to reference strains under identical experimental conditions. The comparative analysis revealed no obvious differences

between the isolates and the reference strains in any of the antiseptics used.

Several studies have highlighted geographic variation in the composition of the equine ocular microbiota, with *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., and *Pseudomonas* spp., as well as other bacteria and fungal organisms, being the most frequently isolated pathogens, depending on the region and study. Recent data

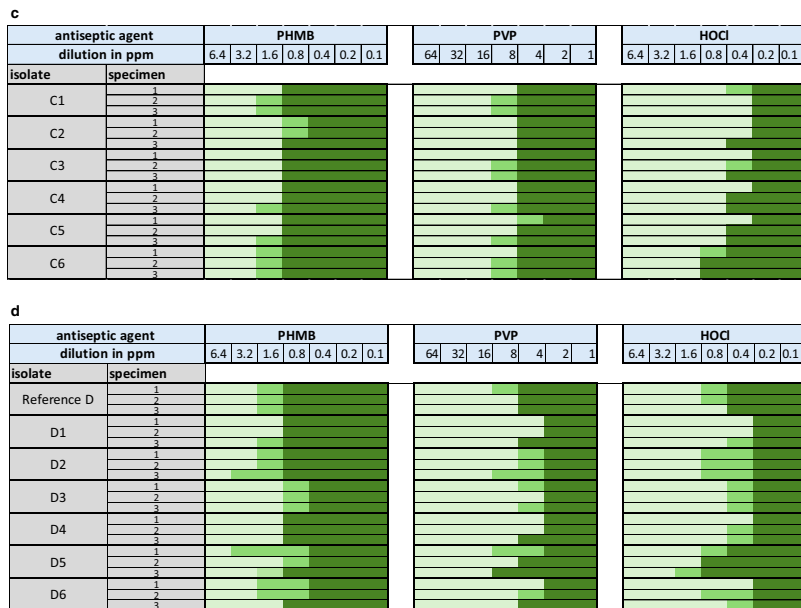


FIGURE 2 | (Continued)

indicate a possible increase in *Staphylococcus* spp. prevalence [7, 10–12, 15, 19].

We tested the four most frequently detected bacteria of our dataset: *S. aureus*, *S. zooepidemicus*, *E. hormaechei*, and *B. cereus*. The high prevalence of *Staphylococcus* spp. and *Streptococcus* spp. is consistent with findings in other countries and confirms their role as the most commonly isolated ocular pathogens across various studies and regions [9–13, 16].

Variations in the distribution of less dominant genera, potentially driven by geographic and environmental factors, further underscore regional differentiation.

4.1 | Polyhexanide

PHMB has a broad-spectrum antimicrobial activity, which involves blocking DNA replication and exerting intracellular effects [58–61]. This may explain its efficacy and low resistance development. Consequently, bacterial resistance to PHMB has not been reported yet [59, 61]. Several studies show that PHMB has effective antibacterial activity in low concentrations ($\geq 2 \mu\text{g/mL}$) [56, 63, 64], even against MRSA [59, 65]. PHMB disrupts biofilms [28], promotes re-epithelialization, and reduces bacterial burden in wounds at well-tolerated low concentrations [32, 66, 67]. However, these results are derived from wound studies and do not directly reflect corneal conditions.

In human ophthalmology, PHMB has been used at concentrations ranging from 0.001% to 0.02% in ophthalmic formulations and contact lens solutions for the treatment of *Acanthamoeba* keratitis and as a presurgical antiseptic, demonstrating good tolerability [36, 37, 48, 59, 68]. Except for a sole report with mild adverse effects observed under PHMB 0.08% treatment, this concentration was overall well tolerated [69]. Additionally, an *ex vivo* study using porcine corneas treated with 0.04% PHMB showed no adverse effects on epithelial integrity or corneal wound healing [70] and therefore provided support for the ocular surface compatibility of PHMB.

While much of the evidence regarding PHMB derives from wound studies [66] whose findings cannot be fully extrapolated to the avascular corneal environment, current evidence supports the safe use of PHMB at low concentrations, demonstrates good tolerability, and suggests potential benefits for antimicrobial benefit.

Notably, our findings reveal a substantial safety margin between the maximum MBC identified in our study (0.00064%) and the concentrations commonly used in clinical studies.

4.2 | Povidone-Iodine

PVP-I is widely used in both human and *Veterinary Ophthalmology* [29, 42, 50, 71, 72] due to its antimicrobial efficacy, antibiofilm activity, and lack of resistance development [66, 71].

PVP-I exhibits rapid and broad-spectrum antimicrobial activity [73, 74] by releasing free iodine that penetrates microorganisms and induces oxidative damage to essential proteins, nucleotides, and fatty acids, ultimately leading to cell death [22, 75–79].

Interestingly, lower concentrations of PVP-I increase the availability of free iodine and result in enhanced antimicrobial activity until a critical dilution is reached. This effect is explained by the characteristic dilution curve of PVP-I. As a 10% solution is diluted, the amount of free iodine initially rises and reaches its peak at roughly 0.1%, after which it begins to decline again [79–81]. Consequently, moderately diluted solutions can exhibit stronger antimicrobial effects than more concentrated formulations. Based on these findings, a concentration of approximately 0.1% appears to be the most suitable for application.

This concentration-dependent effect is relevant for ophthalmic use in horses, where diluted formulations are commonly employed to balance antimicrobial efficacy with ocular surface tolerability [71, 82]. However, studies show that lower concentrations (0.5%–1%) are generally well tolerated in ophthalmic use [37, 38, 40, 69, 83].

In a study on a rabbit model, repeated application of PVP-I was used to assess ocular tolerance. The 0.33% solution was well tolerated with no observable side effects, while the 0.5% concentration caused increased conjunctival irritation and delayed epithelial healing by about 1 day [38].

Further adverse effects, such as suspected dry eye syndrome caused by PVP-I in 5%, have been reported [84], but only at concentrations far exceeding those found to have an antimicrobial effect in our study, considering our maximum observed MBC of 0.0032%. In a recent review, none of the included studies reported any safety concerns with topical PVP-I [85].

Available animal data indicate that dilute topical PVP-I is generally well tolerated on the ocular surface when exposure time and concentration are controlled [38, 40, 83]. However, true long-term safety data from continuous use in animals are currently lacking. Still, small sample sizes and heterogeneity in study design, populations, outcome measures, and PVP-I concentrations limit current evidence. Therefore, further equine studies with larger sample sizes and standardized PVP-I concentrations, durations, and outcome measures are recommended to confirm the efficacy of PVP-I in treating infectious keratitis in horses [85].

4.3 | Hypochlorous Acid

HOCl is a halogen-releasing agent, which is most effective at pH 4–7, where the active HOCl form dominates. It also occurs naturally as part of the innate immune response, produced by neutrophils during the oxidative burst [57].

Although its exact mechanism is not fully understood, HOCl acts as a potent oxidant that disrupts microbial cells by damaging key structures and interfering with DNA, protein, and ATP synthesis [75].

HOCl effectively reduces the bacterial load on the ocular surface without altering microbial diversity [86], and it is effective in reducing ocular bacterial load in a concentration of 0.01% without irritation [39].

Experimentally topical HOCl in a concentration of 0.009% reduced pain, infection, and healing time of corneal lesions in experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis [87].

Furthermore, HOCl had dose-dependent, favorable effects on fibroblast and keratinocyte migration, making it an ideal wound care agent [88].

Interestingly, among the three antiseptics, only hypochlorous acid is currently available as a commercially approved ocular rinsing solution in the EU (Vetericyn, VF+ plus eye and ear solution, Eucuphar GmbH).

When comparing the existing body of evidence on HOCl with our findings, which showed a maximum MBC of 0.00064%, it becomes evident that the concentrations already used in ocular applications are several times higher than the bactericidal levels identified in our study, supporting the classification of such use as safe. These findings, together with existing clinical and experimental data, support the safe and effective use of hypochlorous acid in ophthalmic applications, particularly given the substantial safety margin between its bactericidal threshold and concentrations already in commercial use.

Compared to PVP-I and PHMB, HOCl offers a wider safety margin, with effective concentrations well above its MBC and no reported irritation. While PVP-I and PHMB show dose-dependent side effects, HOCl appears better tolerated, though long-term data in equine eyes are still lacking.

Povidone-iodine, polyhexanide, and hypochlorous acid have shown broad-spectrum efficacy, low resistance potential, and good ocular tolerability at clinically relevant concentrations. Although the concentrations evaluated in this study may not accurately reflect the final concentrations on the ocular surface, the findings offer a positive outlook for their future clinical application.

4.4 | Clinical Applicability

One of the key challenges is the contact time between the antiseptic agents and the pathogens. In our controlled *in vitro* setting, we used a defined exposure duration, with neutralization precisely timed at 10 min. *In vivo*, especially on the equine ocular surface, such consistent and prolonged contact is difficult to achieve due to natural factors, such as the tear film, blinking, and washout rate.

The mean tear volume of a healthy ophthalmological horse is approximately 233.74 μ L, with a turnover rate of 13.21%/min and a flow rate of 33.62 μ L/min, resulting in a time of complete tear recycling of approximately 7 min [89].

Considering the average volume of a single eye drop, which is approximately 39 μ L [90], achieving the desired therapeutic

concentration on the ocular surface would require either using at least 7 times the MBC concentration of the antiseptic within a single-drop formulation, administering a larger volume through multiple drops at a lower concentration, or applying continuous lavage. Given that the average conjunctival sac capacity in horses is approximately 230 μL [91], the administration of 5–6 drops may be appropriate. But it should be noted that the concentration declines rapidly after instillation, and it is difficult to terminate the final contact time even after a defined period, making it difficult to control the antiseptic effect.

This makes the contact time used in our laboratory unrealistic under clinical conditions, unless the eye is flushed with the agent for 10 min. While this might be achievable with a subpalpebral lavage system and manual injection or an infusion pump, it would be highly labor-intensive and may not be feasible in some clinical settings. Nonetheless, killing times of different concentrations are likely to be well below 10 min for higher concentrations, as shown for *Pantoea agglomerans* [41].

Consequently, a significantly higher concentration than the MBC determined in our study would be required in clinical patients. However, given the substantial safety margin established in previous studies [36–39, 68, 83, 87] using much higher concentrations on the ocular surface, there is little concern that such an adjustment would approach toxic levels.

The physiological pH of the healthy equine tear film is approximately 7.84 [92]. In addition, the mean tear film osmolality has been reported at 283.51 mmol/kg, along with specific electrolyte concentrations [89]. However, in eyes affected by infectious keratitis, these values may vary. For example, elevated levels of matrix metalloproteinases and neutrophil elastase have been observed in horses with ulcerative keratitis [93–95]. As the pH of the ocular surface can influence the efficacy of antiseptics, a shift toward less favorable pH ranges may reduce their antimicrobial activity [96]. The effectiveness of PHMB decreases at lower pH values [97]. In contrast, the activity of PVP-I is reduced at higher pH [97], likely due to improved solubility of iodine-releasing metal ions in acidic conditions [98]. The antimicrobial effect of HOCl is also pH-dependent, with optimal activity between pH 6.0 and 7.5 [99]. A possible strategy to counteract this would be to buffer the antiseptic solution to stabilize pH, to identify a concentration that remains effective despite a potential loss of activity under suboptimal pH conditions, or to adjust the ocular surface pH, for example, through repeated application or controlled flushing via continuous lavage systems.

An essential factor to consider *in vivo* is the protein error. The protein error refers to the fact that the presence of proteins, particularly albumin, can decrease the effectiveness of antiseptics against bacteria [100]. The total protein concentration in the lacrimal fluid of healthy eyes ranges from 7.0 to 19.5 mg/mL. Serum albumin concentrations in the tear fluid of healthy eyes range from 71.1 to 711.3 $\mu\text{g/mL}$, making up approximately 1.6% of the total protein content. Eyes affected by ocular disease show significantly higher serum albumin levels in the tear film (median: 679.6 $\mu\text{g/mL}$) compared to contralateral unaffected

eyes (130.0 $\mu\text{g/mL}$) and reference eyes (200.7 $\mu\text{g/mL}$; $p \leq 0.001$) [101]. While total protein content does not differ significantly between healthy and diseased eyes, albumin concentration clearly increases and may even serve as a biomarker of ocular inflammation.

A protein error has been observed with various agents. The antibacterial activity of PHMB-based antiseptics is significantly diminished in the presence of albumin, especially against *S. aureus* and MRSA [100]. For HOCl, the presence of organic material and inorganic ions leads to faster consumption and loss of antimicrobial activity [102, 103]. Diluted formulations of PVP-I, such as 0.66% or 1% solutions, have shown reduced antimicrobial efficacy in the presence of proteins, indicating susceptibility to protein interference. Conversely, standard 10% PVP-I solutions maintain full antimicrobial activity even under high protein loads, suggesting that PVP-I is not significantly affected by protein errors at very high concentrations [104].

Wolff et al. examined the efficacy of the same antiseptics tested in our study under protein-free conditions (PBS) and in a protein-rich medium (CAMHB, approximately 2% protein content). They demonstrated that all three antiseptics were markedly less effective in the presence of protein, requiring substantially higher concentrations to achieve the bactericidal activity. For PVP-I, a 100-fold increase in concentration was necessary, while HOCl showed no measurable bactericidal effect in the protein-rich environment [43].

The reduced efficacy of antiseptics in protein-rich environments must be considered when applied to the ocular surface, where tear film components may limit antimicrobial activity. Therefore, effective *in vitro* concentrations may not directly translate to *in vivo* conditions and should be carefully re-evaluated.

Given that Wolff et al. [43] observed, for example, a 100-fold increase in required PVP-I concentration at 2% protein, a similar effect may be expected on the ocular surface, where albumin levels are approximately 1.6%. Thus, the *in vitro* MBCs may underestimate the effective *in vivo* concentration and require adjustment accordingly. Further experimental studies are necessary to determine the exact concentration at which each agent remains effective on the ocular surface with and without discharge.

Another important aspect is the activity against bacterial biofilms. Previous studies have shown that all three antiseptics, PHMB [59, 105], PVP-I [106, 107], and HOCl [108, 109], are effective in disrupting or preventing biofilm formation. However, these observations are based on *in vitro* or non-ocular models, and none have investigated the disruption of biofilms on the corneal surface. This is a relevant limitation, as the cornea represents a special environment that differs fundamentally from vascularized wound tissues. Given that many bacterial species associated with infectious keratitis, including the four isolates examined in our study, are known biofilm producers [109–113], this gap warrants consideration, but offers a promising outlook that such effects could extend to the ocular surface.

However, biofilm-associated bacteria exhibit increased resistance to antimicrobials, requiring higher concentrations and

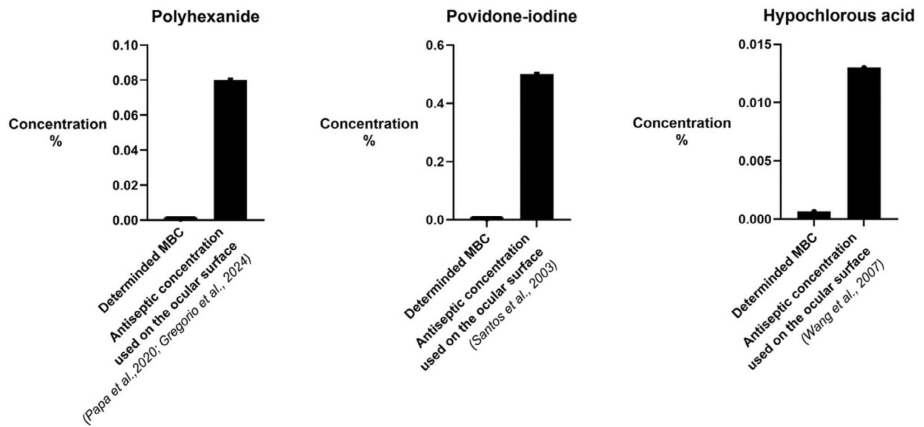


FIGURE 3 | Comparison between the detected MBC concentrations (left bar) and the concentrations that have already been used on the ocular surface (right bar).

longer exposure times for effective eradication, an effect that is likely to also occur with antiseptic susceptibility [114–116].

There are commercial products licensed for use on the ocular surface, and concentrations already used in other studies indicate that the MBCs we found are significantly lower than the concentrations that can actually be used in practice. This means there is a wide safety margin for adjusting concentrations, especially considering the limitations of in vivo conditions.

A comparison of our MBC values for the different antiseptics with commercial products, as shown in Figure 3, highlights this fact.

For PHMB, assuming a tested concentration of 0.08% or a commercial product at 0.04% (LAVANID 1/2, SERAG WIESSNER GmbH & Co. KG, Naila (Oberfranken), Germany), the usable concentration is up to 62–125 times higher than our MBC.

For HOCl, the commercial product contains a concentration 43 times higher than the MBC we found (Vetercyn, VF + plus eye and ear solution, Ecuphar GmbH, Greifswald, Germany).

And for PVP-I, typically used at 0.5%, the concentration [117] is 156 times higher than our MBC.

4.5 | Limitations

One of the main limitations of this study's clinical translation is that it was conducted entirely in vitro, without attempts to simulate key challenges of the ocular surface. Consequently, the results obtained do not reflect the complexity of the in vivo environment, with numerous factors, as discussed in the section on clinical applicability. These aspects were not assessed in

the present study and must be considered when interpreting the clinical relevance of the findings.

Another limitation is the relatively small number of bacterial isolates. Although samples originated from different patients and multiple facilities across Germany, most were submitted by two referral clinics and were mainly from the northern regions, resulting in an uneven geographic distribution. The isolates nevertheless showed highly similar susceptibility patterns, supporting the internal consistency of the findings. Even so, a larger and more regionally diverse dataset would be required to strengthen the generalizability of these results, particularly given reported variability in susceptibility among Enterobacteriaceae species [118].

In this study, each experiment involved only one type of bacteria at a time. In real-life situations, infections often involve more than one pathogen, which may also form biofilms, and such settings can exhibit different behaviors and treatment responses. As our experiments were limited to single-bacterium models, the findings can currently only be applied to such scenarios. Further studies are needed to determine the efficacy in more complex, polymicrobial or biofilm-associated infections.

Also, all bacteria included in the study were from a specific geographical region. Since the types of bacteria and their resistance patterns can vary by region [9–13, 16], the findings may not be universally applicable. However, due to the generally low levels of antiseptic resistance [59, 62, 66, 71], significant differences from findings in other regions are not expected.

Another important consideration is the surface-restricted activity of topically applied antiseptics. Although all three agents showed excellent in vitro efficacy, their penetration into the corneal stroma is limited [119, 120]. In cases where bacteria are located deeper within the stroma, such as melting ulcers or

advanced stromal infections, these pathogens may remain beyond the effective reach of antiseptics.

A further limitation concerns the growth behavior of *Bacillus cereus*. During the experiments, this species exhibited inconsistent colony formation in the positive controls, necessitating an additional correction step to determine the MBCs accurately. Although this issue was most evident in *B. cereus*, it highlights a more general challenge: that bacteria differ in their growth dynamics, and their viable counts at the time of testing do not always perfectly match the calculated inoculum. Such variability can arise from biological differences between strains as well as subtle variations in culture conditions.

The absence of contact-time experiments represents a limitation of the study. Although one study [41] demonstrated very rapid bactericidal activity of PHMB, PVP-I, and HOCl against *Pantoea agglomerans*, these findings cannot be directly extrapolated to the broader range of bacterial species included here. Determining killing times for these additional pathogens remains an essential objective for future research.

5 | Conclusion

Our findings highlight the potential of polyhexanide, povidone-iodine, and hypochlorous acid in the treatment of infectious ocular surface diseases in horses, either as alternatives to or in combination with topical antibiotics. However, their use as sole agents is likely confined to uncomplicated ulcers, such as superficial ulcers suspected to be contaminated but without established infection, whereas complex ulcers, defined as deep and/or infected ulcers, are more likely to benefit from their use as adjunctive therapies.

Given their antimicrobial activity and the current knowledge of their safety profiles, these agents represent promising candidates for future therapeutic strategies in the management of ulcerative keratitis and may offer effective and well-tolerated options beyond conventional antibiotic therapy. And in this, they may help to reduce the use of antibiotics in accordance with the One Health approach. Our findings indicate that the effective concentrations of the tested antiseptics were largely consistent across different bacterial species. This uniformity suggests that empirical use of these agents may be appropriate, even in the absence of immediate microbiological results.

This study further strengthens and deepens the evidence base for the potential future use of antiseptics in the management of equine ulcerative keratitis, extending and complementing the foundations established by previous studies [41, 43].

The results of this study show that povidone-iodine, polyhexanide, and hypochlorous acid exhibit strong in vitro antimicrobial activity in low concentrations against *S. aureus*, *S. equi zooepidemicus*, *E. hormaechei*, and *B. cereus*, which are associated with equine ulcerative bacterial keratitis.

These agents demonstrate in vitro efficacy at concentrations well below those of commercially available formulations and those already in clinical use on the ocular surface. However,

physiological factors such as tear dilution, rapid clearance, pH, and protein interference, short retention times, and surface restricted action will necessitate establishing higher concentrations for comparable antimicrobial efficacy in vivo.

Author Contributions

Leonie Maria Stolle: conceptualization, project administration, methodology, investigation, formal analysis, visualization, writing – original draft, writing – review and editing, data curation. **Hilke Oltmanns:** methodology, resources, writing – review and editing, supervision, validation. **Jessica Meißner:** writing – review and editing, methodology, resources, supervision. **Fredrik Heun:** investigation, writing – review and editing, methodology, conceptualization, data curation. **Ann-Kathrin Schieder:** investigation, data curation, writing – review and editing. **Hinrich Tönjes Wolff:** investigation, methodology, conceptualization. **Bernhard Ohnesorge:** resources, supervision, project administration, conceptualization, writing – review and editing. **Claudia Busse:** project administration, writing – review and editing, conceptualization, supervision.

Acknowledgments

The authors thank Dr. J. Verspohl from the Department of Microbiology, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, for her help in compiling the microbial collection and for answering questions. We also thank V. Nepke from the Department of Pharmacology, Toxicology, and Pharmacy, University of Veterinary Medicine Hannover, Foundation, for her excellent technical help in the laboratory and during the experiments. Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.

Disclosure

Artificial Intelligence Generated Content: The authors have not used AI to generate any part of the manuscript.

Ethics Statement

The authors have nothing to report.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

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

References

1. B. C. Gilger, *Equine Ophthalmology*, 3rd ed. (Wiley Blackwell, 2017).
2. W. M. Berkowski, Jr., W. F. Craft, R. D. Whitey, D. E. Brooks, and C. E. Plummer, "Equine Ulcerative Keratitis With Furrow: A Review of the Outcomes of 72 Cases From 1987 to 2015," *Equine Veterinary Journal* 51, no. 6 (2019): 749–755, <https://doi.org/10.1111/evj.13101>.
3. A. B. Clode, "Therapy of Equine Infectious Keratitis: A Review," *Equine Veterinary Journal. Supplement* 37 (2010): 19–23, <https://doi.org/10.1111/j.20423306.2010.tb05630.x>.
4. P. D. Galera and D. E. Brooks, "Optimal Management of Equine Keratomycosis," *Veterinary Medicine: Research and Reports* 3 (2012): 7–17, <https://doi.org/10.2147/VMR.R.S25013>.
5. S. Wada, S. Hobo, H. Ode, H. Niwa, and H. Moriyama, "Equine Keratomycosis in Japan," *Veterinary Ophthalmology* 16, no. 1 (2013): 1–9, <https://doi.org/10.1111/j.14635224.2012.01004.x>.

