

Aus dem Department für Augenheilkunde Tübingen
Forschungsinstitut für Augenheilkunde

Effekte ausgewählter Konzentrationen von Povidon-Iod auf
das Elektroretinogramm im Modell der isolierten und
perfundierten Vertebratennetzhaut

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
Der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Vitkutè, Milda

2018

Dekan: Professor Dr. Ingo B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Januschowski
2. Berichterstatter: Professor Dr. U. Schraermeyer

Tag der Disputation: 13.08.2018

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	6
TABELLENVERZEICHNIS	7
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	8
1 EINLEITUNG	9
1.1 VORWORT	9
1.2 POSTOPERATIVE ENDOPHTHALMITIS	9
1.2.1 Inzidenz, Symptome und Diagnostik	11
1.2.2 Erregerspektrum der postoperativen Endophthalmitis	14
1.2.3 Therapie der Endophthalmitis.....	17
1.2.4 Prophylaxe-Maßnahmen gegen Endophthalmitis	20
1.3 POVIDON-IOD – WIRKUNG UND VERTRÄGLICHKEIT	23
1.4 ELEKTROPHYSIOLOGISCHE GRUNDLAGEN	25
2 MATERIAL UND METHODEN	27
2.1 GEWINNUNG UND PRÄPARATION DER ISOLIERTEN RETINA	27
2.2 VERSUCHSAUFBAU.....	28
2.3 VALIDIERUNG DES EINSATZES DES MEDIKAMENTEN-PERFUSORS.....	29
2.4 PROTOKOLL DER EINZELNEN VERSUCHE	31
2.5 INTERPRETATION DES ELEKTRORETINOGRAMMS	33
3 ERGEBNISSE	35
3.1 ERG DER AUSGEWÄHLTEN POVIDON-IOD KONZENTRATIONEN	35
3.1.1 Die Wirkung des 0,0375%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen	35
a) a-Welle.....	36
b) b-Welle.....	36
3.1.2 Die Wirkung des 0,025%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen	37
a) a-Welle.....	37
b) b-Welle.....	38
3.1.3 Die Wirkung des 0,0125%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen	39
a) a-Welle.....	39
b) b-Welle.....	40
3.1.4 Die Wirkung des 0,01%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen	40
a) a-Welle.....	40
b) b-Welle.....	41
3.1.5 Die Wirkung des 0,0075%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen	42
a) a-Welle.....	42
b) b-Welle.....	42
3.2 LICHT- UND ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE AUFNAHMEN.....	44
3.2.1 Lichtmikroskopische Schichtung der Rindernetzhaut.....	44
3.2.2 Elektronenmikroskopische Darstellung von Strukturen der Rindernetzhaut	47

3.3 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE	54
4 DISKUSSION	59
4.1 DIE INTRAVITREALE VERTRÄGLICHKEIT DES POVIDON-IODS	59
4.2 MIKROSKOPISCHE BEURTEILUNG DER RINDERNETZHÄUTE NACH EXPOSITION MIT POVIDON-IOD	62
4.3 INTRAVITREALE POVIDON-IOD-SPÜLLÖSUNGEN ALS MAßNAHME DER INITIALEN ENDOPHTHALMITIS-THERAPIE.....	65
4.4 ENDOPHTHALMITIS-THERAPIESTANDARDS: AKTUELLE PROBLEMATIK.....	68
4.5 DAS MODELL DER ISOLIERTEN UND PERFUNDIERTEN NETZHAUT IN KRITIK UND PERSPEKTIVE.....	71
4.6 SCHLUSSWORT	73
5 ZUSAMMENFASSUNG.....	74
7 LITERATURVERZEICHNIS.....	75
8 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL	90
9 DANKSAGUNG.....	91