6. S. Wada, S. Hobo, and H. Niwa, "Ulcerative Keratitis in Thoroughbred Racehorses in Japan From 1997 to 2008," *Veterinary Ophthalmology* 13 (2010): 99–105, <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2010.00767.x>.
7. E. Uchida Fujii, T. Kuroda, H. Niwa, et al., "Bacterial and Fungal Isolates From 107 Cases of Ulcerative Keratitis in Japanese Thoroughbred Racehorses (2017–2021)," *Journal of Equine Veterinary Science* 133 (2024): 104990, <https://doi.org/10.1016/j.jvevs.2023.104990>.
8. A. Suter, K. Voelter, S. Hartnack, B. M. Spiess, and S. A. Pot, "Septic Keratitis in Dogs, Cats, and Horses in Switzerland: Associated Bacteria and Antibiotic Susceptibility," *Veterinary Ophthalmology* 21 (2018): 66–75, <https://doi.org/10.1111/vop.12480>.
9. E. M. Vercruyssen, F. P. Narinx, A. C. M. Rives, A. C. Sauvage, M. F. Grauwels, and S. J. Monclin, "Equine Ulcerative Keratitis in Belgium: Associated Bacterial Isolates and In Vitro Antimicrobial Resistance in 200 Eyes," *Veterinary Ophthalmology* 25 (2022): 326–337, <https://doi.org/10.1111/vop.12985>.
10. C. Y. Verdenius, I. J. M. Slenker, H. Hermans, E. M. Broens, and S. C. Djajadiningrat Laanen, "Equine Ulcerative Keratitis in The Netherlands (2012–2021): Bacterial and Fungal Isolates and Antibiotic Susceptibility," *Equine Veterinary Journal* 57, no. 1 (2025): 38–46, <https://doi.org/10.1111/evj.14059>.
11. M. Deniaud and E. Tee, "Susceptibility Pattern of Bacterial Isolates in Equine Ulcerative Keratitis: Implications for Empirical Treatment at a University Teaching Hospital in Sydney," *Australian Veterinary Journal* 101, no. 3 (2023): 115–120, <https://doi.org/10.1111/avj.13221>.
12. B. C. Foote, D. V. H. Hendrix, D. A. Ward, S. Rajeev, J. S. Smith, and Z. Sun, "Monitoring Trends in Antimicrobial Susceptibility Patterns of Bacterial Isolates From Horses With Ulcerative Keratitis," *Equine Veterinary Education* 35, no. 11 (2023): 597–606, <https://doi.org/10.1111/evve.13812>.
13. R. Keller and D. Hendrix, "Bacterial Isolates and Antimicrobial Susceptibilities in Equine Bacterial Ulcerative Keratitis (1993–2004)," *Equine Veterinary Journal* 37, no. 3 (2005): 207–211, <https://doi.org/10.2746/0425164054530731>.
14. K. Voelter Ratson, S. A. Pot, M. Florin, and B. M. Spiess, "Equine Keratomycosis in Switzerland: A Retrospective Evaluation of 35 Horses (January 2000–August 2011)," *Equine Veterinary Journal* 45, no. 5 (2013): 608–612, <https://doi.org/10.1111/evj.12042>.
15. M. P. Mustikka, T. S. Grönthal, and E. M. Pietilä, "Equine Infectious Keratitis in Finland: Associated Microbial Isolates and Susceptibility Profiles," *Veterinary Ophthalmology* 23, no. 1 (2020): 148–159, <https://doi.org/10.1111/vop.12701>.
16. Z. Reed, S. M. Thomasy, K. L. Good, et al., "Equine Keratomycosis in California From 1987 to 2010 (47 Cases)," *Equine Veterinary Journal* 45, no. 3 (2013): 361–366, <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00623.x>.
17. M. P. Nasisse and S. Nelms, "Equine Ulcerative Keratitis," *Veterinary Clinics of North America. Equine Practice* 8, no. 3 (1992): 537–555, [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30440-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30440-6).
18. A. G. Matthews, "Ophthalmic Antimicrobial Therapy in the Horse," *Equine Veterinary Education* 21, no. 5 (2009): 271–280, <https://doi.org/10.2746/095777308X334266>.
19. P. Sauer, S. Andrew, M. Lassaline, K. Gelatt, and H. Denis, "Changes in Antibiotic Resistance in Equine Bacterial Ulcerative Keratitis (1991–2000): 65 Horses," *Veterinary Ophthalmology* 6 (2003): 309–313, <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2003.00312.x>.
20. A. Hellander Edman, L. Ström, and B. Ekesten, "Corneal Cross-Linking (CXL)—A Clinical Study to Evaluate CXL as a Treatment in Comparison With Medical Treatment for Ulcerative Keratitis in Horses," *Veterinary Ophthalmology* 22, no. 4 (2019): 552–562, <https://doi.org/10.1111/vop.12662>.
21. S. L. Raidal, "Antimicrobial Stewardship in Equine Practice," *Australian Veterinary Journal* 97, no. 7 (2019): 238–242, <https://doi.org/10.1111/avj.12833>.
22. G. A. Stern, G. B. Schemmer, R. D. Farber, and M. S. Gorovoy, "Effect of Topical Antibiotic Solutions on Corneal Epithelial Wound Healing," *Archives of Ophthalmology* 101 (1983): 644–647, <https://doi.org/10.1001/archophth.1983.01040010644025>.
23. "Verordnung (EU) 2019/Des Europäischen Parlaments Und Des Rates Vom 11." Dezember 2018 Über Tierarzneimittel Und Zur Aufhebung Der Richtlinie 2001/82/EG.
24. K. Yilancioglu, "Antimicrobial Drug Interactions: Systematic Evaluation of Protein and Nucleic Acid Synthesis Inhibitors," *Antibiotics* 8 (2019): 30114, <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030114>.
25. L. Czaplowski, R. Bax, M. Clokie, et al., "Alternatives to Antibiotics—A Pipeline Portfolio Review," *Lancet Infectious Diseases* 16, no. 2 (2016): 239–251, [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00466-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00466-1).
26. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), and European Medicines Agency (EMA), "Antimicrobial Consumption and Resistance in Bacteria From Humans and Food-Producing Animals: Fourth Joint Inter-Agency Report on Integrated Analysis of Antimicrobial Agent Consumption and Occurrence of Antimicrobial Resistance in Bacteria From Humans and Food-Producing Animals in the EU/EEA (JIACRA IV – 2019–2021)," *EFSA Journal. European Food Safety Authority* 22 (2024): e8589.
27. N. S. Lönrker, K. Fechner, and A. A. E. Abd El Wahed, "Horses as a Crucial Part of One Health," *Veterinary Sciences* 7, no. 1 (2020): 28, <https://doi.org/10.3390/vetsci7010028>.
28. D. O. Oluwolu, L. Coleman, W. Buchanan, T. Chen, R. M. La Ragione, and L. X. Liu, "Antibiotics-Free Compounds for Chronic Wound Healing," *Pharmaceutics* 14, no. 5 (2022): 1021, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051021>.
29. G. A. Grzybowski, P. Kanclerz, and W. G. Myers, "The Use of Povidone–Iodine in Ophthalmology," *Current Opinion in Ophthalmology* 29 (2018): 19–32, <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000437>.
30. G. Daeschlein, O. Assadian, J. C. Bruck, C. Meinl, A. Kramer, and S. Koch, "Feasibility and Clinical Applicability of Polihexanide for Treatment of Second-Degree Burn Wounds," *Skin Pharmacology and Physiology* 20, no. 6 (2007): 292–296, <https://doi.org/10.1159/000107577>.
31. T. Eberlein and O. Assadian, "Clinical Use of Polihexanide on Acute and Chronic Wounds for Antisepsis and Decontamination," *Skin Pharmacology and Physiology* 23 (2010): 45–51.
32. A. Kramer, T. Eberlein, G. Müller, J. Dissemond, and O. Assadian, "Re-Evaluation of Polihexanide Use in Wound Antisepsis in Order to Clarify Ambiguities of Two Animal Studies," *Journal of Wound Care* 28, no. 4 (2019): 246–255, <https://doi.org/10.12968/jowc.2019.28.4.246>.
33. A. Grzybowski and M. Turczynowska, "Standard Preoperative Topical Antibiotics Do Not Additionally Benefit in Postcataract Endophthalmitis Prophylaxis," *Journal of Cataract and Refractive Surgery* 43, no. 6 (2017): 861–862, <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2017.03.042>.
34. S. G. Ciancio, "Antiseptics and Antibiotics as Chemotherapeutic Agents for Periodontitis Management," *Compendium of Continuing Education in Dentistry* 21, no. 1 (2000): 59–62.
35. A. Siddiqi, Z. E. Abdo, B. D. Springer, and A. F. Chen, "Pursuit of the Ideal Antiseptic Irrigation Solution in the Management of Periprosthetic Joint Infections," *Journal of Bone and Joint Infection* 6, no. 6 (2021): 189–198, <https://doi.org/10.5194/jbji-6-189-2021>.

36. F. Hansmann, A. Kramer, H. Ohgke, H. Strobel, M. Müller, and G. Geerling, "Polyhexamethylbiguanid (PHMB) Zur Präoperativen Antisepsis Bei Kataraktoperation," *Der Ophthalmologe: Zeitschrift Der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft* 101 (2004): 377–383, <https://doi.org/10.1007/s00347-003-0933-9>.
37. A. Farkas, K. Thieme, T. Soimala, C. K. Jensen, and J. C. Eule, "Efficacy of 0.2% Povidone-Iodine and 0.1% Polyhexamethylene Biguanide as Preoperative Antiseptics in Equine Ophthalmic Procedures," *Veterinary Ophthalmology* 28 (2024): 438–447, <https://doi.org/10.1111/vop.13306>.
38. K. K. York, S. Miller, R. N. Gaster, and N. L. Burstein, "Polyvinylpyrrolidone Iodine: Corneal Toxicology and Epithelial Healing in a Rabbit Model," *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 4 (1988): 351–358, <https://doi.org/10.1089/jop.1988.4.351>.
39. T. W. Hejkal, L. A. Maloley, and L. Kaddoura, "Hypochlorous Acid 0.01% vs Povidone–Iodine 5% for Ocular Antisepsis," *Journal of Vitreoretinal Diseases* 6, no. 2 (2022): 132–137, <https://doi.org/10.1177/24741264211013622>.
40. J. Jiang, M. Wu, and T. Shen, "The Toxic Effect of Different Concentrations of Povidone Iodine on the Rabbit's Cornea," *Cutaneous and Ocular Toxicology* 28, no. 3 (2009): 119–124, <https://doi.org/10.1080/15569520903080511>.
41. F. Heun, J. Meißner, A. K. Schieder, B. Ohnesorge, and C. Busse, "Pantoic acid agglomerans in Equine Ulcerative Keratitis: Prevalence and Comparative Efficacy of Four Topical Antiseptics," *Veterinary Ophthalmology* 29 (2025): 1–10, <https://doi.org/10.1111/vop.70044>.
42. *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents: Approved Guideline. CLSI Document M26 A* (Clinical and Laboratory Standards Institute, 1999).
43. H. T. Wolff, A. C. Piroth, H. Oltmanns, et al., "Commercially Available Antisepsis Show High In Vitro Efficacy Against Pathogens Most Commonly Associated With Canine and Feline Infectious Keratitis," *Frontiers in Veterinary Science* 12 (2025): 12, <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1552230>.
44. R. R. Bragg, "Testing the Antimicrobial Activity of Treated Curtain Material When Exposed to Selected Bacterial Species With a 30 Min Contact Period." Blomfontein: Dept of Microbial, Biochemical & Food Biotechnology, University of the Free State; 2021 Mar 23. Report No. 21PMB005.
45. "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Guideline," CLSI Document M07, 2024.
46. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), "Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing," Version 13.0. Växjö, Sweden: EUCAST; January 2025.
47. J. F. Blaize, E. Suter, and C. P. Corbo, "Serial Dilutions and Plating: Microbial Enumeration," 2019.
48. N.-O. Hübner and A. Kramer, "Review on the Efficacy, Safety and Clinical Applications of Polihexanide, a Modern Wound Antiseptic," *Skin Pharmacology and Physiology* 23, no. Suppl.1 (2010): 17–27, <https://doi.org/10.1159/000318264>.
49. W. Fabry, C. Reimer, T. Azem, C. Aepinus, H. Kock, and W. Vahlensieck, "Activity of the Antiseptic Polyhexanide Against Metcillin Susceptible and Metcillin—Resistant *Staphylococcus aureus*," *Journal of Global Antimicrobial Resistance* 1, no. 4 (2013): 195–199, <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.05.007>.
50. T. Koburger, N. O. Hübner, M. Braun, J. Siebert, and A. Kramer, "Standardized Comparison of Antiseptic Efficacy of Triclosan, PVP–Iodine, Otenidine Dihydrochloride, Polyhexanide and Chlorhexidine Digluconate," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 65, no. 8 (2010): 1712–1719, <https://doi.org/10.1093/jac/dkq212>.
51. O. M. Brezvyin, I. Y. Kotsiumbas, D. V. Hyrenko, et al., *Study of the Antimicrobial Action and Disinfecting Properties of the Hypochloritic Acid Solution Obtained by the Electrolysis Method. Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences*, vol. 26 (Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary, 2024), 124–131, <https://doi.org/10.32718/nvltvet11418>.
52. A. Şahiner, E. Halat, and Y. E. Algin, "Comparison of Bactericidal and Fungicidal Efficacy of Antiseptic Formulations According to EN 13727 and EN 13624 Standards," *Turkish Journal of Medical Sciences* 49, no. 5 (2019): 1564–1567, <https://doi.org/10.3906/sag-1906-53>.
53. A. L. Souza, L. F. Ceridório, G. F. Paula, L. H. C. Mattoso, and O. N. Oliveira, Jr., "Understanding the Biocide Action of Poly(Hexamethylene Biguanide) Using Langmuir Monolayers of Dipalmitoyl Phosphatidylglycerol," *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces* 132 (2015): 117–121, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.05.018>.
54. S. Odoric, V. Haas, M. S. Gilmore, and C. H. Dohlman, "Fungal Infections After Boston Type 1 Keratoprosthesis Implantation: Literature Review and In Vitro Antifungal Activity of Hypochlorous Acid," *Cornea* 34, no. 12 (2015): 1599–1605, <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000639>.
55. W. Behrens-Baumann, M. Seibold, W. Hofmüller, et al., "Benefit of Polyhexamethylene Biguanide in Fusarium Keratitis," *Ophthalmic Research* 48, no. 4 (2012): 171–176, <https://doi.org/10.1159/000337140>.
56. M. Zhou, Y. Liu, X. Fang, Z. Jiang, W. Zhang, and X. Wang, "The Effectiveness of Polyhexanide in Treating Wound Infections due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Prospective Analysis," *Infection and Drug Resistance* 17 (2024): 1927–1935, <https://doi.org/10.2147/idr.s438380>.
57. L. Wang, M. Bassiri, R. Najafi, et al., "Hypochlorous Acid as a Potential Wound Care Agent: Part I. Stabilized Hypochlorous Acid: A Component of the Inorganic Armamentarium of Innate Immunity," *Journal of Burns and Wounds* 6 (2007): 65.
58. M. J. Allen, A. P. Morby, and G. F. White, "Cooperativity in the Binding of the Cationic Biocide Polyhexamethylene Biguanide to Nucleic Acids," *Biochemical and Biophysical Research Communications* 318 (2004): 397–404, <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.043>.
59. A. Niro, F. Pignatelli, M. Fallico, et al., "Polyhexamethylene Biguanide Hydrochloride (PHMB) – Properties and Application of an Antiseptic Agent: A Narrative Review," *European Journal of Ophthalmology* 33, no. 2 (2023): 655–666, <https://doi.org/10.1177/11206721221124684>.
60. K. Chindera, M. Mahata, A. K. Kumar Sharma, et al., "The Antimicrobial Polymer PHMB Enters Cells and Selectively Condenses Bacterial Chromosomes," *Scientific Reports* 6 (2016): 23121, <https://doi.org/10.1038/srep23121>.
61. S. Sowlati-Hashjin, P. Carbone, and M. Karttunen, "Insights Into the Polyhexamethylene Biguanide (PHMB) Mechanism of Action on Bacterial Membrane and DNA: A Molecular Dynamics Study," *Journal of Physical Chemistry. B* 124 (2020): 4487–4497, <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c02609>.
62. S. Wessels and H. Ingmer, "Modes of Action of Three Disinfectant Active Substances: A Review," *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 67 (2013): 456–467, <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.006>.
63. C. E. Fidelis, L. R. de Freitas, B. L. N. Garcia, J. L. Gonçalves, L. Good, and M. V. dos Santos, "Antimicrobial Activities of Polyhexamethylene Biguanide Against Biofilm-Producing *Prototheca Bovis* Causing Bovine Mastitis," *Journal of Dairy Science* 106, no. 2 (2023): 1383–1393, <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22468>.
64. Y. Lu, D. Wang, Y. Zhang, et al., "Preparation and Antimicrobial Activity of a Film-Forming Polyhexamethylene Biguanide Teat Disinfectant," *International Journal of Molecular Sciences* 24, no. 24 (2023): 17444, <https://doi.org/10.3390/ijms242417444>.

65. N. F. Kamaruzzaman, R. Firdessa, and L. Good, "Bactericidal Effects of Polyhexamethylene Biguanide Against Intracellular *Staphylococcus aureus* EMRSA-15 and USA 300," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 71, no. 5 (2016): 1252–1259, <https://doi.org/10.1093/jac/dkv474>.
66. C. Wiegand, T. Eberlein, and A. Andriessen, "Antibacterial Activity of Polihexanide Formulations in a Co-Culture of HaCaT Keratinocytes and *Staphylococcus Aureus* and at Different pH Levels," *Wound Repair and Regeneration* 25 (2017): 423–431, <https://doi.org/10.1111/wrr.12528>.
67. J. Pannek, K. Everaert, S. Möhr, W. Vance, F. Van Der Aa, and J. Kesselring, "Tolerability and Safety of Uro-Tainer Polihexanide 0.02% in Catheterized Patients: A Prospective Cohort Study," *BMC Urology* 20 (2020): 92, <https://doi.org/10.1186/s12894-020-00650-1>.
68. J. Rusiecka-Ziółkowska, A. Hill-Bator, E. Piatkowska, M. Mimier-Janczak, K. Bator, and M. Misiuk-Hojto, "The Eye Wipes With Polyhexanide (HexaClean) in Preoperative Prophylaxis of Cataract Surgery," *Journal of Ophthalmology* 8 (2023): 38–45, <https://doi.org/10.5603/OJ.2023.0009>.
69. V. Papa, I. J. E. van Der Meulen, S. Rottey, et al., "Ocular Safety of High Doses Polyhexanide (PHMB) in Healthy Volunteers," *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 58 (2017): 5170.
70. S. Foja, J. Heinzelmann, A. Viestenz, C. Rueger, S. Hecht, and A. Viestenz, "Evaluation of the Possible Influence of Povidone Iodine (PVI) Solution and Polyhexanide (PHMB) on Wound Healing in Corneal Epithelial Regeneration," *Journal of Clinical Medicine* 13, no. 2 (2024): 588, <https://doi.org/10.3390/jcm13020588>.
71. M. Soleimani, A. A. Haydar, K. Cheraqpour, et al., "In Praise of Povidone-Iodine Application in Ophthalmology," *Survey of Ophthalmology* 69 (2024): 211–223, <https://doi.org/10.1016/j.survo.2023.11.002>.
72. R. Musumeci, P. Troiano, M. Martinelli, et al., "Effectiveness of 0.66% Povidone-Iodine Eye Drops on Ocular Surface Flora Before Cataract Surgery: A Nationwide Microbiological Study," *Journal of Clinical Medicine* 10 (2021): 10102198, <https://doi.org/10.3390/jcm10102198>.
73. J.-M. Lachapelle, O. Castel, A. F. Casado, et al., "Antiseptics in the Era of Bacterial Resistance: A Focus on Povidone Iodine," *Clinical Practice* 10 (2013): 579, <https://doi.org/10.2217/cpr.13.50>.
74. K. Reimer, T. Wichelhaus, V. Schäfer, et al., "Antimicrobial Effectiveness of Povidone—Iodine and Consequences for New Application Areas," *Dermatology* 204, no. Suppl. 1 (2002): 114–120, <https://doi.org/10.1159/000057738>.
75. D. M. Irawan, R. Lesmana, and E. Sahiratmadja, "Hypochlorous Acid for Wound Healing in Diabetic Rats: Effect on MMP-9 and Histology," *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* 17 (2024): 1853–1861, <https://doi.org/10.2147/CCID.S468494>.
76. S. L. Chang, "Modern Concept of Disinfection," *Journal of the Sanitary Engineering Division* 97, no. 5 (1971): 689–707, <https://doi.org/10.1061/JSEDAI.0001315>.
77. K. Apostolov, "The Effects of Iodine on the Biological Activities of Myxoviruses," *Journal of Hygiene* 84, no. 3 (1980): 381–388, <https://doi.org/10.1017/S0022172400026905>.
78. D. Lepelletier, J. Y. Maillard, B. Pozzetto, and A. Simon, "Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and *Staphylococcus aureus* Decolonization," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 64 (2020): e00682-20, <https://doi.org/10.1128/AAC.00682-20>.
79. P. L. Bigliardi, S. A. L. Alsagoff, H. Y. El-Kafrawi, J. K. Pyon, C. T. C. Wa, and M. A. Villa, "Povidone Iodine in Wound Healing: A Review of Current Concepts and Practices," *International Journal of Surgery* 44 (2017): 260–268, <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2017.06.073>.
80. H. Rackur, "New Aspects of Mechanism of Action of Povidone-Iodine," *Journal of Hospital Infection* 6, no. Suppl A (1985): 13–23, [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(85\)80041-4](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(85)80041-4).
81. W. Gottardi, "Potentiometrische Bestimmung Der Gleichgewichtskonzentrationen an Freiem Und Komplex Gebundenem Iod in Wässrigen Lösungen Von Polyvinylpyrrolidon-Iod (PVP-Iod)," *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* 314 (1983): 582–585, <https://doi.org/10.1007/BF00474852>.
82. E. Pedrotti, E. Bonacci, R. Kilian, et al., "The Role of Topical Povidone-Iodine in the Management of Infectious Keratitis: A Pilot Study," *Journal of Clinical Medicine* 11, no. 3 (2022): 848, <https://doi.org/10.3390/jcm11030848>.
83. S. Nair, A. Zhu, M. Jaffry, H. Choudhry, and M. H. Dastjerdi, "Povidone-Iodine Adverse Effects and Alternatives for Ocular Procedures," *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics* 39, no. 3 (2023): 207–214, <https://doi.org/10.1089/jop.2022.0122>.
84. S. Kim, Y. Ahn, Y. Lee, and H. Kim, "Toxicity of Povidone-Iodine to the Ocular Surface of Rabbits," *BMC Ophthalmology* 20 (2020): 359, <https://doi.org/10.1186/s12886-020-01615-6>.
85. W. K. Alsarhani, A. Basiliou, M. M. Popovic, S. Alshaker, and C. C. Chan, "Povidone-Iodine in the Treatment of Infectious Keratitis: A Systematic Review," *AJO* 2, no. 2 (2025): 100137, <https://doi.org/10.1016/j.ajoint.2025.100137>.
86. D. W. Stroman, K. Mintun, A. B. Epstein, et al., "Reduction in Bacterial Load Using Hypochlorous Acid Hygiene Solution on Ocular Skin," *Clinical Ophthalmology* 11 (2017): 707–714, <https://doi.org/10.2147/oph.1312851>.
87. J. Gard, D. Taylor, R. Maloney, et al., "Preliminary Evaluation of Hypochlorous Acid Spray for Treatment of Experimentally Induced Infectious Bovine Keratoconjunctivitis," *Bovine Practitioner* 50, no. 2 (2016): 180–189.
88. S. Sakarya, N. Gunay, M. Karakulak, B. Ozturk, and B. Ertugrul, "Hypochlorous Acid: An Ideal Wound Care Agent With Powerful Microbicidal, Antibiofilm, and Wound Healing Potency," *Wounds* 26 (2014): 342–350.
89. T. Chen and D. A. Ward, "Tear Volume, Turnover Rate, and Flow Rate in Ophthalmologically Normal Horses," *American Journal of Veterinary Research* 71, no. 6 (2010): 671–676, <https://doi.org/10.2460/ajvr.71.6.671>.
90. C. M. Lederer, Jr. and R. E. Harold, "Drop Size of Commercial Glaucoma Medications," *American Journal of Ophthalmology* 101 (1986): 691–694, [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(86\)90771-3](https://doi.org/10.1016/0002-9394(86)90771-3).
91. N. Whelan, "Routes of Administration for Ocular Medications in Animals," In: *MSD Veterinary Manual, Veterinary Pharmacology*; reviewed Oct 2021, modified Sept 2024, <https://www.msdsmanual.com/pharmacology/systemic-pharmacotherapeutics-of-the-eye/route-s-of-administration-for-ocular-medications-in-animals>.
92. B. Beckwith-Cohen, D. Elad, T. Bdoiah-Abram, and R. Ofri, "Comparison of Tear pH in Dogs, Horses, and Cattle," *American Journal of Veterinary Research* 75, no. 5 (2014): 494–499, <https://doi.org/10.2460/ajvr.75.5.494>.
93. D. T. Strubbe, D. E. Brooks, G. S. Schultz, et al., "Evaluation of Tear Film Proteins in Horses With Ulcerative Keratitis," *Veterinary Ophthalmology* 10, no. 2–3 (2000): 111–119, <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.2000.00093.x>.
94. F. J. Ollivier, B. C. Gilger, K. P. Barrie, et al., "Proteinases of the Cornea and Preclear Tear Film," *Veterinary Ophthalmology* 10, no. 4 (2007): 199–206, <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2007.00527.x>.
95. D. E. Brooks and F. J. Ollivier, "Matrix Metalloproteinase Inhibition in Corneal Ulceration," *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 34 (2004): 611–622, <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2003.12.005>.