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Aufbau des Modells der isolierten und perfundierten Retina.....	28
Abbildung 2:	Protokoll eines Versuches im Modell der isolierten und perfundierten Retina unter Einsatz von Rindernetzhaut	32
Abbildung 3:	a-Welle in Superfused Retina® PC-Software.....	33
Abbildung 4:	b-Welle in Superfused Retina® PC-Software.....	34
Abbildung 5:	a-Wellen bei Exposition mit 0,0375%igem PVP-I.....	36
Abbildung 6:	b-Wellen bei Exposition mit 0,0375%igem PVP-I.....	37
Abbildung 7:	a-Wellen bei Exposition mit 0,025%igem PVP-I.....	38
Abbildung 8:	b-Wellen bei Exposition mit 0,025%igem PVP-I.....	38
Abbildung 9:	a-Wellen bei Exposition mit 0,0125%igem PVP-I.....	39
Abbildung 10:	b-Wellen bei Exposition mit 0,0125%igem PVP-I.....	40
Abbildung 11:	a-Wellen bei Exposition mit 0,01%igem PVP-I.....	41
Abbildung 12:	b-Wellen bei Exposition mit 0,01%igem PVP-I.....	41
Abbildung 13:	a-Wellen bei Exposition mit 0,0075%igem PVP-I.....	42
Abbildung 14:	b-Wellen bei Exposition mit 0,0075%igem PVP-I.....	43
Abbildung 15:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Neurosensorische Schichten.....	45
Abbildung 16:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Neurosensorische Schichten an zwei unterschiedlichen Stellen.....	46
Abbildung 17:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Übergang zwischen aufgehellten und dunklen Arealen.....	47
Abbildung 18:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Die Außensegmente der Photorezeptoren.....	48
Abbildung 19:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Außen (AS)- und Innensegment (IS) eines Stäbchens, verbunden über ein Cilium (C).....	49
Abbildung 20:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Innensegment eines Zapfens mit reichlich Mitochondrien (Mi).....	49
Abbildung 21:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Innen(IS)- und Außensegmente (AS) der Photorezeptoren.....	50
Abbildung 22:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Äußere limitierende Membran.....	51
Abbildung 23:	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Retinales Gefäß mit Erythrozyt im Lumen.....	52

<i>Abbildung 24:</i>	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Retinales Gefäß mit Erythrozyten im Lumen.....	53
<i>Abbildung 25:</i>	Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Nervenfasern (Nf) zwischen innerer plexiformer Schicht und der Ganglienzellschicht.....	54
<i>Abbildung 26:</i>	b-Wellen (durchschnittlich) bei verschiedenen PVP-I Konzentrationen.....	55
<i>Abbildung 27:</i>	a-Wellen (durchschnittlich) bei verschiedenen PVP-I Konzentrationen.....	56
<i>Abbildung 28:</i>	b-Wellen in Abhängigkeit von Konzentration des PVP-I.....	57
<i>Abbildung 29:</i>	a-Wellen in Abhängigkeit von Konzentration des PVP-I.....	57

Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1:</i>	Mikrobiologisches Spektrum der Endophthalmitiden nach Kataraktextraktion in ausgewählter Literatur.....	14
<i>Tabelle 2:</i>	Nachgewiesene Erreger der Endophthalmitis nach ppV.....	16
<i>Tabelle 3:</i>	Veränderung der durchschnittlichen Amplituden (%) und <i>p</i> -Werte.....	35

Abkürzungsverzeichnis

ÄKS	Äußere Körnerschicht
Anti-VEGF	anti-Vascular Endothelial Growth Factor
ÄPS	Äußere plexiforme Schicht
AS	Außensegment des Photorezeptors
BSS	Balanced Salt Solution®
DGII	Deutschsprachige Gesellschaft für Intraokularlinsen-Implantation
ERG	Elektroretinogramm
ESCRS	European Society of Cataract and Refractive Surgeons
EVS	Endophthalmitis Vitrectomy Study
f-real-t PCR	Fast-real-time Polymerase-Kettenreaktion
GZS	Ganglienzellschicht
IKS	Innere Körnerschicht
IPS	Innere plexiforme Schicht
IS	Innensegment des Photorezeptors
IVI	Intravitreale Injektion
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
MALDI-TOF	Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight
MRSA	Methicillinresistenter Staphylococcus aureus
MRSE	Methicillinsresistenter Staphylococcus epidermidis
MSTF	Microsurgical Safety Task Force
OECD	Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
ppV	pars plana Vitrektomie
PVP-I	Polyvinylpyrrolidon–Iod, Povidon-Iod
RPE	Retinales Pigmentepithel
TASS	Toxic anterior segment syndrome

1 Einleitung

1.1 Vorwort

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, die Verträglichkeit bzw. Biokompatibilität einiger ausgewählter Konzentrationen von Povidon-Iod (PVP-I) auf die Netzhaut mittels Elektoretinographie zu untersuchen. Zusätzlich wurde die morphologische Struktur in elektronen- und lichtmikroskopisch dargestellt. Diese Konzentrationen des PVP-I in Form von intravitrealen Spüllösungen bei einer pars plana Vitrektomie (ppV) werden als eine therapeutische Maßnahme zur initialen Behandlung einer postoperativen Endophthalmitis vorgestellt.

Die Elektoretinographie erfolgte im Modell der isolierten und perfundierten Retina, welches eine tierversuchssparende Methode darstellt und die Biokompatibilität an *post mortem* entnommenen, von einem Schlachthof bezogenen Rindernetzhäuten ermöglicht. Aufgrund von bereits bestehenden Untersuchungen (Nakashizuka, Shimada et al. 2015) wurden fünf Konzentrationen ausgewählt und deren Effekt auf das Elektoretinogramm (ERG) getestet. Ergänzend wurden licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen der Netzhäute nach Anwendung des PVP-I angefertigt, um das morphologische Korrelat des zellulären Schadens zu identifizieren.

1.2 Postoperative Endophthalmitis

Die Endophthalmitis ist eine Entzündung des intraokularen Gewebes und der dort vorhandenen Flüssigkeiten. Sie wird in eine endogene und exogene Form eingeteilt. Bei der endogenen Form erreichen die Erreger das Auge durch eine hämatogene Streuung aus einem vorbestehendem Herd. Die exogene Form entsteht hingegen nach Operationen, intravitrealen Injektionen oder Traumata. Bei der postoperativ auftretenden Endophthalmitis wird ferner eine akute (*acute-onset*) und eine chronische (*delayed-onset*) Form unterschieden (Vaziri, Schwartz et al. 2015).

Die meisten Endophthalmitiden treten postoperativ auf (Moloney und Park 2014). Den größten Anteil (bis 90 %) der akuten postoperativen

Endophthalmitiden bilden die Fälle nach Kataraktoperationen. Mit deutlich kleinerem Anteil folgen die Endophthalmitiden nach ppV (Wykoff, Parrott et al. 2010, Moloney und Park 2014). Weitere Fälle der postoperativen Endophthalmitis wurden nach anderen operativen Eingriffen wie penetrierende Keratoplastik oder Glaukomoperationen und nur sehr selten nach Strabismuskorrektur, Pterygiumexzision sowie Fadenentfernung an der Hornhaut beschrieben (Lemley und Han 2007). Die Endophthalmitis nach intravitrealen Injektionen (IVI) fällt zwar definitionsgemäß nicht in die Kategorie postoperative Endophthalmitis. IVIs werden jedoch oft im operativen Setting ausgeführt und stellen einen intravitrealen Eingriff dar. Anteilig stellt diese Ätiologie 10 % aller Endophthalmitis-Fälle dar (Moloney und Park 2014), wobei von einem starken Anstieg dieser Zahl auszugehen ist, da intravitreale Injektionen immer häufiger durchgeführt werden.

Im folgenden Teil der Arbeit werden Endophthalmitiden nach Kataraktoperationen und nach ppV aufgrund der Häufigkeit dieser Eingriffe und der postoperativen Endophthalmitiden näher erläutert. Aufgrund des bedeutenden Anteils der Endophthalmitiden nach IVIs und einer pathogenetischer Ähnlichkeit zur postoperativen Endophthalmitis werden diese im Weiteren ebenfalls eingeschlossen.