96. S. L. Percival, S. McCarty, J. A. Hunt, and E. J. Woods, "The Effects of pH on Wound Healing, Biofilms, and Antimicrobial Efficacy," *Wound Repair and Regeneration* 22, no. 2 (2014): 174–186, <https://doi.org/10.1111/wrr.12125>.
97. C. Wiegand, M. Abel, P. Ruth, P. Elsner, and U. C. Hipler, "pH Influence on Antibacterial Efficacy of Common Antiseptic Substances," *Skin Pharmacology and Physiology* 28, no. 3 (2015): 147–158, <https://doi.org/10.1159/000367632>.
98. V. Antoniadis, C. D. Tsadilas, V. Samaras, and J. Sgouras, "Availability of Heavy Metals Applied to Soil Through Sewage Sludge," in *Trace Elements in the Environment* (CRC Press, 2005), 39–61.
99. G. Rossi-Fedele, A. R. Guastalli, E. J. Doğramaci, L. Steier, and J. A. P. de Figueiredo, "Influence of pH Changes on Chlorine-Containing Endodontic Irrigating Solutions," *International Endodontic Journal* 44, no. 9 (2011): 792–799, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2591.2011.01911.x>.
100. N. Kapalschinski, H. M. Seipp, A. B. Onderdonk, et al., "Albumin Reduces the Antibacterial Activity of Polyhexanide-Biguanide-Based Antiseptics Against Staphylococcus Aureus and MRSA," *Burns* 39, no. 6 (2013): 1221–1225, <https://doi.org/10.1016/j.burns.2013.03.003>.
101. H. M. Terhaar, R. A. Allbaugh, J. P. Mochel, and L. Sebbag, "Serum Albumin and Total Protein Concentration in the Tear Film of Horses With Healthy or Diseased Eyes," *Veterinary Ophthalmology* 24, no. 1 (2021): 20–27, <https://doi.org/10.1111/vop.12822>.
102. M. Ishihara, K. Murakami, K. Fukuda, et al., "Stability of Weakly Acidic Hypochlorous Acid Solution With Microbicidal Activity," *Biocontrol Science* 22 (2017): 223–227, <https://doi.org/10.4265/bio.22.223>.
103. J. W. Yap, N. I. Ismail, C. S. Lee, and D. Y. Oh, "Impact of Interfering Substances on the Bactericidal Efficacy of Different Commercially Available Hypochlorous Acid-Based Wound Irrigation Solutions Commonly Found in South-East Asia," *Antibiotics* 13, no. 4 (2024): 309, <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040309>.
104. J. D. Rembe, V. D. Thompson, and E. K. Stuermer, "Antimicrobials Cetylpyridinium-Chloride and Miramistin Demonstrate Non-Inferiority and no "Protein-Error" Compared to Established Wound Care Antiseptics In Vitro," *AIMS Microbiology* 8, no. 4 (2022): 372–387, <https://doi.org/10.3934/microbiol.2022026>.
105. L. Coleman, J. R. G. Adams, W. Buchanan, T. Chen, R. M. La Ragione, and L. X. Liu, "Non-Antibiotic Compounds Synergistically Kill Chronic Wound-Associated Bacteria and Disrupt Their Biofilms," *Pharmaceutics* 15, no. 6 (2023): 1600, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15061600>.
106. P. J. Alves, R. T. Barreto, B. M. Barrois, L. G. Gryson, S. Meaume, and S. J. Monstrey, "Update on the Role of Antiseptics in the Management of Chronic Wounds With Critical Colonisation and/or Biofilm," *International Wound Journal* 18, no. 3 (2021): 342–358, <https://doi.org/10.1111/iwj.13553>.
107. S. Morandi, P. Cremonesi, E. Capra, et al., "Molecular Typing and Differences in Biofilm Formation and Antibiotic Susceptibilities Among Prototheca Strains Isolated in Italy and Brazil," *Journal of Dairy Science* 99, no. 8 (2016): 6436–6445, <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10766>.
108. O. Aherne, R. Ortiz, M. M. Fazli, and J. R. Davies, "Effects of Stabilized Hypochlorous Acid on Oral Biofilm Bacteria," *BMC Oral Health* 22 (2022): 415, <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02453-2>.
109. M. J. Haws, M. K. Gingrass, R. S. Porter, and C. T. Brindle, "Surgical Breast Pocket Irrigation With Hypochlorous Acid (HOCl): An In Vivo Evaluation of Pocket Protein Content and Potential HOCl Antimicrobial Capacity," *Aesthetic Surgery Journal* 38, no. 11 (2018): 1178–1184, <https://doi.org/10.1093/asj/sjy031>.
110. S. Croes, R. H. Deurenberg, M. L. L. Boumans, P. S. Beisser, C. Neef, and E. E. Stobberingh, "Staphylococcus aureus Biofilm Formation at the Physiological Glucose Concentration Depends on the S. aureus Lineage," *BMC Microbiology* 9 (2009): 229, <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-229>.
111. C. Lembke, A. Podbielski, C. Hidalgo-Grass, L. Jonas, E. Hanski, and B. Kreikemeyer, "Characterization of Biofilm Formation by Clinically Relevant Serotypes of Group A Streptococci," *Applied and Environmental Microbiology* 72, no. 4 (2006): 2864–2875, <https://doi.org/10.1128/AEM.72.4.2864-2875.2006>.
112. M. Kwon, M. S. Hussain, and D. H. Oh, "Biofilm Formation of Bacillus cereus Under Food-Processing-Related Conditions," *Food Science and Biotechnology* 26, no. 4 (2017): 1103–1111, <https://doi.org/10.1007/s10068-017-0129-8>.
113. J. G. E. Wijman, P. P. L. A. De Leeuw, R. Moezelaar, M. H. Zwietering, and T. Abee, "Air-Liquid Interface Biofilms of Bacillus cereus: Formation, Sporulation, and Dispersion," *Applied and Environmental Microbiology* 73, no. 5 (2007): 1481–1488, <https://doi.org/10.1128/AEM.01781-06>.
114. P. Castaneda, A. McLaren, G. Tavaziva, and D. Overstreet, "Biofilm Antimicrobial Susceptibility Increases With Antimicrobial Exposure Time," *Clinical Orthopaedics and Related Research* 474, no. 7 (2016): 1659–1664, <https://doi.org/10.1007/s11999-016-4700-z>.
115. K. J. Grobe, J. Zahller, and P. S. Stewart, "Role of Dose Concentration in Bioicidal Efficacy Against Pseudomonas aeruginosa Biofilms," *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 29, no. 1 (2002): 10–15, <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000256>.
116. M. Wilson, "Bacterial Biofilms and Human Disease," *Science Progress* 84, no. 3 (2001): 235–254, <https://doi.org/10.3184/003685001783238998>.
117. N. C. Santos, L. B. de Sousa, D. de Freitas, M. P. Rigueiro, and M. J. Scarpí, "Toxicidade Córneo-Conjuntival do Colírio de Iodo-Povidona: Estudo Experimental," *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia* 66, no. 3 (2003): 279–288.
118. J. Freney, M. O. Husson, F. Gavini, et al., "Susceptibilities to Antibiotics and Antiseptics of New Species of the Family Enterobacteriaceae," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 32, no. 6 (1988): 873–876, <https://doi.org/10.1128/AAC.32.6.873>.
119. S. F. Vontobel, E. M. Abad-Villar, C. Kaufmann, A. S. Zinkernagel, P. C. Hauser, and M. A. Thiel, "Corneal Penetration of Polyhexamethylene Biguanide and Chlorhexidine Digluconate," *Journal of Clinical and Experimental Ophthalmology* 6, no. 3 (2015): 430, <https://doi.org/10.4172/2155-9570.1000430>.
120. F. Hansmann, H. Below, A. Kramer, G. Müller, and G. Geerling, "Prospective Study to Determine the Penetration of Iodide Into the Anterior Chamber Following Preoperative Application of Topical 1.25% Povidone-Iodine," *Graef's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 245 (2007): 789–793, <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0320-8>.

5 Diskussion

5.1 Einordnung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit zeigten Polyhexamethylenbiguanid, Povidon-Iod und hypochlorige Säure eine ausgeprägte *in vitro*-bakterizide Aktivität gegenüber klinisch relevanten bakteriellen Erregern der equinen ulzerativen Keratitis. Die minimalen bakteriziden Konzentrationen (MBC) lagen insgesamt bei maximal 6,4 ppm für PHMB und HOCl sowie bei 32 ppm für PVP-I und umfassten sowohl grampositive als auch gramnegative Erreger. Diese Befunde bestätigen eine antimikrobielle Wirksamkeit der untersuchten Substanzen unter standardisierten Bedingungen.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit bisherigen tiermedizinischen Studien. Eine rasche bakterizide *in vitro*-Aktivität von PHMB, PVP-I und HOCl gegenüber *Pantoea agglomerans* Isolaten aus equinen Proben, wurde bereits beschrieben (Heun et al., 2025). Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Konzentrationsbereiche liegen in einer vergleichbaren Größenordnung und stützen die Relevanz dieser Substanzen gegenüber für das Pferd typischen Erregern.

Auch gegenüber kaninen und felinen Isolaten aus infektiösen Keratitiden konnten ähnliche Ergebnisse erhoben werden, was die experimentell belegte antimikrobielle Aktivität der untersuchten Antiseptika gegenüber einem breiten Spektrum klinisch relevanter okulärer Pathogene zusätzlich bestätigt (Wolff et al., 2025).

Im Vergleich mit humanmedizinischen Daten zeigen sich ebenfalls Übereinstimmungen. Für PHMB wurden minimale Hemm- und Abtötungskonzentrationen im Bereich von 0,1–25 ppm beschrieben (Fabry et al., 2013; Hübner & Kramer, 2010). Für PVP-I wurden in aktuellen Studien bakterizide Effekte ab etwa 90 ppm genannt (Sauerbrei, 2020), was etwa dem Doppelten der in der vorliegenden Arbeit ermittelten Konzentration von 32 ppm entspricht.

Die bakterizide Aktivität von HOCl ist ab 2,75 ppm beschrieben (Sakarya et al., 2014; Wang et al., 2023). In einzelnen Modellen waren jedoch höhere Konzentrationen bis 150 ppm erforderlich, um eine Abtötung von *Staphylococcus aureus* zu erreichen (Brezvyn et al., 2024).

In der vorliegenden Untersuchung zeigten klinische Isolate und Referenzstämme keine systematischen Unterschiede in ihrer Empfindlichkeit gegenüber PHMB, PVP-I und HOCl, auch wenn innerhalb einzelner Spezies eine gewisse Variabilität der MBC-Werte beobachtet wurde. Dieses Verhalten steht im Gegensatz zu den häufig deutlich abweichenden Empfindlichkeitsprofilen klinischer Isolate gegenüber Antibiotika, die durch Selektionsdruck und Adaptationsmechanismen geprägt sein können (Davies & Davies, 2010; McDonnell & Russell, 1999). Eine vergleichbare Empfindlichkeit antibiotikaresistenter und -sensibler *Staphylococcus aureus*-Stämme gegenüber PHMB wurde bereits in der Literatur beschrieben (Fabry et al.,

2013). Auch für Antiseptika im Allgemeinen wird eine geringe Neigung zur Resistenzentwicklung angenommen (Wiegand et al., 2009).

Die breite antimikrobielle Aktivität ist biologisch plausibel und lässt sich durch die unspezifischen Wirkmechanismen der Substanzen erklären. PHMB interagiert elektrostatisch mit bakteriellen Membranen, kann intrazellulär wirken und zur Kondensation bakterieller DNA führen (Allen et al., 2004; Chindera et al., 2016; Sowlati-Hashjin et al., 2020). PVP-I entfaltet seine Wirkung über die Freisetzung von elementarem Iod, das Proteine, Enzyme und Nukleinsäuren oxidativ schädigt (Gottardi, 1983; Lepelletier et al., 2020; Rackur, 1985). HOCl wirkt als starkes Oxidationsmittel auf eine Vielzahl mikrobieller Zielstrukturen und ist Bestandteil der angeborenen Immunabwehr (Wang et al., 2023). Diese unspezifischen Wirkmechanismen erklären die hohe Wirksamkeit gegenüber unterschiedlichen bakteriellen Spezies und das geringe Resistenzpotenzial.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse, dass PHMB, PVP-I und HOCl *in vitro* bereits in sehr niedrigen Konzentrationen eine ausgeprägte bakterizide Wirkung gegenüber typischen Erregern der equinen Keratitis entfalten. Die Befunde fügen sich konsistent in die vorhandene Literatur ein und bilden die Grundlage für die weitere klinische Einordnung.

5.1.1 Klinische Bedeutung

Die in dieser Arbeit nachgewiesene hohe *in vitro*-Wirksamkeit von PHMB, PVP-I und HOCl gegenüber klinisch relevanten bakteriellen Isolaten aus equiner Keratitis ist vor dem Hintergrund der klinischen Charakteristik dieser Erkrankung von Bedeutung. Diese Erkrankung ist häufig durch rasche Progression, ausgeprägte Entzündungsreaktionen und ein hohes Risiko stromaler Destruktion gekennzeichnet (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022; Reed et al., 2013; Sauer et al., 2003). Komplikationen, teils mit der Notwendigkeit chirurgischer Intervention treten regelmäßig auf und beeinflussen die Prognose maßgeblich. Eine frühzeitige Reduktion der mikrobiellen Last ist daher prognostisch von großer Relevanz (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022; Reed et al., 2013).

Hohe mikrobielle Belastungen auf der okulären Oberfläche und im Bereich des Ulkusbettes gehen mit einer ausgeprägteren Entzündungsreaktion, gesteigerter proteolytischer Aktivität sowie einer beschleunigten Destruktion des stromalen Gewebes einher (Brooks & Galera, 2012; Keller & Hendrix, 2005; Sauer et al., 2003). Die *in vitro* belegte bakterizide Wirksamkeit der untersuchten Antiseptika bereits in niedrigen Konzentrationen weist auf ihr Potenzial zur schnellen Reduktion dieser bakteriellen Last in frühen Krankheitsstadien hin.

In der klinischen Praxis erfolgt die antimikrobielle Therapie der equinen Keratitis häufig empirisch, da mikrobiologische Ergebnisse initial meist nicht vorliegen (Cullen et al., 2019; Reed et al., 2013). Gleichzeitig zeigen mehrere Studien eine zunehmende Resistenzentwicklung typischer okulärer Erreger gegenüber gängigen Antibiotika (Deniaud & Tee, 2023; Foote

et al., 2023; Mustikka et al., 2020; Vercruyse et al., 2022; Verdenius et al., 2024). Vor diesem Hintergrund besitzen antimikrobielle Substanzen mit breitem Wirkspektrum und geringer Anfälligkeit für Resistenzentwicklung besondere konzeptionelle Bedeutung.

Ein weiterer klinisch relevanter Aspekt ist die Geschwindigkeit der antimikrobiellen Wirkung. Für PHMB, PVP-I und HOCl wurden in equinen *in vitro*-Modellen bakterizide Effekte schon innerhalb von 15 Sekunden beschrieben (Heun et al., 2025). Dies ist im Kontext der in der Praxis erforderlichen intensiven Applikationsintervalle relevant, bei denen kurze Kontaktzeiten mit der okulären Oberfläche die Regel sind (Brooks & Galera, 2012; Reed et al., 2013).

Die Behandlung der equinen Keratitis erfolgt in der Regel multimodal und umfasst neben der antimikrobiellen Therapie Maßnahmen zur Kontrolle der Proteolyse, zur Schmerztherapie sowie gegebenenfalls chirurgische Interventionen (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022; Reed et al., 2013). In der klinischen Praxis werden Antiseptika bislang überwiegend im Rahmen von Spülungen, zur Dekontamination der okulären Oberfläche sowie perioperativ eingesetzt und bislang nicht als primäre antimikrobielle Therapie bei equiner Keratitis. Dementsprechend liefern die in der Arbeit gezeigten *in vitro*-Wirksamkeiten von PHMB, PVP-I und HOCl eine experimentelle Grundlage für ihre Einordnung als mögliche Ergänzung im therapeutischen Gesamtkonzept. Sie ersetzt jedoch nicht die Notwendigkeit einer differenzierten klinischen Beurteilung und individueller Therapieentscheidungen. Außerdem spielen Antiseptika insbesondere im prophylaktischen Kontext eine besondere Rolle. Der Einsatz zur Reduktion der mikrobiellen Ausgangsbelastung der okulären Oberfläche, etwa perioperativ oder bei oberflächlichen epithelialen Defekten ohne manifeste Infektion, stellt eine rationale Strategie dar, um das Risiko sekundärer bakterieller Kolonisation zu minimieren. Im Gegensatz zu selektiv wirkenden Antibiotika ermöglichen Antiseptika hierbei eine unspezifische Reduktion eines breiten Spektrums potenzieller Pathogene, ohne gezielten Selektionsdruck auf einzelne Keimpopulationen auszuüben.

5.2 Übertragbarkeit auf die klinische Situation

5.2.1 Kontaktzeit, Retention und Verdünnung

Die Übertragbarkeit, der *in vitro* bestimmten bakteriziden Konzentrationen auf die klinische Situation, ist wesentlich durch die dynamischen Bedingungen an der okulären Oberfläche begrenzt. Nach topischer Applikation kommt es zu sehr rascher Verdünnung, wodurch die effektive Kontaktzeit deutlich verkürzt wird (Clode, 2010; Clode & Matthews, 2011; Nasisse & Nelms, 1992).

Das mittlere Tränenvolumen eines gesunden Pferdeauges beträgt circa 234 μL bei einer Turnover-Rate von 13,21 %/min und einer Flussrate von 33,62 $\mu\text{L}/\text{min}$, was einer vollständigen Erneuerung des gesamten Tränenfilms in etwa 7 Minuten entspricht.

Bei einem mittleren Tropfvolumen von circa 40 μL und einer Konjunktivalsackkapazität von bis zu 230 μL (Chen & Ward, 2010; Whelan, 2024) wären rein volumetrisch etwa sechs Tropfen erforderlich, um den Konjunktivalsack vollständig zu füllen. Zusätzlich beeinflussen jedoch Reflextänenfluss, häufiges Blinzeln, eventuelles Überlaufen bei Eingabe und der nasolakrimale Abfluss die Retention und damit die erreichbaren Oberflächenkonzentrationen, was zu deutlicher Reduktion der effektiven Wirkstoffkonzentration führt (Clode, 2010; Clode & Matthews, 2011).

In der klinischen Praxis wird versucht, diese Limitationen durch häufige Applikation bzw. durch Systeme zur wiederholten oder kontinuierlichen Gabe zu kompensieren. Hierfür werden insbesondere subpalpebrale Lavagesysteme eingesetzt (Giuliano et al., 2000; Nasisse & Nelms, 1992; Sherman et al., 2017). Gleichzeitig sind intensive Applikationsregime in der Therapie der equinen Keratitis etabliert, häufig mit Intervallen im Bereich von 30–120 Minuten (Brooks & Galera, 2012; Reed et al., 2013). Experimentelle Daten zeigen, dass bakterizide Effekte bei bestimmten Erregern bereits innerhalb sehr kurzer Zeiträume auftreten können. Für *Pantoea agglomerans* wurden bakterizide Effekte von PHMB, PVP-I und HOCl innerhalb von etwa 15 Sekunden beschrieben (Heun et al., 2025). Diese Befunde sind nicht direkt auf andere Spezies oder auf die *in vivo*-Situation übertragbar, weisen jedoch darauf hin, dass die intrinsische Abtötungskinetik der Substanzen grundsätzlich rasch ist, was das Applikationsregime beeinflusst. Eine stabile, definierte Oberflächenkonzentration lässt sich *in vivo* dennoch nur schwer messen und annehmen und ist multifaktoriell abhängig.

5.2.2 Einfluss von Proteinlast, pH und okulärem Milieu

Neben Verdünnung und mechanischem Abtrag beeinflusst die physiologische und insbesondere die entzündungsbedingt veränderte Zusammensetzung des okulären Milieus die Wirksamkeit topisch applizierter Antiseptika. *In vivo* wird die antimikrobielle Aktivität in erheblichem Maß durch die Proteinlast und das Vorhandensein organischen Materials auf der okulären Oberfläche modifiziert. Der sogenannte Proteinfehler beschreibt die Abschwächung der antimikrobiellen Wirkung durch Proteine, insbesondere Albumin, infolge einer Reduktion der frei verfügbaren Wirkstofffraktion (Kapalschinski et al., 2013). Der Tränenfilm gesunder Pferde enthält bereits relevante Proteinmengen, wobei der Albuminanteil bei entzündlichen Augenerkrankungen signifikant erhöht ist (Terhaar et al., 2021). Bei equiner ulzerativer Keratitis sind zusätzlich häufig fibrinöse Beläge, nekrotisches Gewebe, zellulärer Detritus und eitriges Exsudat vorhanden, sodass insgesamt von einer ausgeprägt protein- und debrisreichen Umgebung auszugehen ist, die die Wirksamkeit topisch applizierter Antiseptika weiter limitieren kann (Terhaar et al., 2021).

Für PHMB ist eine Wirkungsreduktion in proteinreicher Umgebung beschrieben (Kapalschinski et al., 2013). Auch für HOCl führt organisches Material zu einem raschen Wirkverlust (Rossi-

Fedele et al., 2011; Strubbe et al., 2000), während verdünnte PVP-I-Lösungen in proteinreicher Umgebung ebenfalls an antimikrobieller Aktivität verlieren (Rossi-Fedele et al., 2011). Zusätzlich können pH-Verschiebungen und lokale Milieufaktoren der entzündeten Oberfläche die Aktivität antiseptischer Substanzen beeinflussen, wobei pH-abhängige Veränderungen der Wirksamkeit für alle drei Antiseptika, insbesondere für PHMB beschrieben wurden (Ishihara et al., 2017; Wiegand et al., 2015; Yap et al., 2024). Vor diesem Hintergrund ist zu erwarten, dass *in vivo* höhere Wirkstoffkonzentrationen oder modifizierte Applikationsregime notwendig sein können, als durch *in vitro* MBC-Werte nahegelegt. Gleichzeitig könnten geeignete Formulierungs- oder Pufferstrategien dazu beitragen, den proteinbedingten Wirkverlust zumindest teilweise zu kompensieren.

5.2.3 Begrenzte stromale Penetration

Die korneale Barriere limitiert die Penetration topisch applizierter Substanzen in tiefere Stromaschichten. Epithel, Basalmembran und stromale Matrix stellen dabei eine wirksame Diffusionsbarriere dar, sodass antiseptische Effekte primär an der Oberfläche bzw. im Ulkusbett zu erwarten sind (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011).

Für PHMB wurde bereits in experimentellen Modellen eine begrenzte stromale Penetration beschrieben. Klinisch ist dies insofern relevant, als dass bei intrastromaler Invasion oder intrastromalen Abszessen nicht von ausreichenden Konzentrationen im Läsionszentrum ausgegangen werden kann (Hansmann et al., 2005). Ähnliche Limitationen gelten für HOCl-basierte Ansätze, bei denen eine effektive stromale Verteilung nicht belegt ist (Gard et al., 2016; Hejkal et al., 2022).

Auch bei bestehender epithelialer Defektbildung, wie sie bei ulzerativer Keratitis vorliegt, ist die Diffusion in tiefere Stromaschichten nicht unbegrenzt, da fibrinöse Beläge, nekrotisches Gewebe, Ödeme und entzündliche Infiltrate neben dem Verdünnungs- und Abschwächungseffekt als zusätzliche Diffusionsbarrieren wirken können (Brooks & Galera, 2012). In der klinischen Praxis werden jedoch auch bei solchen Läsionsformen regelmäßig topische Antibiotika eingesetzt, obwohl für viele Substanzen ebenfalls nur eine begrenzte stromale Penetration beschrieben oder nicht eindeutig belegt ist, darunter Gentamicin (Ellerhorst et al., 1975; Whelan, 2024), Polymyxin (Tasman & Jaeger, 2013) und Tetracycline (Rhee et al., 2024). Dies verdeutlicht, dass eine eingeschränkte Gewebepenetration ihren klinischen Einsatz nicht grundsätzlich ausschließt und legt nahe, dass Antiseptika in Abhängigkeit von Läsionstyp und Krankheitsausprägung ebenfalls ein therapeutisches Potenzial besitzen könnten.

Bei fortgeschrittenen Verläufen mit tiefer Stromabeteiligung ist jedoch eine alleinige Kontrolle über Oberflächenapplikation nicht realistisch (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Ollivier, 2004; Nasisse & Nelms, 1992; Sauer et al., 2003).

Zur Optimierung der Oberflächenwirkung werden verschiedene Strategien diskutiert. Mechanisches Debridement kann die Entfernung von nekrotischem Material fördern und die Exposition der Oberfläche verbessern, verändert die grundsätzliche Penetrationscharakteristik jedoch nicht (Borgia et al., 2023). Eine Verlängerung der Kontaktzeit, etwa durch geeignete Applikationsformen oder Trägerkonzepte, kann die Oberflächenwirkung unterstützen, bleibt jedoch durch die stromale Barriere limitiert (Meallet, 2006; Williams & Pinard, 2013).

Zur Verlängerung der Kontaktzeit und Verbesserung der lokalen Wirkstoffverfügbarkeit werden in der ophthalmologischen Forschung verschiedene Trägersysteme wie Hydrogele, nanopartikeläre Systeme, in-situ-gelierende Formulierungen oder kontaktlinsenbasierte Drug-Delivery-Systeme konzeptionell diskutiert (Gupta et al., 2013; Lapidot et al., 2018; Torres-Luna et al., 2020; Wuchte et al., 2021). Diese Ansätze befinden sich überwiegend im experimentellen Stadium und sind für Antiseptika wie PHMB, PVP-I oder HOCl bislang nicht klinisch etabliert. Invasive Applikationsformen wie subkonjunktivale oder intrastromale Injektionen sind in der Pferdeophthalmologie für Antibiotika und Antimykotika beschrieben, gelten für Antiseptika jedoch aufgrund potenzieller Gewebetoxizität und unspezifischer Zellschädigung als nicht geeignet und sind klinisch nicht etabliert (Brooks & Ollivier, 2004; Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011; Ledbetter & Scarlett, 2009; Lepelletier et al., 2020; Nasisse & Nelms, 1992; Wiegand et al., 2009). Damit sind PHMB, PVP-I und HOCl im klinischen Kontext primär zunächst als oberflächenwirksame, adjuvante Substanzen zu verorten.

5.3 Erregerspektrum und biologische Einordnung

5.3.1 Repräsentativität des untersuchten Erregerspektrums

Das in dieser Arbeit untersuchte Erregerspektrum umfasst überwiegend bakterielle Spezies, die typischerweise mit der equinen ulzerativen Keratitis assoziiert sind. Dazu zählen insbesondere grampositive Kokken wie *Staphylococcus*- und *Streptococcus*-Spezies sowie gramnegative Erreger wie *Pseudomonas aeruginosa* und Vertreter der Enterobacteriaceae. Diese Zusammensetzung entspricht damit in etwa den in der Literatur am häufigsten beschriebenen Isolaten bei equiner Keratitis (Brooks & Plummer, 2022; Cullen et al., 2019; Keller & Hendrix, 2005; Ollivier et al., 2007; Reed et al., 2013).

Die Zusammensetzung des Erregerspektrums unterliegt einer ausgeprägten regionalen Variabilität. Klimatische Bedingungen, Haltungsform, Management, Umweltbelastung und Vektorpräsenz beeinflussen die Exposition gegenüber bestimmten Keimen. In feucht-warmen Regionen werden häufiger gramnegative Umweltkeime und mykotische Erreger isoliert, während in gemäßigten Klimazonen grampositive Kokken dominieren (Clode & Matthews, 2011; Deniaud & Tee, 2023; Foote et al., 2023; Reed et al., 2013). Auch saisonale

Schwankungen wurden beschrieben, insbesondere im Zusammenhang mit erhöhter Insektenaktivität und Staubbelastung (Andrew et al., 2003; Cullen et al., 2019).

Die in dieser Arbeit untersuchten Isolate stammen aus einer definierten geographischen Region und spiegeln die dortige klinische Realität wider. Eine direkte Übertragbarkeit auf andere Regionen ist daher nur eingeschränkt möglich. Dennoch deckt das untersuchte Spektrum die in der Literatur am häufigsten beschriebenen bakteriellen Erreger ab und ist damit grundsätzlich als repräsentativ für die equine Keratitis in gemäßigten Klimazonen einzuordnen.

5.3.2 Bedeutung mykotischer Erreger

Unter diesem Erregerspektrum besitzen auch mykotische Keime eine hohe klinische Relevanz und sind insbesondere in bestimmten geographischen Regionen sowie unter spezifischen Umweltbedingungen häufig beteiligt. *Aspergillus*- und *Fusarium*-Spezies werden in zahlreichen Studien als die am häufigsten isolierten Pilze beschrieben, 2005; Ollivier et al., 2007; Reed et al., 2013). Die Prävalenz mykotischer Keratitiden variiert deutlich, in Abhängigkeit von Klima, Haltungsbedingungen und saisonalen Faktoren. Mykotische Keratitiden sprechen häufig schlecht auf konventionelle antimikrobielle Therapien an und weisen im Vergleich zu rein bakteriellen Infektionen eine ungünstigere Prognose auf (Clode & Matthews, 2011).

Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung beziehen sich zunächst ausschließlich auf bakterielle Isolate und erlauben keine Aussage zur antifungalen Wirksamkeit von PHMB, PVP-I oder HOCl.

Es existieren in der Literatur Hinweise auf eine fungizide Aktivität diverser Antiseptika. Während für PVP-I eine ausgeprägte fungizide Wirkung beschrieben ist (Barreto et al., 2020; Gottardi, 1983; Lachapelle et al., 2013; Rackur, 1985), ist die Evidenz für PHMB und HOCl gegenüber filamentösen Pilzen begrenzt und teils heterogen (Behrens-Baumann et al., 2012; Bradley et al., 2021; Kunisada et al., 1997; Niro et al., 2023; Odorcic et al., 2015). Diese Daten lassen sich jedoch nicht direkt auf die equine Kornea übertragen.

Die hohe klinische Bedeutung mykotischer Keratitiden unterstreicht die Notwendigkeit einer differenzierten Diagnostik und Therapie. Antiseptika könnten in diesem Kontext gegebenenfalls als Maßnahme zur Reduktion der Oberflächenkontamination, einschließlich Pilzen, betrachtet werden.

5.4 Biofilmbildung bei der equinen infektiösen Keratitis

5.4.1 Relevanz der Biofilme

Die Bildung bakterieller Biofilme stellt einen zentralen pathogenetischen Faktor bei chronischen und therapieresistenten Infektionen dar und besitzt auch im Kontext der equinen Keratitis hohe klinische Relevanz. Biofilme bestehen aus strukturierten Gemeinschaften von

Mikroorganismen, die in eine selbstproduzierte extrazelluläre Matrix eingebettet sind und sich an biologischen Oberflächen anheften (Costerton et al., 1999; Donlan & Costerton, 2002; Hall-Stoodley et al., 2004). Innerhalb dieser Struktur zeigen Bakterien eine deutlich erhöhte Toleranz gegenüber antimikrobiellen Substanzen sowie gegenüber der lokalen Immunabwehr.

Für zahlreiche Erreger, die typischerweise bei equiner Keratitis isoliert werden, darunter *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* und Vertreter der Enterobacteriaceae, ist die Fähigkeit zur Biofilmbildung gut dokumentiert (Hall-Stoodley et al., 2004; O'Toole et al., 2000; Percival et al., 2012). Auch Umweltkeime und *Bacillus*-Spezies, wie sie im equinen Umfeld häufig vorkommen, sind biofilmbildend (Branda et al., 2001; Vlamakis et al., 2013). Das in dieser Arbeit untersuchte Erregerspektrum umfasst somit überwiegend potenziell biofilmbildende Bakterien.

Klinisch kann das Vorhandensein von Biofilmen zu verzögertem Ansprechen, scheinbarer Therapieresistenz und Rezidiven nach initialer Besserung führen (Brooks & Galera, 2012; Brooks & Plummer, 2022; Keller & Hendrix, 2005; Ollivier et al., 2007). Dabei sind biofilmassoziierte Infektionen durch eine reduzierte metabolische Aktivität der Bakterien, veränderte Genexpression und eine eingeschränkte Penetration antimikrobieller Substanzen in die extrazelluläre Matrix gekennzeichnet (Costerton et al., 1999; Donlan & Costerton, 2002).

Für die equine Keratitis bedeutet dies, dass Therapieversagen und Rezidive nicht ausschließlich durch unzureichende Wirkstoffauswahl oder mangelnde Compliance erklärbar sind, sondern in vielen Fällen die Biofilmbildung berücksichtigt werden muss und dies in der adäquaten Therapie beachtet werden muss.

5.4.2 Wirksamkeit der Antiseptika gegenüber Biofilmen

Für Antiseptika wird im Vergleich zu Antibiotika ein grundsätzlich breiteres Wirkspektrum und eine geringere Abhängigkeit von spezifischen bakteriellen Stoffwechselwegen angenommen (Hübner & Kramer, 2010; Wessels & Ingmer, 2013).

Mehrere Studien zeigen, dass PHMB, PVP-I und HOCl Biofilm-zerstörende Eigenschaften besitzen. Für PHMB wurde eine ausgeprägte Wirkung auf Biofilmstrukturen beschrieben, die auf einer Störung der extrazellulären Matrix sowie auf direkten Effekten auf bakterielle Zellmembranen beruht (Hübner & Kramer, 2010; Percival et al., 2014; Wiegand et al., 2009). Auch für PVP-I liegen Hinweise auf eine effektive Penetration in Biofilmstrukturen und eine Reduktion der bakteriellen Viabilität vor (Gottardi, 1983; Lepelletier et al., 2020). HOCl zeigt ebenfalls eine solche Aktivität, die auf oxidativen Effekten auf Matrixbestandteile und mikrobielle Zellstrukturen beruht (Sakarya et al., 2014; Wang et al., 2023). Diese Effekte wurden überwiegend in *in vitro*-Modellen oder in nicht-okulären Geweben untersucht. Daten zur Wirksamkeit gegen Biofilme an der kornealen Oberfläche des Pferdes sind damit begrenzt. Die besonderen strukturellen und immunologischen Eigenschaften der Kornea sowie die dynamischen

Bedingungen an der okulären Oberfläche erschweren eine direkte Übertragung bestehender Ergebnisse (Brooks & Plummer, 2022; Keller & Hendrix, 2005).

Biofilmassoziierte Bakterien zeigen allerdings eine generell reduzierte Empfindlichkeit gegenüber antimikrobiellen Substanzen als ohne Biofilme, sodass allgemein höhere Konzentrationen und längere Expositionszeiten erforderlich sind (Costerton et al., 1999; Percival et al., 2014). Die in dieser Arbeit bestimmten MBC-Werte beziehen sich auf planktonische Bakterien, während bei biofilmassoziierten Infektionen sowohl ein deutlich höherer Wirkstoffbedarf als auch eine längere Kontaktzeit bis zum Wirkungseintritt anzunehmen ist. Gleichzeitig ist die Möglichkeit einer starken Dosissteigerung durch die begrenzte Gewebetoleranz der Kornea eingeschränkt, insbesondere bei vorgeschädigter Hornhaut und aktiver Entzündung mit erhöhtem Risiko irritativer oder zytotoxischer Effekte. Für PHMB und PVP-I wurden dosisabhängige lokale Reizwirkungen beschrieben, während HOCl insgesamt als besser verträglich gilt (Hübner & Kramer, 2010; Lepelletier et al., 2020; Sakarya et al., 2014). Die berichteten unerwünschten Effekte treten jedoch erst bei Konzentrationen auf, die deutlich oberhalb der für planktonische Bakterien erforderlichen wirksamen Bereiche liegen, sodass trotz der bestehenden nötigen Konzentrationssteigerungen ein breites therapeutisches Fenster verbleibt.

5.5 Methodische Einordnung der Studie

Die vorliegende Untersuchung basiert auf klinischen Isolaten aus Pferdenäugen mit ulzerativer Keratitis und bildet damit die reale Erregersituation im equinen klinischen Kontext ab. Die Auswahl der untersuchten Spezies orientiert sich an in der Literatur beschriebenen Erregerspektrum und ist biologisch plausibel (Cullen et al., 2019; Foote et al., 2023; Moore et al., 1995; Mustikka et al., 2020; Pate et al., 2006; Verdenius et al., 2024). Im Gegensatz zu Studien, die ausschließlich laboradaptierten Referenzstämmen verwenden, erhöht dies die biologische Relevanz der Ergebnisse und ihre Übertragbarkeit an die klinische Praxis (Brooks & Plummer, 2022; Clode & Matthews, 2011; Hamor & Whelan, 1999; Williams & Pinard, 2013).

Die Einbeziehung standardisierter Referenzstämmen dient der internen Plausibilitätsprüfung und reduziert methodenbedingte Verzerrungen. Die Testung in Triplikaten sowie die standardisierte Inokulumzubereitung stützen die Aussagekraft der Ergebnisse, trotz der begrenzten Stichprobe mit möglichen regionalen und zeitlichen Besonderheiten.

Die parallele Testung von PHMB, PVP-I und HOCl im identischen experimentellen Setup ermöglicht einen direkten Wirkstoffvergleich unter kontrollierten Bedingungen und reduziert methodisch bedingte Verzerrungen. Der Einbezug von Referenzstämmen unterstützt zudem die interne Validierung des Versuchsaufbaus. Das vergleichbare Reaktionsverhalten von Referenzstämmen und klinischen Isolaten unter den gewählten Bedingungen spricht für eine konsistente Methodik (Fabry et al., 2013; Wolff et al., 2025). Die standardisierte Durchführung

mit definierten Inokula, Inkubationszeiten und Endpunkten erhöht die interne Vergleichbarkeit der Ergebnisse (Clinical and Laboratory Standards Institute, 1999, 2024).

Dennoch zeigte sich zwischen den einzelnen klinischen Isolaten eine intraspezifische Variabilität der MBC-Werte, die je nach Erreger und Substanz bis zu mehrstufigen Verdünnungsunterschieden reichte. Diese Streuung ist vor dem Hintergrund des seriellen 1:1-Verdünnungsschemas methodisch nachvollziehbar, verdeutlicht jedoch zugleich die biologische Variabilität klinischer Isolate und die begrenzte Möglichkeit einer einheitlichen Keimeinstellung. Besonders ausgeprägt war dieses Phänomen bei *Bacillus cereus*, der in Vorversuchen und Positivkontrollen ein inkonsistentes Wachstum zeigte, sodass die Einstellung über 0,5 McFarland die Ziel-CFU nicht zuverlässig abbildete. Zur korrekten MBC-Bestimmung war daher eine vorgelegte Kalibrierung mit Korrekturfaktor erforderlich. Diese Beobachtungen unterstreichen, dass die ermittelten MBC-Werte keine absoluten Größen darstellen, sondern experimentabhängige Parameter sind, die durch stammspezifische Wachstumsdynamik und Vitalität beeinflusst werden können.

Die Versuche wurden in proteinfreiem Medium, unter konstanten pH-Bedingungen und mit definierter Expositionsdauer durchgeführt. Diese Bedingungen bilden die komplexe Situation an der entzündeten equinen Kornea nur eingeschränkt ab. Wie in Abschnitt 5.2 dargestellt, beeinflussen Proteinlast, pH-Verschiebungen, Tränenfilm-Turnover, Kontaktzeit und mechanischer Abtrag die Wirksamkeit topisch applizierter Substanzen *in vivo* erheblich. Die ermittelten MBC-Werte sind daher als experimentelle Minimalwerte unter idealisierten Laborbedingungen zu interpretieren.

Die Studie erfasste ausschließlich monobakterielle planktonische Isolate. Biofilmassoziierte Wachstumsformen oder multibakterielle Infektionen, die bei chronischen und therapieresistenten Verläufen eine relevante Rolle spielen, wurden nicht untersucht. Auch mykotische Erreger wurden nicht einbezogen. Angesichts der klinischen Bedeutung der vielfältigen Pathogene dieser Erkrankung beim Pferd lassen sich aus den vorliegenden Daten keine Aussagen zur klinischen Wirksamkeit der getesteten Substanzen ableiten.

Die Ergebnisse erlauben ausschließlich Aussagen zur *in vitro*-Wirksamkeit unter kontrollierten Bedingungen. Die strukturellen Limitationen des Modells müssen bei jeder klinischen Einordnung zu berücksichtigt werden.

Gleichzeitig liefert die Studie relevante Grundlageninformationen zur antimikrobiellen Aktivität von PHMB, PVP-I und HOCl gegenüber typischen Erregern der equinen ulzerativen Keratitis. Die vergleichende Bewertung der Substanzen im Kontext der vorhandenen Literatur trägt zum Verständnis ihrer potenziellen Rolle im therapeutischen Gesamtkonzept bei, ohne den Anspruch zu erheben, klinische Wirksamkeit direkt abzubilden.

5.6 Klinische Perspektive und Ausblick

5.6.1 Praktische Umsetzung im klinischen Alltag

Der Einsatz von Antiseptika bei der equinen ulzerativen Keratitis muss nicht nur unter pharmakologischen Gesichtspunkten, sondern auch im Hinblick auf klinische Wirksamkeit aufgrund von Störfaktoren und der praktischen Umsetzbarkeit bewertet werden. Die Therapie ist zeitintensiv, erfordert eine hohe Applikationsfrequenz und stellt erhebliche Anforderungen an Tier und Betreuungspersonal (Clode, 2010; Matthews, 2009). Die tatsächliche Effektivität ist daher wesentlich durch die konsequente Durchführung der Behandlung und die individuellen Patientenbedingungen mitbestimmt.

In der klinischen Praxis werden Antiseptika derzeit überwiegend zur Dekontamination der okulären Oberfläche, im Rahmen von Spülungen sowie präoperativ eingesetzt. Ein routinemäßiger Einsatz als primäre antimikrobielle Therapie bei equiner Keratitis ist bislang noch nicht etabliert (Brooks & Galera, 2012; Clode, 2010; Reed et al., 2013).

Durch Verdünnung, Tränenfilm-Turnover und mechanischen Abtrag sind bei topischer Applikation nur kurze effektive Kontaktzeiten zu erwarten, sodass eine relevante antibakterielle Wirkung eine hohe Applikationsfrequenz oder kontinuierliche Zufuhr erfordert. In der Praxis kommen hierfür subpalpebrale Lavagesysteme in Betracht, die eine regelmäßige Applikation ermöglichen (Clode, 2010; Giuliano et al., 2000; Nasisse & Nelms, 1992).