Die Forschungslage der postoperativen Endophthalmitis wird durch zahlreiche Studien über diese Komplikation nach Kataraktoperation dominiert. Die *Endophthalmitis Vitrectomy Study Group* (EVS) führte eine randomisierte, prospektive und multizentrische Studie mit 420 erkrankten Personen durch (EVS; Endophthalmitis Vitrectomy Study Group 1995). Die *European Society for Cataract and Refractive Surgery* (ESCRS) veröffentlichte des Weiteren eine multizentrische prospektive Studie, die 29 Endophthalmitis-Fälle registrierte (Barry, Seal et al. 2006, ESCRS European Society of Cataract & Refractive Surgeons 2007). Die post-ppV-Endophthalmitis ist hingegen aufgrund einer sehr geringen Fallzahl hauptsächlich in retrospektiven Studien untersucht. Nur eine prospektive Studie mit 28 Fällen kann mit der oben genannten ESCRS-Studie bezüglich ihres Umfangs verglichen werden (Park, Ramasamy et al. 2014a, Park, Ramasamy et al. 2014b). Die Datenlage zu IVIs ist ebenfalls

hauptsächlich durch retrospektive Erhebungen geprägt, durch einige Untersuchungen mit gepoolten Daten jedoch recht systematisch (McCannel 2011, Sigford, Reddy et al. 2015, Reibaldi, Pulvirenti et al. 2017).

1.2.1 Inzidenz, Symptome und Diagnostik

Metastudien fassen die Inzidenz der Endophthalmitis nach Kataraktextraktion mit der Angabe der Inzidenz von 0,014 % bis 0,2 % zusammen (Vaziri, Schwartz et al. 2015, Tranos, Dervenis et al. 2016). Eine Analyse aktueller Studien zeigte, dass die Inzidenz nach 2007 grundsätzlich gesunken ist (Garg, Roy et al. 2017). In Frankreich lag 2007-2014 die Inzidenz bei 0,09 % (Le Bourhis-Zaimi, Marini et al. 2017). Eine retrospektive Untersuchung an der Universitätsklinik München zeigte ebenfalls einen konsequenten Rückgang: während die Inzidenz 1990-1992 bei 0,338 % lag, betrug sie 1999-2009, etwa wegen erhöhter Prophylaxe-Maßnahmen, lediglich 0,041 % (Nentwich, Ta et al. 2015). Mit diesen Daten deckt sich auch eine umfangreiche retrospektive Befragung von 496 Zentren in Deutschland, welche die Inzidenz von 0,148 % im Jahr 1996 ergab (Schmitz, Dick et al. 1999).

Auch die Angaben zur Inzidenz einer Endophthalmitis nach einer ppV variieren stark, zudem beinhalten viele dieser Studien grundsätzlich nur geringe Fallzahlen. In Metastudien werden die unterschiedlichen Angaben der Inzidenz aller post-ppV-Endophthalmitiden zwischen 0,018 % und 2,4 % zusammengefasst (Park, Ramasamy et al. 2014b, Vaziri, Schwartz et al. 2015, Czajka, Byhr et al. 2016, Tranos, Dervenis et al. 2016). Eine prospektive landesweite Studie in Großbritannien hat eine Inzidenz der post-ppV-Endophthalmitis von 0,058 % gemeldet (Park, Ramasamy et al. 2014b).

Eine Auswertung gepoolter Daten ergab die Endophthalmitis-Inzidenz von 0,038 % für IVIs unabhängig des verabreichten Medikamentes (Reibaldi, Pulvirenti et al. 2017) oder 0,056 % bei anti-VEGF Injektionen (Fileta, Scott et al. 2014). Der Einsatz von Bevacizumab zeigte eine höhere Inzidenz der Endophthalmitis (0,058 %) als Ranibizumab (0,029 %) (Sigford, Reddy et al. 2015). Zu berücksichtigen gilt, dass wenn die Inzidenz pro Therapieplan mit 24

Injektionen (in monatlichen Intervallen) berechnet wird, die Zahl auf 1 % steigt (Rosenfeld, Brown et al. 2006). Die Inzidenz in Deutschland betrug im Zeitraum 2005-2012 0,03 % (Nentwich, Yactayo-Miranda et al. 2014).