Die in dieser Arbeit ermittelten niedrigen MBC-Werte liegen deutlich unter den Konzentrationen handelsüblicher Präparate. Dies eröffnet einen therapeutischen Spielraum, um Verdünnungseffekte und Proteinbindung teilweise mit einer höheren Ausgangskonzentration zu kompensieren. Gleichzeitig ist die begrenzte Gewebetoleranz der teils vorgeschädigten Kornea zu berücksichtigen, sodass eine unkritische Hochdosierung nicht vertretbar erscheint. Vor diesem Hintergrund ist innerhalb dieses therapeutischen Fensters eine Konzentration zu bestimmen, die eine ausreichende antimikrobielle Wirksamkeit bei minimaler Gewebetoxizität gewährleistet.

Insgesamt sind Antiseptika im klinischen ophthalmologischen Alltag als potenziell sinnvolle Ergänzung innerhalb eines multimodalen Therapiekonzepts zu betrachten.

Sie sind mit antibiotischen oder antimykotischen Therapien, Proteaseinhibitoren, mydriatischen und analgetischen Maßnahmen sowie gegebenenfalls chirurgischen Interventionen abzustimmen, wobei sie einzelne Therapiekomponenten teilweise ersetzen und zur Optimierung der Gesamttherapie beitragen können.

PHMB, PVP-I und HOCI stellen zusammenfassend potenzielle antiseptische Therapieansätze dar, deren Anwendung jedoch eine sorgfältige Indikationsstellung und Anpassung an die jeweilige klinische Situation voraussetzt. Schmerzen, Blepharospasmus und Abwehrreaktionen können die regelmäßige Applikation erheblich erschweren und erfordern häufig eine begleitende Analgesie, Sedation oder Lokalanästhesie, wobei der Einsatz von Lavagesystemen die

praktische Anwendbarkeit verbessern kann. Die Effektivität antiseptischer Strategien ist insgesamt maßgeblich von der Infektionsausprägung, der praktischen Durchführbarkeit und individuellen klinischen Rahmenbedingungen abhängig.

5.6.2 Vergleich mit anderen Antiseptika

Neben den in dieser Arbeit untersuchten Substanzen existieren weitere antiseptische Wirkstoffe, die in der Human- und Tiermedizin eingesetzt werden und eine teils ausgeprägte antimikrobielle Wirksamkeit aufweisen. Ihre Vergleichbarkeit im Kontext der equinen Keratitis ist jedoch nur eingeschränkt gegeben, da für die Mehrzahl dieser Substanzen weder equine-spezifische Wirksamkeitsdaten noch systematische Untersuchungen zur Anwendung an der Hornhaut vorliegen. Die verfügbare Evidenz bezieht sich überwiegend auf die Wundantiseptik, Hautanwendungen oder humanmedizinische Studien und ist methodisch nicht direkt auf die Situation der ulzerierten equinen Kornea übertragbar (Hübner & Kramer, 2010; Koburger et al., 2010).

Chlorhexidin ist in verschiedenen medizinischen Bereichen etabliert und breit verfügbar, zeigt jedoch in alkoholbasierten Formulierungen bei direkter und längerer Exposition des kornealen Gewebes eine relevante dosisabhängige Zytotoxizität gegenüber Epithel und Stroma, teils mit hohen Endophthalmitisraten (Bates et al., 2025) wodurch seine therapeutische Anwendung an der Hornhaut limitiert ist (Bever et al., 2016; Epstein, 2021; Green et al., 1980; Murthy et al., 2002). In humanen klinischen Studien zur präinjektionellen Oberflächenantisepsis zeigten wässrige, alkoholfreie Chlorhexidinformulierungen (0,05–0,1 %) eine mit PVP-I vergleichbare antimikrobielle Wirksamkeit bei teils besserer subjektiver Verträglichkeit, geringerer Schmerzintensität und weniger ausgeprägter kornealer Epitheliopathie (Ali et al., 2021; Kanczler & Brzezińska, 2024; Merani et al., 2016; Mihalache et al., 2025; Oakley & Vote, 2016; Romano et al., 2024). So wird Chlorhexidin ophthalmologisch bereits in kurzzeitiger, niedrig konzentrierter Anwendung im Rahmen der Antisepsis vor intravitrealen Injektionen eingesetzt, sowie experimentell als intravitreales Therapeutikum untersucht.

Auch Octenidin ist in der Haut- und Wundantiseptik gut etabliert und weist dort eine nachgewiesene Wirksamkeit auf (Assadian, 2016), wobei sich die vorhandene Literatur zur ophthalmologischen Anwendung überwiegend auf periorbitale Applikation beschränkt oder explizit auf die fehlende Evidenz für eine sichere intraokuläre oder korneale Applikation hinweist (Langen et al., 2023; Matiasek et al., 2018).

Eine ebenfalls bekannte antimikrobielle Aktivität besitzt Hexamidin, ein organisches Diamidin, das seit den 1950er-Jahren eingesetzt wird. Im ophthalmologischen Kontext liegen vor allem Daten zur Behandlung der humanen Acanthamoeba-Keratitis vor. In klinischen Fallberichten wurde eine erfolgreiche Therapie mit 0,1 %igen Hexamidin-Diisethionat-Augentropfen ohne relevante lokale Reizerscheinungen beschrieben (Brasseur et al., 1994; Perrine et al., 1995).

Ergänzend wurden proteasehemmende Eigenschaften sowie antimikrobielle Effekte in tierexperimentellen Modellen berichtet (McClelland & Van Rooyen, 1949; Parisi et al., 2017).

Die okuläre Verträglichkeit von Hexamidin wird in Konzentrationen von 0,05–0,1 % überwiegend als gut eingeschätzt (Becker, 2007). *In vitro*-Untersuchungen zu kombinierten ophthalmischen Formulierungen mit Hexamidin und weiteren Wirkstoffen zeigten eine gute antimikrobielle Wirksamkeit ohne relevante Zytotoxizität bei kurzer Exposition (Mencucci et al., 2020). Für das Pferd fehlen bislang spezifische Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit von Hexamidin in der Veterinärmedizin und speziell an der Hornhaut, sodass eine belastbare Bewertung für die equine Keratitis derzeit nicht möglich ist.

Silberhaltige Präparate, einschließlich nanosilberbasierter Formulierungen, werden aufgrund ihrer antibakteriellen Eigenschaften in verschiedenen Wundkontexten eingesetzt. Die Datelage zur Anwendung im okulären Bereich ist jedoch begrenzt, insbesondere im Hinblick auf die Verträglichkeit an der Hornhaut, den Einfluss auf die Epithelheilung sowie potenzielle Ablagerungs- und Toxizitätseffekte (Krzemiński et al., 2024).

Vergleichbar verhält es sich mit Triclosan, das in standardisierten *in vitro*-Vergleichsstudien als Antiseptikum geführt und hinsichtlich seiner antimikrobiellen Wirksamkeit mit Substanzen wie PVP-I, Octenidin, PHMB und Chlorhexidin verglichen wird. Diese Daten stammen jedoch aus nicht-okulären Modellen und damit fehlen spezifische Untersuchungen zur kornealen Anwendung (Koburger et al., 2010).

Wasserstoffperoxid zeigt zwar eine rasche antimikrobielle Wirkung, ist jedoch mit ausgeprägter Gewebereizung und potenzieller Schädigung okulärer Strukturen assoziiert (Tripathi & Tripathi, 1989).

Ähnlich sind alkoholbasierte Antiseptika sowie organische Säuren wie Essigsäure aufgrund ihrer irritativen und zytotoxischen Effekte einzuordnen, die ihren Einsatz an der Kornea problematisch erscheinen lassen (Liu et al., 2016; Maurer & Parker, 2000).

N-Acetylcystein (NAC) wurde in der Ophthalmologie lange Zeit nicht als Antiseptikum, sondern primär aufgrund seiner mukolytischen, antioxidativen und proteasehemmenden Eigenschaften eingesetzt, insbesondere bei kornealen Läsionen, Keratitiden und chemischen Verletzungen (Walter et al., 2023; Wolff et al., 2025). In neueren *in vitro*-Studien konnte eine eigenständige starke antimikrobielle Wirksamkeit von NAC an klinischen bakteriellen Isolaten aus infizierten Augen von Hunden und Katzen nachgewiesen werden, unter anderem gegenüber *Staphylococcus pseudintermedius*, *Streptococcus canis* und *Pseudomonas aeruginosa* (Hawwash, 2024; Walter et al., 2023; Wolff et al., 2025). Entsprechende Ergebnisse liegen auch für den beim Pferd relevanten Erreger *Pantoea agglomerans* vor (Heun et al., 2025). Vor diesem Hintergrund wird NAC in aktuellen Arbeiten zunehmend als potenzielles antiseptisches Therapeutikum auch im Zusammenhang mit Keratitis diskutiert.

Für das Pferd existieren bislang keine direkten Vergleichsstudien, die unterschiedliche Antiseptika systematisch am Auge gegenüberstellen, sodass die aktuelle Datenlage keine belastbare Bewertung der relativen Eignung einzelner Substanzen für die equine Keratitis erlaubt. Die genannten Substanzen werden in der vorliegenden Arbeit nicht weiter berücksichtigt, da sie entweder eine relevante Gewebetoxizität aufweisen, keine belastbaren Daten zur okulären Verträglichkeit vorliegen oder keine ophthalmologische Anwendungserfahrung besteht. Während für PHMB, PVP-I und HOCl zumindest aus der Humanophthalmologie, der präoperativen Antiseptik und periokulären Anwendungen Daten zur Anwendung am Auge vorliegen und sie zu der vielversprechendsten Variante machen.

5.6.3 Einordnung im Kontext von One Health

Die Einordnung der vorliegenden Ergebnisse in das One-Health-Konzept ist vor dem Hintergrund der zunehmenden antimikrobiellen Resistenzentwicklung und teils Therapienotständen von besonderer Relevanz. Die Therapie der equinen Keratitis erfolgt in der klinischen Praxis häufig empirisch und unter Einsatz breit wirksamer Antibiotika (Brooks & Galera, 2012; Clode, 2010). Parallel zeigen aktuelle Studien eine zunehmende Resistenzentwicklung typischer okulärer Erreger gegenüber gängigen Wirkstoffen (Deniaud & Tee, 2023; Foote et al., 2023; Mustikka et al., 2020; Vercruysse et al., 2022; Verdenius et al., 2024).

Im Rahmen des One-Health-Ansatzes ist diese Entwicklung nicht isoliert zu betrachten. Bakterielle Erreger und Resistenzgene zirkulieren zwischen Tier, Mensch und Umwelt. Pferde können als Wirte potenziell zoonotischer Keime fungieren und als Reservoir für Resistenzdeterminanten dienen (Guardabassi et al., 2004; Weese, 2004). Die enge Exposition gegenüber Stallumgebung, Einstreu, Wasserquellen und Weideflächen begünstigt zudem den Kontakt mit Umweltkeimen, die sowohl veterinär- als auch humanmedizinische Relevanz besitzen. Die okuläre Oberfläche stellt in diesem Zusammenhang eine besonders anfällige Eintrittspforte dar.

Auf regulatorischer Ebene bildet die EU-Tierarzneimittelverordnung (EU) 2019/6 den verbindlichen Rahmen für den verantwortungsvollen Einsatz antimikrobieller Substanzen in der Veterinärmedizin. Sie fordert eine indikationsgerechte Anwendung, eine stärkere mikrobiologische Absicherung sowie eine Reduktion des Einsatzes kritisch wichtiger Antibiotika. Diese Vorgaben haben nicht die Einschränkung notwendiger Therapien als Ziel, sondern eine strukturierte und evidenzbasierte Steuerung des Antibiotikaeinsatzes (European Parliament and the Council of the European Union, 2019). EU-weite Analysen von Verbrauchs- und Resistenzdaten zeigen, dass der Veterinärsektor wesentlich zum Gesamtbild antimikrobieller Nutzung beiträgt und sektorübergreifende Strategien zur Eindämmung von Resistenzen erforderlich sind (European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) et al., 2024). Obwohl der Anteil der Pferdemedizin am Gesamtverbrauch geringer ist als in der Nutztierhaltung, bleibt er aufgrund

intensiver Therapieprotokolle bei bestimmten Erkrankungen, insbesondere der Keratitis, klinisch relevant.

Antiseptika wie PHMB, PVP-I und HOCl wirken über unspezifische physikochemische Mechanismen und zeigen in der Regel keine klassische Resistenzentwicklung (Wessels & Ingmer, 2013; Wiegand et al., 2015). Ihr Einsatz könnte dazu beitragen, den Selektionsdruck auf antibiotikaresistente Erreger zu reduzieren und den Antibiotikaverbrauch im okulären Bereich zu begrenzen. Dies ist nicht nur aus veterinärmedizinischer, sondern auch aus humanmedizinischer Perspektive relevant.

Darüber hinaus gelangen antimikrobielle Substanzen über Exsudate, Spülflüssigkeiten und Abwässer in die Umwelt. Strategien, die den Einsatz klassischer Antibiotika reduzieren, sind daher auch im Hinblick auf Umwelt- und Resistenzaspekte von Bedeutung. In welchem Ausmaß Antiseptika langfristig zur Reduktion der Resistenzproblematik beitragen können, lässt sich bislang nicht bestimmen.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Einordnung von PHMB, PVP-I und HOCl als potente Ergänzung im therapeutischen Spektrum der equinen Keratitis. Dies ist im Sinne eines reduzierten, rationalen, indikationsbezogenen Antibiotikamanagements, und hat das Ziel, den Einsatz klassischer Antibiotika perspektivisch zu reduzieren.

Zwar erlauben die vorliegenden Daten keine quantitative Abschätzung des tatsächlich erreichbaren Einsparpotenzials, sie unterstreichen jedoch das grundsätzliche Potenzial antiseptischer Strategien, den antibiotischen Selektionsdruck zu verringern und damit langfristig zur Eindämmung von Resistenzentwicklungen beizutragen.

5.7 Ausblick

Die vorliegende Arbeit liefert systematische *in vitro*-Daten zur bakteriziden Wirksamkeit von PHMB, PVP-I und HOCl gegenüber klinischen Isolaten aus der equinen ulzerativen Keratitis. Diese Ergebnisse erweitern die bestehende Datenlage und schaffen eine experimentelle Grundlage für die weitere Einordnung dieser Substanzen im therapeutischen Kontext. Gleichzeitig wird deutlich, dass zentrale Aspekte der klinischen Anwendung bislang unzureichend untersucht sind.

Die potentielle langfristige korneale Zytotoxizität und dosisabhängige Langzeitverträglichkeit von PHMB, PVP-I und HOCl am Pferdeauge sind bislang unzureichend untersucht. Während für alle drei Substanzen umfangreichere Daten aus der Humanmedizin und der Wundbehandlung vorliegen, existieren spezifische Studien zur wiederholten oder längerfristigen Anwendung an der equinen Kornea nur in sehr begrenztem Umfang.

PVP-I ist in der Ophthalmologie seit Jahrzehnten etabliert, insbesondere in der präoperativen Antiseptik, und gilt bei kurzfristiger Anwendung als gut verträglich (Lepelletier et al., 2020). Gleichzeitig sind dosisabhängige Reizwirkungen, verzögerte Epithelisierung und zytotoxische

Effekte bei hohen Dosierungen beschrieben worden (Hübner & Kramer, 2010; Lepelletier et al., 2020) welche insbesondere bei vorgeschädigter Hornhaut klinisch relevant sind.

PHMB wird in der Wundtherapie und in der Kontaktlinsenhygiene eingesetzt und zeigt dort bei sachgemäßer Anwendung eine gute Gewebeverträglichkeit. *In vitro* wurden jedoch dosisabhängige zytotoxische Effekte auf epitheliale Zellen nachgewiesen, deren klinische Relevanz für die equine Kornea bislang nicht geklärt ist (Hübner & Kramer, 2010).

HOCl wird aufgrund seiner physiologischen Rolle in der angeborenen Immunabwehr und seiner grundsätzlich guten Verträglichkeit in verschiedenen medizinischen Bereichen eingesetzt (Sakarya et al., 2014). Spezifische Daten zur Langzeitanwendung am Pferdeauge fehlen jedoch. Bei häufiger Applikation können irritative Effekte und Störungen der epithelialen Barriere nicht ausgeschlossen werden, auch wenn ein für die ophthalmologische Anwendung zugelassenes Präparat auf eine grundsätzlich gute lokale Verträglichkeit hinweist.

Diese Evidenzlücke zu dosisabhängiger Zytotoxizität und Langzeitverträglichkeiten limitiert die Möglichkeit, belastbare Empfehlungen für den Einsatz bei chronischen Verläufen oder wiederholter Applikation abzuleiten.

Zukünftige Studien sollten sich außerdem auf die generelle *in vivo*-Wirksamkeit und die erreichbaren Oberflächenkonzentrationen konzentrieren. Von besonderem Interesse sind der Einfluss von Proteinlast, pH-Verschiebungen, Biofilmbildung und stromaler Invasion auf die Wirksamkeit der Substanzen. Ebenso stellen die Effekte auf die Biofilmbildung an der kornealen Oberfläche sowie die Wirksamkeit gegenüber mykotischen Erregern relevante Forschungslücken dar. Auch Ansätze diese Störfaktoren abzuschwächen könnten Inhalte neuer Studien werden.

Darüber hinaus ist die Einbindung antiseptischer Strategien in ein rationales antimikrobielles Gesamtkonzept weiter zu untersuchen. In welchem Umfang Antiseptika künftig dazu beitragen können, den Einsatz klassischer Antibiotika bei equiner Keratitis zu reduzieren, lässt sich derzeit noch nicht abschließend vorhersagen. Die vorliegenden Ergebnisse liefern jedoch eine sehr solide und vielversprechende Datengrundlage, die den klinischen Einsatz antiseptischer Strategien grundsätzlich rechtfertigt.

Vor diesem Hintergrund erscheint insbesondere die Durchführung klinischer Studien für alle drei untersuchten Substanzen sinnvoll, um ihr Potenzial im therapeutischen und prophylaktischen Einsatz weiter zu evaluieren und perspektivisch konkrete Anwendungskonzepte ableiten zu können. Spezifische Empfehlungen für wiederholte oder längerfristige Anwendungen lassen sich zum jetzigen Zeitpunkt zwar noch nicht formulieren, die verfügbaren experimentellen Daten sprechen jedoch dafür, antiseptische Strategien künftig stärker in der klinischen Praxis zu berücksichtigen und in zukünftige Behandlungskonzepte zu integrieren.

6 Zusammenfassung

Leonie Maria Stolle

***In vitro*-Untersuchungen zu antiseptischen Therapieansätzen bei der infektiösen Keratitis des Pferdes**

Die infektiöse Keratitis stellt beim Pferd eine klinisch hochrelevante und potenziell visusgefährdende Erkrankung dar, die häufig mit rascher Progression, ausgeprägter Entzündungsreaktion und erheblicher stromaler Gewebedestruktion einhergeht. Die derzeit etablierten therapeutischen Konzepte basieren primär auf der lokalen antibiotischen Behandlung, sind jedoch in ihrer Wirksamkeit durch zunehmende Resistenzentwicklungen, pharmakokinetische Limitationen sowie die regulatorischen Einschränkungen beim Antibiotikaeinsatz eingeschränkt. Vor diesem Hintergrund besteht ein langfristiger Bedarf an ergänzenden antimikrobiellen Strategien.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die generelle *in vitro*-Wirksamkeit ausgewählter antiseptischer Substanzen zu untersuchen, die potenziell zur Ergänzung der Therapie der equinen infektiösen Keratitis geeignet sind, bislang jedoch nicht routinemäßig oder langfristig eingesetzt werden. Die Wirksamkeit wurde anhand der Bestimmung der minimalen bakteriziden Konzentration (MBC) als Maß für die bakterizide Effektivität der Substanzen bewertet.

Im Versuchsdesign wurden Povidon-Iod, hypochlorige Säure und Polyhexanid untersucht. Als Testorganismen dienten klinische bakterielle Isolate aus equinen infektiösen Keratitiden, darunter *Staphylococcus aureus* (einschließlich methicillin-resistenter Isolate), *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*, *Enterobacter hormaechei* und *Bacillus cereus*. Ergänzend wurden Referenzstämme in das Versuchsdesign integriert. Die Bestimmung der MBC-Werte erfolgte mittels standardisiertem Mikrodilutionsverfahren in Anlehnung an etablierte Protokolle. Die antiseptischen Substanzen wurden seriell verdünnt und in definierten Konzentrationsstufen getestet. Als Inokulum wurde eine standardisierte Bakteriensuspension mit einer Zielkonzentration von $1,5 \times 10^6$ KBE/mL verwendet. Nach Inkubation erfolgte die Beurteilung der bakteriziden Wirkung durch Subkultivierung auf Agarplatten und Auszählung vitaler Kolonien. Die MBC wurde als die niedrigste Konzentration definiert, bei der $\geq 99,9\%$ der Ausgangskeime abgetötet waren. Alle Isolate wurden in Triplikaten getestet, positive und negative Kontrollen wurden in jedem Versuchsansatz mitgeführt.

Polyhexanid zeigte für alle getesteten Isolate MBC-Werte zwischen 0,8 und 6,4 ppm. Für *Staphylococcus aureus* lagen die Werte überwiegend im Bereich von 0,8–3,2 ppm, für *Streptococcus equi subsp. zooepidemicus* überwiegend bei 1,6 ppm. *Enterobacter hormaechei* wies MBC-Werte von 0,8–1,6 ppm auf, *Bacillus cereus* von 1,6–6,4 ppm.

Für Povidon-Iod lagen die MBC-Werte insgesamt zwischen 4 und 32 ppm. Bei *Staphylococcus aureus* wurden Werte von 8–32 ppm bestimmt, ohne Unterschiede zwischen methicillin-resistenten und -sensiblen Isolaten. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* zeigte MBC-Werte von 4–16 ppm, *Enterobacter hormaechei* überwiegend 16 ppm, *Bacillus cereus* 8–16 ppm. Hypochlorige Säure wies MBC-Werte zwischen 0,4 und 6,4 ppm auf. Für *Staphylococcus aureus* und *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* lagen die Werte überwiegend bei 0,4–3,2 ppm. *Enterobacter hormaechei* zeigte MBC-Werte von 0,8–1,6 ppm, *Bacillus cereus* von 1,6–6,4 ppm.

Insgesamt zeigten alle drei untersuchten antiseptischen Substanzen eine hohe und konsistente bakterizide *in vitro*-Wirksamkeit gegenüber den typischen Erregern der equinen infektiösen Keratitis. Die MBC-Werte der klinischen Isolate lagen in vergleichbaren Bereichen wie die der Referenzstämme. Methicillin-resistente *Staphylococcus-aureus*-Isolate zeigten keine höheren MBC-Werte als methicillin-sensible Stämme.