Die akut einsetzende postoperative Endophthalmitis tritt per Definition innerhalb der ersten sechs Wochen nach einem operativen Eingriff ein. Im Durchschnitt sind das 6-8 Tage postoperativ (EVS; Endophthalmitis Vitrectomy Study Group 1995, Yannuzzi, Si et al. 2017). Die post-IVI Endophthalmitis zeigte die Tendenz bereits schon früher, im Schnitt nach 4,5 Tagen, symptomatisch zu werden (Simunovic, Rush et al. 2012). Im Gegensatz dazu tritt die *delayed-onset* postoperative Endophthalmitis im Schnitt nach 343 Tagen auf (Shirodkar, Pathengay et al. 2012). Die häufigsten Symptome, die bei einer Endophthalmitis nach einer Kataraktoperation auftraten, sind: akute Visusreduktion, Schmerz, Hypopyon und Erlöschen des Rotreflexes (EVS 1995). Diese können auch auf die Endophthalmitis nach ppV (Park, Ramasamy et al. 2014a) und nach IVI (Garg, Dollin et al. 2016) ausgeweitet werden. In einzelnen Berichten zur Endophthalmitis nach ppV sind weitere Symptome wie das Hornhaut-Ödem, konjunktivale Injektion und Schwellung der Lider aufgetreten (Shi, Zhao et al. 2013, Park, Ramasamy et al. 2014a). Die Sehschärfe bei Feststellung der Endophthalmitis war meistens sehr stark reduziert und betrug weniger als 5/200 in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle (EVS 1995). Eine wichtige Differentialdiagnose der postoperativen Endophthalmitis ist das toxische Vorderkammerreizsyndrom (*Toxic anterior segment syndrome*, TASS). Hauptunterscheidungsmerkmale sind Abwesenheit von Schmerz und fehlende Glaskörperbeteiligung sowie eine frühere Manifestationszeit innerhalb von 12-24 h bei den TASS-Fällen (Lee, Cugley et al. 2017).

Die akute Endophthalmitis verläuft in drei Phasen. Während der ersten 16 bis 18 Stunden vermehren sich die Erreger und setzen gegebenenfalls Toxine frei – dies ist die Inkubationsphase. In der Beschleunigungsphase bricht die Blutkammerwasserschranke zusammen, neutrophile Granulozyten infiltrieren den Glaskörper, es werden Zytokine freigesetzt. Dies leitet die destruktive Phase ein, in welcher die Abwehrmechanismen des Immunsystems

die Netzhaut schädigen und pathologische vitreoretinale Proliferationen begünstigen. Die Erreger sind zu diesem Zeitpunkt häufig bereits nicht mehr nachweisbar (Luther und Bartz-Schmidt 1999, Becker und Mackensen 2007). Die Pathophysiologie der Endophthalmitis kann erklären, warum in vielen Fällen ein Erregernachweis nicht gelingt. Beispielsweise konnte in der EVS Studie bei einem Drittel der Fälle kein eindeutiges Wachstum erzielt werden (EVS 1995). Viele der Fälle, die kein Erregernachweis aufweisen, sind allerdings falsch-negativ. Ein nicht erfolgreicher Nachweis ist oft mit einer geringen Keimbelastung in der Probe verbunden (Goldschmidt, Degorge et al. 2009).