Eine direkte Übertragung der *in vitro*-Ergebnisse auf die klinische Situation ist nicht möglich, da wesentliche Einflussfaktoren wie Kontaktzeit, Retention auf der okulären Oberfläche, Verdünnung durch den Tränenfilm, Proteinbelastung, pH-Wert, stromale Penetration sowie die komplexen Bedingungen des entzündeten okulären Milieus im Versuchsmodell nicht abgebildet werden.

Die untersuchten Substanzen zeigten aber eine konsistente antimikrobielle Wirksamkeit und bilden damit eine belastbare Grundlage zur Bewertung der generellen Effektivität dieser Antiseptika gegenüber relevanten bakteriellen Erregern der equinen infektiösen Keratitis. Sie können als Basis für weiterführende Untersuchungen dienen und ermöglichen eine sachliche Einordnung antiseptischer Substanzen als potenziell ergänzenden Bestandteil im therapeutischen Gesamtkonzept dieser Erkrankung.

7 Summary

Leonie Maria Stolle

***In vitro* evaluation of antiseptic treatment approaches in equine infectious keratitis**

Infectious keratitis represents a clinically highly relevant and potentially vision-threatening disease in horses and is frequently associated with rapid progression, pronounced inflammatory responses, and substantial stromal tissue destruction. Current therapeutic concepts are primarily based on topical antibiotic treatment. However, their effectiveness is limited by increasing antimicrobial resistance, pharmacokinetic constraints, and regulatory restrictions on the use of antibiotics. Against this background, there is a long-term need for complementary antimicrobial strategies.

The aim of the present study was to investigate the general *in vitro* efficacy of selected antiseptic substances that may be suitable as adjuncts in the treatment of equine infectious keratitis but are not yet used routinely or on a long-term basis. Efficacy was assessed by determining the minimum bactericidal concentration (MBC) as a measure of the bactericidal activity of the substances.

The experimental design included povidone-iodine, hypochlorous acid, and polyhexanide. Clinical bacterial isolates obtained from cases of equine infectious keratitis were used as test organisms, including *Staphylococcus aureus* (including methicillin-resistant isolates), *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Enterobacter hormaechei*, and *Bacillus cereus*. Reference strains were additionally included. Determination of MBC values was performed using a standardized microdilution method in accordance with established protocols. The antiseptic substances were serially diluted and tested in defined concentration steps. A standardized bacterial suspension with a target concentration of 1.5×10^6 CFU/mL was used as the inoculum. After incubation, bactericidal activity was assessed by subculturing on agar plates and counting viable colonies. The MBC was defined as the lowest concentration at which $\geq 99.9\%$ of the initial bacterial load was eliminated. All isolates were tested in triplicate, and positive and negative controls were included in each experimental run.

Polyhexanide showed MBC values between 0.8 and 6.4 ppm for all tested isolates. For *Staphylococcus aureus*, values were predominantly in the range of 0.8–3.2 ppm, and for *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* predominantly 1.6 ppm. *Enterobacter hormaechei* exhibited MBC values of 0.8–1.6 ppm, and *Bacillus cereus* of 1.6–6.4 ppm.

For povidone-iodine, MBC values ranged overall between 4 ppm and 32 ppm. For *Staphylococcus aureus*, values of 8–32 ppm were determined, with no differences between methicillin-

resistant and methicillin-susceptible isolates. *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus* showed MBC values of 4–16 ppm, *Enterobacter hormaechei* predominantly 16 ppm, and *Bacillus cereus* 8–16 ppm.

Hypochlorous acid showed MBC values between 0.4 and 6.4 ppm. For *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus equi* subsp. *zoepidemicus*, values were predominantly in the range of 0.4–3.2 ppm. *Enterobacter hormaechei* exhibited MBC values of 0.8–1.6 ppm, and *Bacillus cereus* of 1.6–6.4 ppm.

Overall, all three investigated antiseptic substances demonstrated high and consistent bactericidal *in vitro* activity against typical pathogens of equine infectious keratitis. The MBC values of the clinical isolates were comparable to those of the reference strains. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates did not show higher MBC values than methicillin-susceptible strains.

A direct transfer of the *in vitro* results to the clinical situation is not possible, as essential influencing factors such as contact time, retention on the ocular surface, dilution by the tear film, protein load, pH, stromal penetration, and the complex conditions of the inflamed ocular environment are not represented in the experimental model.

The investigated substances showed consistent antimicrobial efficacy and therefore provide a robust basis for the evaluation of the general effectiveness of these antiseptics against relevant bacterial pathogens of equine infectious keratitis. They may serve as a basis for further investigations and allow an objective classification of antiseptic substances as potential adjunct components within the overall therapeutic concept of this disease.

8 Verwendung von künstlicher Intelligenz

Formulierungen und Satzstrukturen dieser Arbeit wurden abschnittsweise unter Einsatz künstlicher Intelligenz (KI)-basierter Sprachmodelle und sprachlicher Assistenzsoftware (ChatGPT (GPT-4o); Grammarly; Scribbr) unterstützt. Die Literaturrecherche wurde ergänzend mit Hilfe eines KI-gestützten Programms (Elecit) begleitet. Sämtliche daraus resultierenden Vorschläge wurden kritisch geprüft und eigenständig umgesetzt. Die inhaltliche Konzeption, Literatúrauswahl sowie die wissenschaftliche Ausarbeitung erfolgten vollständig durch die Autorin.

9 Literaturverzeichnis

- Alexandrakis, G., Alfonso, E. C., & Miller, D. (2000). Shifting trends in bacterial keratitis in South Florida and emerging resistance to fluoroquinolones. *Ophthalmology*, *107*(8), 1497–1502. [https://doi.org/10.1016/S0161-6420\(00\)00179-2](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(00)00179-2)
- Al-Hity, A., Ramaesh, K., & Lockington, D. (2017). EDTA chelation for symptomatic band keratopathy: results and recurrence. *Eye*, *32*(1), 26–31. <https://doi.org/10.1038/eye.2017.264>
- Ali, F. S., Jenkins, T. L., Boparai, R. S., Obeid, A., Ryan, M. E., Wibblesman, T. D., Chiang, A., Garg, S. J., Levin, H. J., Xu, D., Pandit, R. R., Spira, M., Park, C., Fineman, M. S., Vander, J. F., Mehta, S., Sivalingam, A., Hsu, J., Ho, A. C., & Regillo, C. D. (2021). Aqueous Chlorhexidine Compared with Povidone-Iodine as Ocular Antisepsis before Intravitreal Injection: A Randomized Clinical Trial. *Ophthalmology Retina*, *5*(8), 788–796. <https://doi.org/10.1016/j.oret.2020.11.008>
- Allen, M. J., Morby, A. P., & White, G. F. (2004). Cooperativity in the binding of the cationic biocide polyhexamethylene biguanide to nucleic acids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *318*(2), 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.04.043>
- Alp, S. (2007). [Bacterial resistance to antiseptics and disinfectants]. *Mikrobiyoloji Bülteni*, *41*(1), 155–161.
- Andrew, S. E., Brooks, D. E., Smith, P. J., Gelatt, K. N., Chmielewski, N. T., & Whittaker, C. J. G. (1998). Equine ulcerative keratomycosis: Visual outcome and ocular survival in 39 cases (1987-1996). *Equine Veterinary Journal*, *30*(2), 109–116. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1998.tb04469.x>
- Andrew, S. E., Nguyen, A., Jones, G. L., & Brooks, D. E. (2003). Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in Florida. *Veterinary Ophthalmology*, *6*(1), 45–50. <https://doi.org/10.1046/j.1463-5224.2003.00265.x>
- Andrew, S. E., Ramsey, D. T., Hauptman, J. G., & Brooks, D. E. (2001). Density of corneal endothelial cells and corneal thickness in eyes of euthanatized horses. *American Journal of Veterinary Research*, *62*(4), 479–482. <https://doi.org/10.2460/AJVR.2001.62.479>
- Andrew, S. E., & Willis, A. M. (2005). Diseases of the Cornea and Sclera. In B. C. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (pp. 157–251). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B0-72-160522-2/50007-8>
- Apostolov, K. (1980). The effects of iodine on the biological activities of myxoviruses. *Journal of Hygiene*, *84*(3), 381–388. <https://doi.org/10.1017/S0022172400026905>

- Assadian, O. (2016). Octenidine dihydrochloride: chemical characteristics and antimicrobial properties. *Journal of Wound Care*, 25(Suppl 3), 3–6. <https://doi.org/10.12968/JOWC.2016.25.SUP3.S3>
- Austin, A., Lietman, T., & Rose-Nussbaumer, J. (2017). Update on the Management of Infectious Keratitis. *Ophthalmology*, 124(11), 1678–1689. <https://doi.org/10.1016/j.optha.2017.05.012>
- Barreto, R., Barrois, B., Lambert, J., Malhotra-Kumar, S., Santos-Fernandes, V., & Monstrey, S. (2020). Addressing the challenges in antisepsis: focus on povidone iodine. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(3), 106064. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106064>
- Bates, B., Fitzpatrick, J., Rosanky, C., Moon, J., Wood, E., & Storey, P. (2025). Endophthalmitis Incidence after Intravitreal Injection of Anti-VEGF Agents with Povidone-Iodine versus Aqueous Chlorhexidine Antisepsis. *Ophthalmology Retina*, 9(10), 928–933. <https://doi.org/10.1016/j.oret.2025.03.022>
- Becker, L. (2007). Final report on the safety assessment of hexamidine and hexamidine diisethionate. *International Journal of Toxicology*, 26(SUPPL. 3), 79–88. <https://doi.org/10.1080/10915810701663168>
- Behrens-Baumann, W., Seibold, M., Hofmüller, W., Walter, S., Haeberle, H., Wecke, T., Tamer, I., & Tintelnot, K. (2012). Benefit of Polyhexamethylene Biguanide in Fusarium Keratitis. *Ophthalmic Research*, 48(4), 171–176. <https://doi.org/10.1159/000337140>
- Ben Ezra, D. (1979). Neovasclogenesis. Triggering factors and possible mechanisms. *Survey of Ophthalmology*, 24(3), 167–176. [https://doi.org/10.1016/0039-6257\(79\)90020-1](https://doi.org/10.1016/0039-6257(79)90020-1)
- Berkowski, W. M., Craft, W. F., Whitley, R. D., Brooks, D. E., & Plummer, C. E. (2019). Equine ulcerative keratitis with furrow: A review of the outcomes of 72 cases from 1987 to 2015. *Equine Veterinary Journal*, 51(6), 749–755. <https://doi.org/10.1111/evj.13101>
- Bever, G. J., Brodie, F. L., & Hwang, D. G. (2016). Corneal Injury from Presurgical Chlorhexidine Skin Preparation. *World Neurosurgery*, 96, 610.e1-610.e4. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.09.035>
- Bian, F., Pelegrino, F. S. A., Henriksson, J. T., Pflugfelder, S. C., Volpe, E. A., Li, D. Q., & De Paiva, C. S. (2016). Differential effects of dexamethasone and doxycycline on inflammation and MMP production in murine alkali-burned corneas associated with dry eye. *The Ocular Surface*, 14(2), 242–254. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.11.006>
- Bigliardi, P. L., Alsagoff, S. A. L., El-Kafrawi, H. Y., Pyon, J. K., Wa, C. T. C., & Villa, M. A. (2017). Povidone iodine in wound healing: A review of current concepts and practices. *International Journal of Surgery*, 44, 260–268. <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2017.06.073>

- Biros, D. J., Brooks, D. E., Merritt, K. A., Brown, M. P., & Kubilis, P. S. (2002). Regional and zonal variations in the sulfation patterns of chondroitin sulfate in normal equine corneal stroma. *American Journal of Veterinary Research*, *63*(1), 143–147.
- Borgia, A., Mazzuca, D., Della Corte, M., Gratteri, N., Fossati, G., Raimondi, R., Pagano, L., Scordia, V., & Giannaccare, G. (2023). Prophylaxis of Ocular Infection in the Setting of Intraocular Surgery: Implications for Clinical Practice and Risk Management. *Ophthalmology and Therapy*, *12*(2), 721–734. <https://doi.org/10.1007/S40123-023-00661-9>
- Bourne, W. M., & Kaufman, H. E. (1976). Specular microscopy of human corneal endothelium in vivo. *American Journal of Ophthalmology*, *81*(3), 319–323. [https://doi.org/10.1016/0002-9394\(76\)90247-6](https://doi.org/10.1016/0002-9394(76)90247-6)
- Bradley, C. S., Sicks, L. A., & Pucker, A. D. (2021). Common Ophthalmic Preservatives in Soft Contact Lens Care Products: Benefits, Complications, and a Comparison to Non-Preserved Solutions. *Clinical Optometry*, *13*, 271–285. <https://doi.org/10.2147/OPTO.S235679>
- Branda, S. S., González-Pastor, J. E., Ben-Yehuda, S., Losick, R., & Kolter, R. (2001). Fruiting body formation by *Bacillus subtilis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *98*(20), 11621–11626. <https://doi.org/10.1073/PNAS.191384198>
- Brasseur, G., Favennec, L., Perrine, D., Chenu, J. P., & Brasseur, P. (1994). Successful treatment of *Acanthamoeba* keratitis by hexamidine. *Cornea*, *13*(5), 459–462. <https://doi.org/10.1097/00003226-199409000-00015>
- Brezvyn, O. M., Kotsiumbas, I. Ya., Hyrenko, D. V., Luk'yanenko, T. V., Shmychkova, O. B., Dmitrikova, L. V., & Velichenko, O. B. (2024). Study of the antimicrobial action and disinfecting properties of the hypochlorous acid solution obtained by the electrolysis method. *Науковий Вісник Львівського Національного Університету Ветеринарної Медицини Та Біотехнологій Імені С.З. Гжицького: Серія Ветеринарні Науки*, *26*(114), 124–131. <https://doi.org/10.32718/NVLVET11418>
- Brooks, D. E., & Galera, P. D. (2012). Optimal management of equine keratomycosis. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, *3*, 7–17. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S25013>
- Brooks, D. E., & Ollivier, F. J. (2004). Matrix metalloproteinase inhibition in corneal ulceration. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, *34*(3), 611–622. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2003.12.005>
- Brooks, D. E., & Plummer, C. E. (2022). Diseases of the Equine Cornea. In B. C. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (4th ed., pp. 253–440). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119782285.CH5>
- Cabrera-Aguas, M., Khoo, P., & Watson, S. L. (2022). Infectious keratitis: A review. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, *50*(5), 543–562. <https://doi.org/10.1111/ceo.14113>
- ChatGPT (GPT-4o) OpenAI, San Francisco, CA, USA

- Chen, T., & Ward, D. A. (2010). Tear volume, turnover rate, and flow rate in ophthalmologically normal horses. *American Journal of Veterinary Research*, 71(6), 671–676. <https://doi.org/10.2460/AJVR.71.6.671>
- Chindera, K., Mahato, M., Kumar Sharma, A., Horsley, H., Kloc-Muniak, K., Kamaruzzaman, N. F., Kumar, S., McFarlane, A., Stach, J., Bentin, T., & Good, L. (2016). The antimicrobial polymer PHMB enters cells and selectively condenses bacterial chromosomes. *Scientific Reports*, 6, 23121. <https://doi.org/10.1038/srep23121>
- Chung, E. S., Saban, D. R., Chauhan, S. K., & Dana, R. (2009). Regulation of blood vessel versus lymphatic vessel growth in the cornea. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 50(4), 1613–1618. <https://doi.org/10.1167/IOVS.08-2212>
- Cintron, C., Hassinger, L. C., Kublin, C. L., & Cannon, D. J. (1978). Biochemical and ultrastructural changes in collagen during corneal wound healing. *Journal of Ultrastructure Research*, 65(1), 13–22. [https://doi.org/10.1016/S0022-5320\(78\)90017-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5320(78)90017-5)
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (1999). *Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents; approved guideline (M26-A)*.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2024). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing (M100)*.
- Clode, A. B. (2010). Therapy of equine infectious keratitis: A review. *Equine Veterinary Journal*, 42(SUPPL.37), 19–23. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2010.tb05630.x>
- Clode, A. B., & Matthews, A. (2011). Diseases and Surgery of the Cornea. In B. C. Gilger (Ed.), *Equine Ophthalmology* (2nd ed., pp. 181–266). Saunders. <https://doi.org/10.1002/9781119047919>
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318–1322. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.284.5418.1318>
- Cullen, M., Jacob, M. E., Cornish, V., VanderSchel, I. Q., Cotter, H. V. T., Cubeta, M. A., Carbone, I., & Gilger, B. C. (2019). Multi-locus DNA sequence analysis, antifungal agent susceptibility, and fungal keratitis outcome in horses from Southeastern United States. *PLoS ONE*, 14(3), e0214214. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0214214>
- Cursiefen, C. (2007). Immune Privilege and Angiogenic Privilege of the Cornea. *Chemical Immunology and Allergy*, 92, 50–57. <https://doi.org/10.1159/000099253>
- Cutler, T. J. (2004). Updates in ophthalmology. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 20(2), xi–xii. <https://doi.org/10.1016/J.CVEQ.2004.04.011>
- Dana, R. (2005). Corneal antigen presentation: molecular regulation and functional implications. *The Ocular Surface*, 3(4 Suppl), S169–S172. [https://doi.org/10.1016/S1542-0124\(12\)70248-3](https://doi.org/10.1016/S1542-0124(12)70248-3)

- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*: *MMBR*, 74(3), 417–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>
- Davis, J. L., Salmon, J. H., & Papich, M. G. (2006). Pharmacokinetics and tissue distribution of doxycycline after oral administration of single and multiple doses in horses. *American Journal of Veterinary Research*, 67(2), 310–316. <https://doi.org/10.2460/ajvr.67.2.310>
- Dawson, D. G., Ubels, J. L., & Edelhofer, H. F. (2011). Cornea and Sclera. In L. A. Levin & S. F. E. Nilsson (Eds.), *Adler's Physiology of the Eye* (11th ed., pp. 69–188). Elsevier.
- Deniaud, M., & Tee, E. (2023). Susceptibility pattern of bacterial isolates in equine ulcerative keratitis: Implications for empirical treatment at a university teaching hospital in Sydney. *Australian Veterinary Journal*, 101(3), 115–120. <https://doi.org/10.1111/avj.13221>
- Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 15(2), 167–193. <https://doi.org/10.1128/CMR.15.2.167-193.2002>
- Elecit*. Ought, San Francisco, CA, USA
- Ellerhorst, B., Golden, B., & Jarudi, N. (1975). Ocular Penetration of Topically Applied Gentamicin. *Archives of Ophthalmology*, 93(5), 371–378. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1975.01010020383014>
- Epstein, N. E. (2021). Review: Perspective on ocular toxicity of presurgical skin preparations utilizing Chlorhexidine Gluconate/Hibiclens/Chloraprep. *Surgical Neurology International*, 12, 318. https://doi.org/10.25259/SNI_566_2021
- Eule, J. C., & Schmidt, V. (2017). Krankheiten der Bindehaut und Krankheiten der Hornhaut. In O. Dietz & B. Huskamp (Eds.), *Handbuch Pferdepraxis* (4th ed., pp. 788–892). Enke.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), European Food Safety Authority (EFSA), & European Medicines Agency (EMA). (2024). Antimicrobial consumption and resistance in bacteria from humans and food-producing animals: Fourth joint inter-agency report on integrated analysis of antimicrobial agent consumption and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from humans and food-producing animals in the EU/EEA JIACRA IV – 2019–2021. *EFSA Journal*, 22(2). <https://doi.org/10.2903/J.EFSA.2024.8589>
- European Parliament and the Council of the European Union. (2019). Regulation (EU) 2019/6 of the European Parliament and of the Council of 11 December 2018 on veterinary medicinal products and repealing Directive 2001/82/EC. In *Official Journal of the European Union*.
- Fabry, W., Reimer, C., Azem, T., Aepinus, C., Kock, H. J., & Vahlensieck, W. (2013). Activity of the antiseptic polyhexanide against meticillin-susceptible and meticillin-resistant

- Staphylococcus aureus*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 1(4), 195–199. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.05.007>
- Farkas, A., Thieme, K., Soimala, T., Jensen, C. K., & Eule, J. C. (2024). Efficacy of 0.2% povidone-iodine and 0.1% polyhexamethylene biguanide as preoperative antiseptics in equine ophthalmic procedures. *Veterinary Ophthalmology*, 27(5), 1316–1324. <https://doi.org/10.1111/vop.13306>
- Ferreira, A. R. de A., Santana, A. F., de Almeida, A. C. da V. R., Sousa, R. F., Perecmanis, S., & Galera, P. D. (2017). Bacterial culture and antibiotic sensitivity from the ocular conjunctiva of horses. *Ciência Rural*, 47(6), e20160753. <https://doi.org/10.1590/0103-8478CR20160753>
- Fidelis, C. E., de Freitas Leite, R., Garcia, B. L. N., Gonçalves, J. L., Good, L., & dos Santos, M. V. (2023). Antimicrobial activities of polyhexamethylene biguanide against biofilm-producing *Prototheca bovis* causing bovine mastitis. *Journal of Dairy Science*, 106(2), 1383–1393. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22468>
- Fini, M. E. (1999). Keratocyte and fibroblast phenotypes in the repairing cornea. *Progress in Retinal and Eye Research*, 18(4), 529–551. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(98\)00033-0](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(98)00033-0)
- Foja, S., Heinzelmann, J., Viestenz, A., Rueger, C., Hecht, S., & Viestenz, A. (2024). Evaluation of the Possible Influence of Povidone Iodine (PVI) Solution and Polyhexanide (PHMB) on Wound Healing in Corneal Epithelial Regeneration. *Journal of Clinical Medicine*, 13(2), 588. <https://doi.org/10.3390/jcm13020588>
- Foote, B. C., Hendrix, D. V. H., Ward, D. A., Rajeev, S., Smith, J. S., & Sun, Z. (2023). Monitoring trends in antimicrobial susceptibility patterns of bacterial isolates from horses with ulcerative keratitis. *Equine Veterinary Education*, 35(11), 597–606. <https://doi.org/10.1111/eve.13812>
- Franklin, T. J., & Snow, G. A. (1973). *Biochemistry of Antimicrobial Action* (2nd ed.). Chapman and Hall.
- Fujikawa, L. S., Foster, C. S., Gipson, I. K., & Colvin, R. B. (1984). Basement membrane components in healing rabbit corneal epithelial wounds: immunofluorescence and ultrastructural studies. *The Journal of Cell Biology*, 98(1), 128–138. <https://doi.org/10.1083/JCB.98.1.128>
- Gaarder, J. E., Rebhun, W. C., Ball, M. A., Patten, V., Shin, S., & Erb, H. (1998). Clinical appearances, healing patterns, risk factors, and outcomes of horses with fungal keratitis: 53 cases (1978-1996). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(1), 105–112. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.1998.213.01.105>
- Gard, J., Taylor, D., Maloney, R., Schnuelle, M., Duran, S., Moore, P., Justus, W., Walz, P., Stockle, R., Rodning, S., DeGraves, F., van Santen, E., & Edmondson, M. (2016).

- Preliminary evaluation of hypochlorous acid spray for treatment of experimentally induced infectious bovine keratoconjunctivitis. *The Bovine Practitioner*, 50(2), 95–101.
- Gemensky-Metzler, A. J., Wilkie, D. A., Kowalski, J. J., Schmall, L. M., Willis, A. M., & Yamagata, M. (2005). Changes in bacterial and fungal ocular flora of clinically normal horses following experimental application of topical antimicrobial or antimicrobial-corticosteroid ophthalmic preparations. *American Journal of Veterinary Research*, 66(5), 800–811. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.800>
- Gilmour, M. A., Clarke, C. R., MacAllister, C. G., Dedeo, J. M., Caudell, D. L., Morton, R. J., & Pugh, M. (2005). Ocular penetration of oral doxycycline in the horse. *Veterinary Ophthalmology*, 8(5), 331–335. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2005.00422.x>
- Gipson, L. K., Spurr-Michaud, S. J., & Tisdale, A. (1987). Anchoring fibrils form a complex network in human and rabbit cornea. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 28(2), 212–220.
- Giuliano, E. A., Maggs, D. J., Moore, C. P., Boland, L. A., Champagne, E. S., & Galle, L. E. (2000). Inferomedial placement of a single-entry subpalpebral lavage tube for treatment of equine eye disease. *Veterinary Ophthalmology*, 3(2–3), 153–156. <https://doi.org/10.1046/J.1463-5224.2000.00137.X>
- Gjorgjeska, B., Janeva, A., Iceva, I., Karpicarov, D., Velkova, A., Krzovska, V., Dimitrova, A., & Delipetrova, N. (2018). Structure and physicochemical properties of antiseptics and disinfectants in relation to their activity. *Journal of Hygienic Engineering and Design*, 23, 3–7. <http://jhed.mk/categories/view/474/457>
- Gottardi, W. (1983). Potentiometrische Bestimmung der Gleichgewichtskonzentrationen an freiem und komplex gebundenem Iod in wässrigen Lösungen von Polyvinylpyrrolidon-Iod (PVP-Iod). *Fresenius' Zeitschrift Für Analytische Chemie*, 314(6), 582–585. <https://doi.org/10.1007/BF00474852>
- Grammarly, Grammarly Inc., San Francisco, CA, USA
- Green, K., Livingston, V., Bowman, K., & Hull, D. S. (1980). Chlorhexidine effects on corneal epithelium and endothelium. *Archives of Ophthalmology*, 98(7), 1273–1278. <https://doi.org/10.1001/archopht.1980.01020040125020>
- Grzybowski, A., Kanclerz, P., & Myers, W. G. (2018). The use of povidone-iodine in ophthalmology. *Current Opinion in Ophthalmology*, 29(1), 19–32. <https://doi.org/10.1097/ICU.0000000000000437>
- Guardabassi, L., Loeber, M. E., & Jacobson, A. (2004). Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. *Veterinary Microbiology*, 98(1), 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2003.09.021>

- Gupta, H., Aqil, M., Khar, R. K., Ali, A., Bhatnagar, A., & Mittal, G. (2013). Nanoparticles laden in situ gel for sustained ocular drug delivery. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*, 5(2), 162–165. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.111824>
- Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 95–108. <https://doi.org/10.1038/NRMICRO821>
- Hamor, R. E., & Whelan, N. C. (1999). Equine Infectious Keratitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 15(3), 623–646. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30136-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30136-0)
- Han, L., Su, W., Huang, J., Zhou, J., Qiu, S., & Liang, D. (2014). Doxycycline Inhibits Inflammation-Induced Lymphangiogenesis in Mouse Cornea by Multiple Mechanisms. *PLOS ONE*, 9(9), e108931. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0108931>
- Hanna, C., Bicknell, D. S., & O'Brien, J. E. (1961). Cell Turnover in the Adult Human Eye. *Archives of Ophthalmology*, 65(5), 695–698. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1961.01840020697016>
- Hänsel, R., Sticher, O., Steinegger, E., Keller, K., Rimpler, H., & Schneider, G. (1980). *Pharmakognosie – Phytopharmazie* (5th ed.). Springer.
- Hansmann, F., Kramer, A., Ohgke, H., Strobel, H., Müller, M., & Geerling, G. (2005). Lavasept® as an alternative to PVP-iodine for preoperative disinfection in ophthalmic surgery: Randomized, controlled, prospective double-blind trial. *Ophthalmologie*, 102(11), 1043–1050. <https://doi.org/10.1007/S00347-004-1120-3>
- Hawwash, J. (2024). *In-vitro-Untersuchungen zum kombinierten Einsatz von Cefalexin mit Cetirizin oder N-Acetylcystein als neuer Therapieansatz zur Behandlung sensibler und multiresistenter caniner Staphylococcus pseudintermedius-Isolate*. Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover.
- Hejkal, T. W., Maloley, L. A., & Kaddoura, L. (2022). Hypochlorous Acid 0.01% vs Povidone-iodine 5% for Ocular Antisepsis. *Journal of Vitreoretinal Diseases*, 6(2), 132–137. <https://doi.org/10.1177/24741264211013622>
- Hellander Edman, A., Ström, L., & Ekesten, B. (2019). Corneal cross-linking (CXL)—A clinical study to evaluate CXL as a treatment in comparison with medical treatment for ulcerative keratitis in horses. *Veterinary Ophthalmology*, 22(4), 552–562. <https://doi.org/10.1111/VOP.12662>
- Hellander-Edman, A., Makdoui, K., Mortensen, J., & Ekesten, B. (2013). Corneal cross-linking in 9 horses with ulcerative keratitis. *BMC Veterinary Research*, 9, 128. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-9-128>

- Hempstead, J. E., Clode, A. B., Borst, L. B., & Gilger, B. C. (2014). Histopathological features of equine superficial, nonhealing, corneal ulcers. *Veterinary Ophthalmology*, 17(Suppl. 1), 46–52. <https://doi.org/10.1111/VOP.12117>
- Herruzo, R., & Herruzo, I. (2020). Antimicrobial efficacy of a very stable hypochlorous acid formula compared with other antiseptics used in treating wounds: in-vitro study on microorganisms with or without biofilm. *Journal of Hospital Infection*, 105(2), 289–294. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.013>
- Heun, F., Meißner, J., Schieder, A. K., Ohnesorge, B., & Busse, C. (2025). Pantoea agglomerans in Equine Ulcerative Keratitis: Prevalence and Comparative Efficacy of Four Topical Antiseptics. *Veterinary Ophthalmology*, 1–10. <https://doi.org/10.1111/vop.70044>
- Hori, J., & Niederkorn, J. Y. (2007). Immunogenicity and Immune Privilege of Corneal Allografts. In J. Y. Niederkorn & H. J. Kaplan (Eds.), *Immune Privilege* (Vol. 92, pp. 290–299). Karger. <https://doi.org/10.1159/000099279>
- Hübner, N. O., & Kramer, A. (2010). Review on the efficacy, safety and clinical applications of polihexanide, a modern wound antiseptic. *Skin Pharmacology and Physiology*, 23(Suppl. 1), 17–27. <https://doi.org/10.1159/000318264>
- Irawan, D. M., Lesmana, R., & Sahiratmadja, E. (2024). Hypochlorous Acid for Wound Healing in Diabetic Rats: Effect on MMP-9 and Histology. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 17, 1853–1862. <https://doi.org/10.2147/CCID.S468494>
- Ishihara, M., Murakami, K., Fukuda, K., Nakamura, S., Kuwabara, M., Hattori, H., Fujita, M., Kiyosawa, T., & Yokoe, H. (2017). Stability of Weakly Acidic Hypochlorous Acid Solution with Microbicidal Activity. *Biocontrol Science*, 22(4), 223–227. <https://doi.org/10.4265/BIO.22.223>
- Jester, J. V., Petroll, W. M., & Cavanagh, H. D. (1999). Corneal stromal wound healing in refractive surgery: The role of myofibroblasts. *Progress in Retinal and Eye Research*, 18(3), 311–356. [https://doi.org/10.1016/S1350-9462\(98\)00021-4](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(98)00021-4)
- Jiang, J., Wu, M., & Shen, T. (2009). The toxic effect of different concentrations of povidone iodine on the rabbit's cornea. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 28(3), 119–124. <https://doi.org/10.1080/15569520903080511>
- Jinks, M. R., Miller, E. J., Diaz-Campos, D., Mollenkopf, D. F., Newbold, G., Gemensky-Metzler, A., & Chandler, H. L. (2020). Using minimum inhibitory concentration values of common topical antibiotics to investigate emerging antibiotic resistance: A retrospective study of 134 dogs and 20 horses with ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology*, 23(5), 806–813. <https://doi.org/10.1111/VOP.12801>
- Julien, M. E., Shih, J. B., Lopes, B. C., Vallone, L. V., Suchodolski, J. S., Pilla, R., & Scott, E. M. (2023). Alterations of the bacterial ocular surface microbiome are found in both eyes

- of horses with unilateral ulcerative keratitis. *PLoS ONE*, 18(9), e0291028. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0291028>
- Kamaruzzaman, N. F., Chong, S. Q. Y., Edmondson-Brown, K. M., Ntow-Boahene, W., Bardiau, M., & Good, L. (2017). Bactericidal and anti-biofilm effects of polyhexamethylene Biguanide in models of intracellular and biofilm of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), 1518. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01518>
- Kamaruzzaman, N. F., Firdessa, R., & Good, L. (2016). Bactericidal effects of polyhexamethylene biguanide against intracellular *Staphylococcus aureus* EMRSA-15 and USA 300. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(5), 1252–1259. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv474>
- Kammergruber, E., Rahn, C., Nell, B., Gabner, S., & Egerbacher, M. (2019). Morphological and immunohistochemical characteristics of the equine corneal epithelium. *Veterinary Ophthalmology*, 22(6), 778–790. <https://doi.org/10.1111/VOP.12651>
- Kanclerz, P., & Brzezińska, B. (2024). Antisepsis for Blepharoplasty: Povidone-Iodine, Chlorhexidine, or Octenidine? *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*, 40(6), 715–716. <https://doi.org/10.1097/IOP.0000000000002780>
- Kapalschinski, N., Seipp, H. M., Onderdonk, A. B., Goertz, O., Daigeler, A., Lahmer, A., Lehnhardt, M., & Hirsch, T. (2013). Albumin reduces the antibacterial activity of polyhexanide-biguanide-based antiseptics against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *Burns*, 39(6), 1221–1225. <https://doi.org/10.1016/J.BURNS.2013.03.003>
- Kaplan, H. J., & Niederkorn, J. Y. (2007). Regional Immunity and Immune Privilege. In J. Y. Niederkorn & H. J. Kaplan (Eds.), *Immune Privilege* (Vol. 92, pp. 11–26). Karger. <https://doi.org/10.1159/000099237>
- Kawana, R., Kitamura, T., Nakagomi, O., Matsumoto, I., Arita, M., Yoshihara, N., Yanagi, K., Yamada, A., Morita, O., Yoshida, Y., Furuya, Y., & Chiba, S. (1997). Inactivation of Human Viruses by Povidone-Iodine in Comparison with Other Antiseptics. *Dermatology*, 195(Suppl. 2), 29–35. <https://doi.org/10.1159/000246027>
- Keller, R. L., & Hendrix, D. V. H. (2005). Bacterial isolates and antimicrobial susceptibilities in equine bacterial ulcerative keratitis (1993-2004). *Equine Veterinary Journal*, 37(3), 207–211. <https://doi.org/10.2746/0425164054530731>
- Kim, S., Ahn, Y., Lee, Y., & Kim, H. (2020). Toxicity of Povidone-iodine to the ocular surface of rabbits. *BMC Ophthalmology*, 20(1), 388. <https://doi.org/10.1186/S12886-020-01615-6>
- Klenkler, B., & Sheardown, H. (2004). Growth factors in the anterior segment: Role in tissue maintenance, wound healing and ocular pathology. *Experimental Eye Research*, 79(5), 677–688. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2004.07.008>

- Koburger, T., Hübner, N.-O., Braun, M., Siebert, J., & Kramer, A. (2010). Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *65*(8), 1712–1719. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq212>
- Krzemiński, P., Misiewicz-Krzemińska, I., Grodzik, M., Padzińska-Pruszyńska, I., Kucharzewska, P., Ostrowska, A., Sawosz, E., & Pomorski, P. (2024). The protective effect of silver nanoparticles' on epithelial cornea cells against ultraviolet is accompanied by changes in calcium homeostasis and a decrease of the P2X7 and P2Y2 receptors. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *170*, 116090. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2023.116090>
- Kunisada, T., Yamada, K., Oda, S., & Hara, O. (1997). Investigation on the Efficacy of Povidone-Iodine against Antiseptic-Resistant Species. *Dermatology*, *195*(Suppl. 2), 14–18. <https://doi.org/10.1159/000246025>
- Lachapelle, J. M., Castel, O., Casado, A. F., Leroy, B., Micali, G., Tennstedt, D., & Lambert, J. (2013). Antiseptics in the era of bacterial resistance: A focus on povidone iodine. *Clinical Practice*, *10*(5), 579–592. <https://doi.org/10.2217/cpr.13.50>
- Langen, S., Lötscher, P., Prost, J.-C., Cédric Bovet, Vögelin, E., & Surke, C. (2023). A prospective study to analyse the concentration of octenidine in hand wounds after disinfection by LC-MS/MS. *International Wound Journal*, *20*(9), 3505–3512. <https://doi.org/10.1111/iwj.14425>
- Lapidot, M., Freyaldenhoven, S., & Bueno, R. (2018). New concepts in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Journal of Thoracic Disease*, *10*(3), 1283–1285. <https://doi.org/10.21037/JTD.2018.02.75>
- Ledbetter, E. C., & Scarlett, J. M. (2008). Isolation of obligate anaerobic bacteria from ulcerative keratitis in domestic animals. *Veterinary Ophthalmology*, *11*(2), 114–122. <https://doi.org/10.1111/J.1463-5224.2008.00610.X>
- Ledbetter, E. C., & Scarlett, J. M. (2009). In vivo confocal microscopy of the normal equine cornea and limbus. *Veterinary Ophthalmology*, *12*(Suppl. 1), 57–64. <https://doi.org/10.1111/J.1463-5224.2009.00730.X>
- Lepelletier, D., Maillard, J. Y., Pozzetto, B., & Simon, A. (2020). Povidone Iodine: Properties, Mechanisms of Action, and Role in Infection Control and Staphylococcus aureus Decolonization. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(6), e0068220–20. <https://doi.org/10.1128/AAC.00682-20>
- Liebich, H.-G., & König, H. E. (2005). Sehorgan (Organum visus). In H. E. König & H.-G. Liebich (Eds.), *Anatomie der Haussäugetiere* (3rd ed., pp. 567–588). Schattauer.
- Liu, H. Y., Yeh, P. T., Kuo, K. T., Huang, J. Y., Lin, C. P., & Hou, Y. C. (2016). Toxic Keratopathy Following the Use of Alcohol-Containing Antiseptics in Nonocular Surgery. *JAMA Ophthalmology*, *134*(4), 449–452. <https://doi.org/10.1001/JAMAOPHTHALMOL.2016.0001>

- Lu, Y., Wang, D., Zhang, Y., Hu, Y., Lu, J., Zeng, Z., & Zeng, D. (2023). Preparation and Antimicrobial Activity of a Film-Forming Polyhexamethylene Biguanide Teat Disinfectant. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(24), 17444. <https://doi.org/10.3390/ijms242417444>
- Macuda, T., & Timney, B. (1999). Luminance and chromatic discrimination in the horse (*Equus caballus*). *Behavioural Processes*, 44(1), 301–307. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(98\)00039-4](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(98)00039-4)
- Maihoub, S., Krasznai, M., & Molnár, A. (2024). A comparison of locally acting antiseptics, increasingly recommended as an alternative to antibiotics. *Orvosi Hetilap*, 165(41), 1621–1627. <https://doi.org/10.1556/650.2024.33125>
- Martin de Bustamante, M. G., Plummer, C. E., Caddey, B., & Gomez, D. E. (2025). The effect of topical antibiotic or antibiotic-corticosteroid treatment on the ocular surface microbiota of healthy horses. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1535095. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1535095>
- Massa, K. L., Murphy, C. J., Hartmann, F. A., Miller, P. E., Korsower, C., & Young, K. M. (1999). Usefulness of aerobic microbial culture and cytologic evaluation of corneal specimens in the diagnosis of infectious ulcerative keratitis in animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(11), 1671–1674.
- Matiassek, J., Kienzl, P., Otti, G. R., Turk, B. R., Djedovic, G., & Rieger, U. M. (2018). Aseptic surgical preparation for upper eyelid blepharoplasty via full-face octenidine antiseptic without antibiotic medication shows effective prophylaxis against post-surgical wound infection. *International Wound Journal*, 15(1), 84–89. <https://doi.org/10.1111/IWJ.12837>
- Matsubara, M., Girard, M. T., Kublin, C. L., Cintron, C., & Fini, M. E. (1991). Differential roles for two gelatinolytic enzymes of the matrix metalloproteinase family in the remodelling cornea. *Developmental Biology*, 147(2), 425–439. [https://doi.org/10.1016/0012-1606\(91\)90300-R](https://doi.org/10.1016/0012-1606(91)90300-R)
- Matthews, A. G. (2009). Ophthalmic antimicrobial therapy in the horse. *Equine Veterinary Education*, 21(5), 271–280. <https://doi.org/10.2746/095777308X334266>
- Maurer, J. K., & Parker, R. D. (2000). Microscopic changes with acetic acid and sodium hydroxide in the rabbit low-volume eye test. *Toxicologic Pathology*, 28(5), 679–687. <https://doi.org/10.1177/019262330002800507>
- McClelland, L., & Van Rooyen, C. E. (1949). Studies on the effect of some aromatic amidines and other chemical compounds on the growth of influenza virus in the embryonated egg. *Canadian Journal of Research, Section E*, 27(3), 177–185. <https://doi.org/10.1139/cjr49e-023>

- McDonnell, G., & Russell, A. D. (1999). Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12(1), 147–179. <https://doi.org/10.1128/CMR.12.1.147>
- Meallet, M. A. (2006). Subpalpebral lavage antibiotic treatment for severe infectious scleritis and keratitis. *Cornea*, 25(2), 159–163. <https://doi.org/10.1097/01.ICC.0000177837.31249.19>
- Mencucci, R., Favuzza, E., Bottino, P., Mazzantini, C., Zanutto, E., Pellegrini-Giampietro, D. E., & Landucci, E. (2020). A new ophthalmic formulation containing antiseptics and dexamethasone: In vitro antimicrobial activity and effects on corneal and conjunctival epithelial cells. *Experimental Eye Research*, 201(10), 108269. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108269>
- Merani, R., McPherson, Z. E., Luckie, A. P., Gilhotra, J. S., Runciman, J., Durkin, S., Muecke, J., Donaldson, M., Aralar, A., Rao, A., & Davies, P. E. (2016). Aqueous Chlorhexidine for Intravitreal Injection Antisepsis: A Case Series and Review of the Literature. *Ophthalmology*, 123(12), 2588–2594. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2016.08.022>
- Mihalache, A., Tao, B. K., Huang, R. S., Dhivagaran, T., Popovic, M. M., Kertes, P. J., Wong, D. T., McKay, B. R., Kohly, R. P., & Muni, R. H. (2025). Chlorhexidine Versus Povidone-Iodine for Intravitreal Injection Antisepsis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *American Journal of Ophthalmology*, 276, 64–77. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2025.03.031>
- Moore, C. P., Collins, B. K., & Fales, W. H. (1995). Antibacterial susceptibility patterns for microbial isolates associated with infectious keratitis in horses: 63 cases (1986-1994). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 207(7), 928–933. <https://doi.org/10.2460/javma.1995.207.07.0928>
- Murthy, S., Hawksworth, N. R., & Cree, I. (2002). Progressive ulcerative keratitis related to the use of topical chlorhexidine gluconate (0.02%). *Cornea*, 21(2), 237–239. <https://doi.org/10.1097/00003226-200203000-00026>
- Mustikka, M. P., Grönthal, T. S. C., & Pietilä, E. M. (2020). Equine infectious keratitis in Finland: Associated microbial isolates and susceptibility profiles. *Veterinary Ophthalmology*, 23(1), 148–159. <https://doi.org/10.1111/vop.12701>
- Nair, S., Zhu, A., Jaffry, M., Choudhry, H., & Dastjerdi, M. H. (2023). Povidone-Iodine Adverse Effects and Alternatives for Ocular Procedures. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 39(3), 207–214. <https://doi.org/10.1089/jop.2022.0122>
- Nasisse, M. P., & Nelms, S. (1992). Equine Ulcerative Keratitis. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 8(3), 537–555. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30440-6](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30440-6)

- Nickel, R., Schummer, A., Seiferle, E., Sack, W. O., Wilkens, H., & Geyer, H. (2004). Sehorgan. In *Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band IV: Nervensystem, Sinnesorgane, endokrine Drüsen* (5th ed., pp. 405–440). Parey.
- Niro, A., Pignatelli, F., Fallico, M., Sborgia, A., Passidomo, F., Gigliola, S., Nacucchi, A., Sborgia, G., Boscia, G., Alessio, G., Boscia, F., Addabbo, G., Reibaldi, M., & Avitabile, T. (2023). Polyhexamethylene biguanide hydrochloride (PHMB)-properties and application of an antiseptic agent. A narrative review. *European Journal of Ophthalmology*, *33*(2), 655–666. <https://doi.org/10.1177/11206721221124684>
- Oakley, C. L., & Vote, B. J. (2016). Aqueous chlorhexidine (0.1%) is an effective alternative to povidone-iodine for intravitreal injection prophylaxis. *Acta Ophthalmologica*, *94*(8), e808–e809. <https://doi.org/10.1111/aos.12981>
- Odoric, S., Haas, W., Gilmore, M. S., & Dohlman, C. H. (2015). Fungal infections after boston type 1 keratoprosthesis implantation: Literature review and in vitro antifungal activity of hypochlorous acid. *Cornea*, *34*(12), 1599–1605. <https://doi.org/10.1097/ICO.0000000000000639>
- Ollivier, F. J., Brooks, D. E., Van Setten, G. B., Schultz, G. S., Gelatt, K. N., Stevens, G. R., Blalock, T. D., Andrew, S. E., Komaromy, A. M., Lassaline, M. E., Kallberg, M. E., & Cutler, T. J. (2004). Profiles of matrix metalloproteinase activity in equine tear fluid during corneal healing in 10 horses with ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology*, *7*(6), 397–405. <https://doi.org/10.1111/J.1463-5224.2004.04052.X>
- Ollivier, F. J., Gilger, B. C., Barrie, K. P., Kallberg, M. E., Plummer, C. E., O'Reilly, S., Gelatt, K. N., & Brooks, D. E. (2007). Proteinases of the cornea and preclear tear film. *Veterinary Ophthalmology*, *10*(4), 199–206. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2007.00546.x>
- Oluwole, D. O., Coleman, L., Buchanan, W., Chen, T., La Ragione, R. M., & Liu, L. X. (2022). Antibiotics-Free Compounds for Chronic Wound Healing. *Pharmaceutics*, *14*(5). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051021>
- O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, *54*, 49–79. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MICRO.54.1.49>
- Papa, V., Van Der Meulen, I., Rottey, S., Sallet, G., Overweel, J., Asero, N., Minassian, D. C., & Dart, J. K. G. (2022). Safety and tolerability of topical polyhexamethylene biguanide: A randomised clinical trial in healthy adult volunteers. *British Journal of Ophthalmology*, *106*(2), 190–196. <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2020-317848>
- Parisi, N., Matts, P. J., Lever, R., Hadgraft, J., & Lane, M. E. (2017). Hexamidine salts - applications in skin health and personal care products. *International Journal of Cosmetic Science*, *39*(4), 361–365. <https://doi.org/10.1111/ics.12392>