Die Diagnostik der Endophthalmitis beruht daher auf der klinischen Untersuchung. Ein anschließender Versuch eines Erregernachweises ist dennoch notwendig, um eine gezielte Therapie gegebenenfalls zu ermöglichen. Dieser kann aus dem Glaskörpermaterial oder auch aus dem Kammerwasser der Vorderkammer erfolgen. Der Erregernachweis aus dem Material aus dem Glaskörperraum ist häufiger positiv als der aus der Vorderkammer (Barza, Pavan et al. 1997). Im Falle einer Endotamponade mit Gas oder Öl nach einer erfolgten ppV ist der Glaskörperraum nicht zur Materialgewinnung geeignet. Deswegen ist die Parazentese und diagnostische Aspiration des Kammerwassers bei post-ppV-Endophthalmitiden von besonderer Bedeutung (Park, Ramasamy et al. 2014a).

Mikrobiologische Untersuchungen wie die Gramfärbung und Anzucht einer Kultur werden in den „Empfehlungen der ESCRS zur Prävention und Therapie der Endophthalmitis nach der Kataraktextraktion“ als Standard beschrieben (Barry 2013). Bei einer geringen Erregerzahl oder bei Verdacht auf eine virale sowie fungale Endophthalmitis empfiehlt sich laut Leitlinie der Deutschsprachigen Gesellschaft für Intraokularlinsen-Implantation und refraktäre Chirurgie (DGII) der Nachweis durch die Methode der Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) (DGII 2005). Eine neue Methode aus kombiniertem Einsatz der Blutkultur und direkter *Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight* (MALDI-TOF) Massenspektrometrie konnte die Erreger bis 24 h schneller nachweisen als die herkömmlichen Methoden (Mailhac, Durand et al. 2017). *Fast-real-time PCR* (f-real-t PCR) ist ebenfalls eine neue Methode, die

einen raschen Erregernachweis binnen 90 min ermöglicht (Goldschmidt, Degorge et al. 2009).

1.2.2 Erregerspektrum der postoperativen Endophthalmitis

Das Erregerspektrum differiert in den Endophthalmitiden unterschiedlicher Ätiologie (Vaziri, Schwartz et al. 2015, Tranos, Dervenis et al. 2016). Auch die chronische Endophthalmitis wird von anderen Erregern dominiert als die akute Form (Schwartz, Flynn et al. 2016). Die häufigsten nachgewiesenen Erreger der Endophthalmitis nach Kataraktextraktion werden anhand ausgewählter relevanter Literatur in *Tabelle 1* zusammengefasst. In überwiegender Mehrheit der Fälle wurden grampositive Erreger nachgewiesen, wovon mehr als die Hälfte Koagulase-negative Staphylokokken (KNS) waren. Die Zusammenstellung umfasst die umfangreichsten Studien wie die *Endophthalmitis Vitrectomy Study* (Han, Wisniewski et al. 1996), ESCRS-Studie (Barry 2013), eine aktuelle Studie aus dem US-amerikanischen Raum (Yannuzzi, Si et al. 2017) und regional relevante Studien (Kodjikian, Salvanet-Bouccara et al. 2009, Pijl, Theelen et al. 2010, Friling, Lundstrom et al. 2013, Nentwich, Ta et al. 2015).

Tabelle 1: Mikrobiologisches Spektrum der Endophthalmitis-Erreger nach Kataraktextraktion in ausgewählter Literatur. KNS = Koagulase-negative Staphylokokken. Quelle: eigene Darstellung.

Publikation	Region	Grampositiv		Gramnegativ
		gesamt	KNS	
Yannuzzi, Si et al. (2017)	USA	97 %	62 %	3 %
Han, Wisniewski et al. (1996)	USA	94,2 %	70 %	6,5 %
Barry (2013)	Europaweit	100 %	k. A.	0 %
Pijl, Theelen et al. (2010)	Niederlande	91,6 %	k. A.	6 %
Kodjikian, Salvanet-Bouccara et al. (2009)	Frankreich	86,7 %	k. A.	k. A.
Friling, Lundstrom et al. (2013)	Schweden	70 %	k. A.	k. A.
Nentwich, Ta et al. (2015)	Deutschland	92,9 %	47,4 %	5,3 %

In seltenen Fällen wurden Ausbrüche, d.h. zeitlich und räumlich gehäuftes Auftreten der postoperativen Endophthalmitis nach Kataraktextraktion registriert. Typischerweise wurden hierbei die Erreger über kontaminierte Spüllösungen (37 %), kontaminierte Phakoemulsifikationsgeräte (22.2 %), Ventilationssysteme (11.1 %), mangelhafte Sterilisation (11.1 %) oder andere Wege gestreut. Das Erregerspektrum war hierbei unterschiedlich von den oben genannten. Es überwiegen Gram-negative Erreger, davon wurde am häufigsten *Pseudomonas aeruginosa* nachgewiesen (Pathengay, Flynn et al. 2012).

Da die Endophthalmitiden nach ppV bisher in kleineren retrospektiven Fallstudien erforscht wurden, fehlt in der Literatur eine quantitative Auswertung der häufigsten Erreger. Nähere Betrachtung der Berichtlage liefert ein ähnliches Ergebnis zum Erregerspektrum der Endophthalmitiden nach Kataraktextraktionen. Es dominieren also die grampositiven Erreger, darunter vor allem die KNS. Diese sind die häufigsten Erreger in den retrospektiven Studien: 6 von 9 erregerpositiven Endophthalmitis-Fällen bei Garg, Dollin et al. (2016); 7 von 18 Fällen bei Cohen, Flynn et al. (1995); 3 von 5 bei Wu, Berrocal et al. (2011); 9 von 16 bei Czajka, Byhr et al. (2016). Auch die prospektive Studie von Park, Ramasamy et al. (2014a) berichtete über 7 Fälle mit nachgewiesenen KNS von insgesamt 15 erregerpositiven Fällen. *Staphylococcus aureus* wurde ebenfalls quantitativ häufig nachgewiesen: 3 von 5 erregerpositiven Fällen bei Eifrig, Scott et al. (2004) und 5 von 9 bei Shi, Zhao et al. (2013). Eine umfassende Zusammenstellung ist in *Tabelle 2* dargestellt.

Bei den Endophthalmitiden nach IVIs werden ebenfalls am häufigsten die KNS nachgewiesen (Tarrago, Olea et al. 2017), allerdings ist die Häufigkeit der *Streptococcus spp.* signifikant höher (24,53 %) als bei den Endophthalmitiden nach Kataraktoperation (6,25 %) (Simunovic, Rush et al. 2012). Sogar die Endophthalmitiden nach operativen Eingriffen, der ppV und der IVI, die beide über *pars plana* durchgeführt werden, unterscheiden sich in diesem Gesichtspunkt erheblich. Bei der IVI werden im Gegensatz zur ppV ebenfalls signifikant häufiger Bakterien nachgewiesen, die der oralen Flora zuzuordnen sind (*Streptococcus spp.*) (Garg, Dollin et al. 2016).

Tabelle 2: Nachgewiesene Erreger der Endophthalmitis nach ppV. Quelle: eigene Darstellung.