- Pate, J. C., Jones, D. B., & Wilhelmus, K. R. (2006). Prevalence and spectrum of bacterial coinfection during fungal keratitis. *The British Journal of Ophthalmology*, *90*(3), 289–292. <https://doi.org/10.1136/BJO.2005.081869>
- Percival, S. L., Hill, K. E., Williams, D. W., Hooper, S. J., Thomas, D. W., & Costerton, J. W. (2012). A review of the scientific evidence for biofilms in wounds. *Wound Repair and Regeneration*, *20*(5), 647–657. <https://doi.org/10.1111/J.1524-475X.2012.00836.X>
- Percival, S. L., McCarty, S., Hunt, J. A., & Woods, E. J. (2014). The effects of pH on wound healing, biofilms, and antimicrobial efficacy. *Wound Repair and Regeneration*, *22*(2), 174–186. <https://doi.org/10.1111/wrr.12125>
- Pérez-Torres, A., Ustarroz-Cano, M., & Millán-Aldaco, D. (2002). Langerhans cell-like dendritic cells in the cornea, tongue and oesophagus of the chicken (*Gallus gallus*). *Histochemical Journal*, *34*(10), 507–515. <https://doi.org/10.1023/A:1024714107373>
- Perrine, D., Chenu, J. P., Georges, P., Lancelot, J. C., Saturnino, C., & Robba, M. (1995). Amoebicidal efficiencies of various diamidines against two strains of *Acanthamoeba polyphaga*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *39*(2), 339–342. <https://doi.org/10.1128/aac.39.2.339>
- Plummer, C. E., Ramsey, D. T., & Hauptman, J. G. (2003). Assessment of corneal thickness, intraocular pressure, optical corneal diameter, and axial globe dimensions in Miniature Horses. *American Journal of Veterinary Research*, *64*(6), 661–665. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2003.64.661>
- Rackur, H. (1985). New aspects of mechanism of action of povidone-iodine. *Journal of Hospital Infection*, *6*(SUPPL. 1), 13–23. [https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(85\)80041-4](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(85)80041-4)
- Raidal, S. L. (2019). Antimicrobial stewardship in equine practice. *Australian Veterinary Journal*, *97*(7), 238–242. <https://doi.org/10.1111/avj.12833>
- Ramsey, D. T., Hauptman, J. G., Petersen-Jones, S. M., & Petersen, P. J. (1999). Corneal thickness, intraocular pressure, and optical corneal diameter in Rocky Mountain horses with cornea globosa or clinically normal corneas. *American Journal of Veterinary Research*, *60*, 879–882.
- Reed, Z., Thomasy, S. M., Good, K. L., Maggs, D. J., Magdesian, K. G., Pusterla, N., & Hollingsworth, S. R. (2013). Equine keratomycoses in California from 1987 to 2010 (47 cases). *Equine Veterinary Journal*, *45*(3), 361–366. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.2012.00623.x>
- Reimer, K., Wichelhaus, T. A., Schäfer, V., Rudolph, P., Kramer, A., Wutzler, P., Ganzer, D., & Fleischer, W. (2002). Antimicrobial effectiveness of povidone-iodine and consequences for new application areas. *Dermatology*, *204*(Suppl. 1), 114–120. <https://doi.org/10.1159/000057738>

- Rhee, M. K., Ahmad, S., Amescua, G., Cheung, A. Y., Choi, D. S., Jhanji, V., Lin, A., Mian, S. I., Viriya, E. T., Mah, F. S., & Varu, D. M. (2024). Bacterial Keratitis Preferred Practice Pattern®. In *Ophthalmology* (Vol. 131, Number 4). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2023.12.035>
- Ripple, R. E., Lohr, K. M., Twining, S. S., Hyndiuk, R. A., & Caya, J. G. (1986). Role of leucocytes in ocular inflammation of Tyrosinemia II. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 27(6), 926–931.
- Robinson, T. P., Bu, D. P., Carrique-Mas, J., Fèvre, E. M., Gilbert, M., Grace, D., Hay, S. I., Jiwakanon, J., Kakkar, M., Kariuki, S., Laxminarayan, R., Lubroth, J., Magnusson, U., Ngoc, P. T., Van Boeckel, T. P., & Woolhouse, M. E. J. (2016). Antibiotic resistance is the quintessential One Health issue. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 110(7), 377–380. <https://doi.org/10.1093/TRSTMH/TRW048>
- Romano, V., Ferrara, M., Gatti, F., Airaldi, M., Borroni, D., Aragona, E., Rocha-de-Lossada, C., Gabrielli, F., Papa, F. T., Romano, M. R., Calza, S., & Semeraro, F. (2024). Topical Antiseptics in Minimizing Ocular Surface Bacterial Load Before Ophthalmic Surgery: A Randomized Controlled Trial. *American Journal of Ophthalmology*, 261, 165–175. <https://doi.org/10.1016/J.AJO.2024.01.007>
- Rosa, M., Cardozo, L. M., Da, J., Pereira, S., Brooks, D. E., Lucia, A., Martins, B., Sueli, P., Florido, S., Schwind, J., & Stussi, P. (2003). Fungal flora of normal eyes of healthy horses from the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Ophthalmology*, 6(2), 51–55.
- Rossi-Fedele, G., Guastalli, A. R., Dođramaci, E. J., Steier, L., & de Figueiredo, J. A. P. (2011). Influence of pH changes on chlorine-containing endodontic irrigating solutions. *International Endodontic Journal*, 44(9), 792–799. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2591.2011.01911.X>
- Rusiecka-Ziółkowska, J., Hill-Bator, A., Piątkowska, E., Mimier-Janczak, M., Bator, K., & Miśsiuk-Hojło, M. (2023). The eye wipes with polyhexanide (HexaClean) in preoperative prophylaxis of cataract surgery. *Ophthalmology Journal*, 8(0), 38–45. <https://doi.org/10.5603/OJ.2023.0009>
- Sakarya, S., Günay, N., Karakuş, A., Ozturk, B., & Erdoğan, Z. (2014). Hypochlorous Acid: An Ideal Wound Care Agent With Powerful Microbicidal, Antibiofilm, and Wound Healing Potency. *Wounds*, 26(12), 342–350. <https://www.hmpgloballearningnetwork.com/site/wounds/article/hypochlorous-acid-ideal-wound-care-agent-powerful-microbicidal-antibiofilm-and-wound-healing>
- Samuelson, D. A., Andresen, T. L., & Gwin, R. M. (1984). Conjunctival fungal flora in horses, cattle, dogs, and cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 184(10), 1240–1242. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.1984.184.10.1240>

- Santibáñez, R., Lara, F., Barros, T. M., Mardones, E., Cuadra, F., & Thomson, P. (2022). Ocular Microbiome in a Group of Clinically Healthy Horses. *Animals*, *12*(8), 943. <https://doi.org/10.3390/ANI12080943>
- Sauer, P., Andrew, S. E., Lassaline, M., Gelatt, K. N., & Denis, H. M. (2003). Changes in antibiotic resistance in equine bacterial ulcerative keratitis (1991-2000): 65 Horses. *Veterinary Ophthalmology*, *6*(4), 309–313. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2003.00312.x>
- Sauerbrei, A. (2020). Bactericidal and virucidal activity of ethanol and povidone-iodine. *MicrobiologyOpen*, *9*(9), e1097. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1097>
- Schieder, A. K., Müller, E., Heusinger, A., & Eule, J. C. (2021). Study on the current resistance of the ocular microflora of the horse - Suitable locally applicable antibiotics for the initial treatment of conjunctivitis and keratitis in the horse. *Pferdeheilkunde*, *37*(3), 292–301. <https://doi.org/10.21836/PEM20210311>
- Schieder, A. K., Müller, E., Heusinger, A., & Eule, J. C. (2023). The role of Gram-negative bacteria in equine ocular infectious diseases. *Pferdeheilkunde*, *39*(1), 12–23. <https://doi.org/10.21836/PEM20230102>
- Scott, E. M., Arnold, C., Dowell, S., & Suchodolski, J. S. (2019). Evaluation of the bacterial ocular surface microbiome in clinically normal horses before and after treatment with topical neomycin-polymyxin-bacitracin. *PLOS ONE*, *14*(4), e0214877. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214877>
- Scribbr*, Turnitin, Amsterdam, Niederlande
- Sherman, A. B., Gilger, B. C., Berglund, A. K., & Schnabel, L. V. (2017). Effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and stem cell supernatant on equine corneal wound healing in vitro. *Stem Cell Research & Therapy*, *8*(1), 116. <https://doi.org/10.1186/S13287-017-0577-3>
- Soimala, T., Lübke-Becker, A., Schwarz, S., Feßler, A. T., Huber, C., Semmler, T., Merle, R., Gehlen, H., Eule, J. C., & Walther, B. (2018). Occurrence and molecular composition of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from ocular surfaces of horses presented with ophthalmologic disease. *Veterinary Microbiology*, *222*, 1–6. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2018.06.009>
- Sowlati-Hashjin, S., Karttunen, M., & Carbone, P. (2020). Insights into the Polyhexamethylene Biguanide (PHMB) Mechanism of Action on Bacterial Membrane and DNA: A Molecular Dynamics Study. *Journal of Physical Chemistry B*, *124*(22), 4487–4497. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.0c02609>
- Stern, G. A., Schemmer, G. B., Farber, R. D., & Gorovoy, M. S. (1983). Effect of topical antibiotic solutions on corneal epithelial wound healing. *Archives of Ophthalmology*, *101*(4), 644–647. <https://doi.org/10.1001/archophth.1983.01040010644025>

- Stroman, D. W., Mintun, K., Epstein, A. B., Brimer, C. M., Patel, C. R., Branch, J. D., & Najafi-Tagol, K. (2017). Reduction in bacterial load using hypochlorous acid hygiene solution on ocular skin. *Clinical Ophthalmology*, *11*, 707–714. <https://doi.org/10.2147/OPTH.S132851>
- Strubbe, D. T., Brooks, D. E., Schultz, G. S., Willis-Goulet, H., Gelatt, K. N., Andrew, S. E., Kallberg, M. E., Mackay, E. O., & Collante, W. R. (2000). Evaluation of tear film proteinases in horses with ulcerative keratitis. *Veterinary Ophthalmology*, *3*(2–3), 111–119. <https://doi.org/10.1046/J.1463-5224.2000.00093.X>
- Suter, A., Voelter, K., Hartnack, S., Spiess, B. M., & Pot, S. A. (2018). Septic keratitis in dogs, cats, and horses in Switzerland: associated bacteria and antibiotic susceptibility. *Veterinary Ophthalmology*, *21*(1), 66–75. <https://doi.org/10.1111/vop.12480>
- Tan, E. L., & Johari, N. H. (2021). Comparative in vitro evaluation of the antimicrobial activities of povidone-iodine and other commercially available antiseptics against clinically relevant pathogens. *GMS Hygiene and Infection Control*, *16*, Doc05. <https://doi.org/10.3205/DGKH000376>
- Tasman, W., & Jaeger, E. A. (2013). *Duane's Clinical Ophthalmology* (W. ; Tasman & E. A. Jaeger, Eds.; 2013th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Terhaar, H. M., Allbaugh, R. A., Mochel, J. P., & Sebbag, L. (2021). Serum albumin and total protein concentration in the tear film of horses with healthy or diseased eyes. *Veterinary Ophthalmology*, *24*(1), 20–27. <https://doi.org/10.1111/VOP.12822>
- Torres-Luna, C., Fan, X., Domszy, R., Hu, N., Wang, N. S., & Yang, A. (2020). Hydrogel-based ocular drug delivery systems for hydrophobic drugs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *154*, 105503. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2020.105503>
- Tóth, J., Hollerrieder, J., & Sótónyi, P. (2010). *Augenheilkunde beim Pferd: Lehrbuch und Atlas*. Schattauer.
- Tripathi, B. J., & Tripathi, R. C. (1989). Hydrogen Peroxide Damage to Human Corneal Epithelial Cells In Vitro: Implications for Contact Lens Disinfection Systems. *Archives of Ophthalmology*, *107*(10), 1516–1519. <https://doi.org/10.1001/ARCHOPHT.1989.01070020590046>
- Twining, S. S., Lohr, K. M., & Moulder, J. E. (1986). The immune system in experimental Pseudomonas keratitis: Model and early effects. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *27*(4), 507–515.
- Uchida-Fujii, E., Kuroda, T., Niwa, H., Kinoshita, Y., Kano, R., Tamura, T., Makimura, K., & Ueno, T. (2024). Bacterial and fungal isolates from 107 cases of ulcerative keratitis in Japanese Thoroughbred racehorses (2017–2021). *Journal of Equine Veterinary Science*, *133*, 104990. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2023.104990>
- Vercruyse, E. M., Narinx, F. P., Rives, A. C. M., Sauvage, A. C., Grauwels, M. F., & Monclin, S. J. (2022). Equine ulcerative keratitis in Belgium: Associated bacterial isolates and in

- vitro antimicrobial resistance in 200 eyes. *Veterinary Ophthalmology*, 25(5), 326–337. <https://doi.org/10.1111/vop.12985>
- Verdenius, C. Y., Slenter, I. J. M., Hermans, H., Broens, E. M., & Djajadiningrat-Laanen, S. C. (2024). Equine ulcerative keratitis in the Netherlands (2012–2021): Bacterial and fungal isolates and antibiotic susceptibility. *Equine Veterinary Journal*, 56, 1–9. <https://doi.org/10.1111/evj.14059>
- Vlamakis, H., Chai, Y., Beauregard, P., Losick, R., & Kolter, R. (2013). Sticking together: Building a biofilm the *Bacillus subtilis* way. *Nature Reviews Microbiology*, 11(3), 157–168. <https://doi.org/10.1038/NRMICRO2960>
- Voelter-Ratson, K., Pot, S. A., Florin, M., & Spiess, B. M. (2013). Equine keratomycosis in Switzerland: a retrospective evaluation of 35 horses (January 2000–August 2011). *Equine Veterinary Journal*, 45(5), 608–612. <https://doi.org/10.1111/evj.12042>
- Wada, S., Hobo, S., Ode, H., Niwa, H., & Moriyama, H. (2013). Equine keratomycosis in Japan. *Veterinary Ophthalmology*, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2012.01004.x>
- Walsh, M. L., Meason-Smith, C., Arnold, C., Suchodolski, J. S., & Scott, E. M. (2021). Evaluation of the ocular surface mycobiota in clinically normal horses. *PLoS ONE*, 16(2), e0246537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0246537>
- Walter, H., Verspohl, J., Meißner, J., Oltmanns, H., Geks, A. K., & Busse, C. (2023). In Vitro Antimicrobial Activity of N-Acetylcysteine against Pathogens Most Commonly Associated with Infectious Keratitis in Dogs and Cats. *Antibiotics*, 12(3), 559. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030559>
- Wang, H., Yin, X., Zhang, Z., Wang, Y., Zhang, L., Guo, J., & Li, M. (2023). Evaluation of 0.01% Hypochlorous Acid Eye Drops Combined with Conventional Treatment in the Management of Fungal Corneal Ulcers: Randomized Controlled Trial. *Current Eye Research*, 48(10), 887–893. <https://doi.org/10.1080/02713683.2023.2226374>
- Weese, J. S. (2004). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and horse personnel. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 20(3), 601–613. <https://doi.org/10.1016/j.cveq.2004.07.009>
- Weese, J. S., Rousseau, J., Traub-Dargatz, J. L., Willey, B. M., McGeer, A. J., & Low, D. E. (2005). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in horses and humans who work with horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(4), 580–583. <https://doi.org/10.2460/JAVMA.2005.226.580>
- Weinberg, J. M. (2005). The anti-inflammatory effects of tetracyclines. *Cutis*, 75(Suppl. 4), 6–11. <https://europepmc.org/article/med/15916224>
- Wessels, S., & Ingmer, H. (2013). Modes of action of three disinfectant active substances: A review. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 67(3), 456–467. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.006>

- Whelan, N. C. (2024). *Routes of Administration for Ocular Medications in Animals*.
- Whitley, R. D., & Moore, C. P. (1984). Microbiology of the equine eye in health and disease. *Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice*, 6(3), 451–466. [https://doi.org/10.1016/s0196-9846\(17\)30003-4](https://doi.org/10.1016/s0196-9846(17)30003-4)
- Wiegand, C., Abel, M., Ruth, P., Elsner, P., & Hipler, U. C. (2015). pH Influence on Antibacterial Efficacy of Common Antiseptic Substances. *Skin Pharmacology and Physiology*, 28(3), 147–158. <https://doi.org/10.1159/000367632>
- Wiegand, C., Abel, M., Ruth, P., & Hipler, U. C. (2009). HaCaT keratinocytes in co-culture with *Staphylococcus aureus* can be protected from bacterial damage by polihexanide. *Wound Repair and Regeneration*, 17(5), 730–738. <https://doi.org/10.1111/j.1524-475X.2009.00536.x>
- Williams, L. B., & Pinard, C. L. (2013). Corneal ulcers in horses . *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, 35(5), E1–E6.
- Wolff, H. T., Piroth, A. C., Oltmanns, H., Meißner, J., Verspohl, J., Volk, H. A., & Busse, C. (2025). Commercially available antiseptics show high in vitro efficacy against pathogens most commonly associated with canine and feline infectious keratitis. *Frontiers in Veterinary Science*, 12, 1552230. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1552230>
- World Organisation for Animal Health (WOAH). (2023). *One Health – The vital role of the animal health sector to tackle health threats at the animal-human-environment interface*.
- Wu, M., Fletcher, E. L., Chinnery, H. R., Downie, L. E., & Mueller, S. N. (2024). Redefining our vision: an updated guide to the ocular immune system. *Nature Reviews Immunology*, 24(12), 896–911. <https://doi.org/10.1038/s41577-024-01064-y>
- Wuchte, L. D., DiPasquale, S. A., & Byrne, M. E. (2021). In vivo drug delivery via contact lenses: The current state of the field from origins to present. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 63, 102413. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102413>
- Yap, J. W., Ismail, N. I., Lee, C. S., & Oh, D. Y. (2024). Impact of Interfering Substances on the Bactericidal Efficacy of Different Commercially Available Hypochlorous Acid-Based Wound Irrigation Solutions Commonly Found in South-East Asia. *Antibiotics*, 13(4), 309. <https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS13040309>
- Yi, Q., & Zou, W. J. (2019). The Wound Healing Effect of Doxycycline after Corneal Alkali Burn in Rats. *Journal of Ophthalmology*, 2019, 5168652. <https://doi.org/10.1155/2019/5168652>
- Yilancioglu, K. (2019). Antimicrobial drug interactions: Systematic evaluation of protein and nucleic acid synthesis inhibitors. *Antibiotics*, 8(3), 114. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030114>
- York, K. K., Miller, S., Gaster, R. N., & Burstein, N. L. (1988). Polyvinylpyrrolidone Iodine: Corneal Toxicology and Epithelial Healing in a Rabbit Model. *Journal of Ocular Pharmacology*, 4(4). <https://doi.org/10.1089/jop.1988.4.351>

- Zhou, M., Liu, Y., Fang, X., Jiang, Z., Zhang, W., & Wang, X. (2024). The Effectiveness of Polyhexanide in Treating Wound Infections Due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*: A Prospective Analysis. *Infection and Drug Resistance*, 17, 1927–1935. <https://doi.org/10.2147/IDR.S438380>
- Zinsstag, J. (2011). *One Health: auf dem Weg zu einer integrierteren Wissenschaft*. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3959303>

10 Danksagung

Ich möchte mich bei all denjenigen bedanken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation begleitet haben.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Ohnesorge für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit. Seine Ruhe, Geduld, Freundlichkeit und Flexibilität sowie seine stetige Unterstützung und die richtigen Denkanstöße haben wesentlich dazu beigetragen, eigene Perspektiven zu entwickeln, mich fachlich wie persönlich weiterzuentwickeln und gleichzeitig die wissenschaftliche Qualität der Arbeit zu sichern.

Ebenso danke ich Claudia Busse für ihre wertvollen Impulse, die klare Strukturierung und ihre Offenheit für neue Wege. Ihre moderne Herangehensweise, ihre zugewandte Art und ihre jederzeit verlässliche Unterstützung haben diese Arbeit maßgeblich ermöglicht.

Ich danke Hilke Oltmanns und Jessica Meißner, sowie der gesamten AG-Meißner für die gemeinsame Zeit und für ihre Unterstützung. Die kompetente Planung, Professionalität, Hilfsbereitschaft und lösungsorientierte Zusammenarbeit haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Ein besonderer Dank gilt Viktoria Nepke für die wertvolle Einführung in die Laborarbeit, durch die ich Sicherheit in den Abläufen und Freude an der Laborarbeit gewinnen konnte.

Frederik Heun danke ich für die Probensammlung, die freundliche und kompetente Unterstützung bei der Etablierung des Projekts sowie für seine fachliche Hilfe und seine jederzeitige Erreichbarkeit.

Besonders danke ich auch Till Scheubeck für die seelische und moralische Unterstützung, die gemeinsame Bewältigung intensiver Arbeitsphasen, den Austausch, und besonders den beständigen Zuspruch und das Vertrauen in mich, die diesen Weg möglich gemacht haben.

Darüber hinaus danke ich der Klinik für Pferde, meinen Kolleginnen und Kollegen und insbesondere meinem Intern-Team für das positive Arbeitsumfeld und das stets offene Ohr, deren Unterstützung und Teamgeist wesentlich zum Fortschritt dieser Arbeit beigetragen haben. Dank euch hatte ich eine wertvolle klinische Abwechslung und konnte ich auch in fordernden Situationen immer wieder lachen. Besonders danke ich meiner Kollegin Nele Winter für den seelischen Beistand, den Austausch und das Zuhören.

Mein besonderer Dank gilt meiner wundervollen Familie, die stets an mich geglaubt und mir eine verlässliche Grundlage gegeben hat. Ihre Ruhe, ihr Verständnis und ihre Unterstützung haben mir die notwendige Sicherheit gegeben, diesen Weg zu gehen. Ihr Vertrauen und ihr Stolz haben mich stets angetrieben. Besonders danke ich meiner Schwester Lucie, die mir in allen Situationen stets den Rücken freigehalten und immer an mich geglaubt hat. Auch meiner Oma gilt mein besonderer Dank – ihr Stolz war für mich eine wichtige Motivation.