Gramnegativ	Kokken, nicht genauer definiert	Bacon, Davison et al. (1993)	
	Stäbchen, nicht genauer definiert	Garg, Dollin et al. (2016); Park, Ramasamy et al. (2014a)	
	<i>Acinetobacter cloace ss Iwoffii</i>	Cohen, Flynn et al. (1995)	
	<i>Citrobacter koseri (diversinii)</i>	Cohen, Flynn et al. (1995)	
	<i>Haemophilus meningitides</i>	Park, Ramasamy et al. (2014a)	
	<i>Proteus mirabilis</i>	Cohen, Flynn et al. (1995); Eifrig, Scott et al. (2004); Bacon, Davison et al. (1993); Aaberg, Flynn et al. (1998), Joondeph, Blanc et al. (2005)	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Eifrig, Scott et al. (2004); Wu, Berrocal et al. (2011); Joondeph, Blanc et al. (2005), Park, Ramasamy et al. (2014a)	
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Shi, Zhao et al. (2013)	
Grampositiv	A-hämolisierende Streptokokken	Cohen, Flynn et al. (1995); Bacon, Davison et al. (1993); Czajka, Byhr et al. (2016)	
	Kokken, nicht näher definiert	Bacon, Davison et al. (1993); Park, Ramasamy et al. (2014a); Mason, Yunker et al. (2008)	
	<i>Bacillus cereus</i>	Czajka, Byhr et al. (2016)	
	<i>Enterococcus faecium</i>	Shi, Zhao et al. (2013); Czajka, Byhr et al. (2016)	
	<i>Enterococcus faecalis</i>	Park, Ramasamy et al. (2014a); Oshima, Kadonosono et al. (2010); Shimada, Nakashizuka et al. (2008)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cohen, Flynn et al. (1995); Eifrig, Scott et al. (2004); Shi, Zhao et al. (2013); Bacon, Davison et al. (1993); Wu, Berrocal et al. (2011); Garg, Dollin et al. (2016); Aaberg, Flynn et al. (1998); Czajka, Byhr et al. (2016); Park, Ramasamy et al. (2014a); Shimada, Nakashizuka et al. (2008); Oshima, Kadonosono et al. (2010); Chen, Khurana et al. (2009)	
	<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	Cohen, Flynn et al. (1995); Oshima, Kadonosono et al. (2010)	
	<i>Streptococcus viridans</i>	Cohen, Flynn et al. (1995)	
	Koagulase-negative Staphylokokken	Nicht genauer definiert	Cohen, Flynn et al. (1995); Scott, Flynn et al. (2008); Scott, Flynn et al. (2011); Garg, Dollin et al. (2016); Czajka, Byhr et al. (2016); Park, Ramasamy et al. (2014a); Moloney und Park (2014); Joondeph, Blanc et al. (2005); Mason, Yunker et al. (2008)
		<i>Propionibacterium acnes</i>	Garg, Dollin et al. (2016); Moloney und Park (2014); Oshima, Kadonosono et al. (2010)
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Eifrig, Scott et al. (2004); Cohen, Flynn et al. (1995); Shi, Zhao et al. (2013); Bacon, Davison et al. (1993); Wu, Berrocal et al. (2011); Park, Ramasamy et al. (2014a); Moloney und Park (2014); Oshima, Kadonosono et al. (2010)
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>		Cohen, Flynn et al. (1995)	
<i>Staphylococcus hominis</i>		Park, Ramasamy et al. (2014a)	

Pilze können ebenfalls die Ursache der postoperativen Endophthalmitis sein. Hierbei sind regionale Unterschiede bekannt. In Indien verursachen Pilze 10-20 % aller Endophthalmitis-Fälle (Bhattacharjee, Bhattacharjee et al. 2016), während in Europa fungale Endophthalmitiden bis zu 8% betragen (Barry 2013). *Candida albicans* und *Alternaria spp.* wurden bei Endophthalmitiden nach Kataraktoperationen nachgewiesen (Keynan, Finkelman et al. 2012). *Aspergillus spp.* wurde bei post-ppV Endophthalmitis nachgewiesen (Shi, Zhao et al. 2013). Nach IVIs trat ein fungaler Ausbruch der Endophthalmitiden bei einer kontaminierten Charge auf (Sheyman, Cohen et al. 2013).

Die Prognose einer Endophthalmitis ist bezüglich des verbleibenden Visus limitiert. In Fallstudien bergen die hohe Virulenz der Erreger sowie die rasche Progression der Erkrankung das höchste Risiko für einen schlechten Outcome (Bacon, Davison et al. 1993, Cohen, Flynn et al. 1995). Verschiedene Faktoren auf der zellulären Ebene definieren die Virulenz der Erreger. Darüber hinaus kann beispielsweise sogar die Zusammensetzung der Wand des *S. aureus* eine zusätzliche Komplementaktivierung hervorrufen und somit den Verlauf der Endophthalmitis erschweren (Sadaka, Durand et al. 2012). Die KNS wie z.B. der *Staphylococcus epidermidis* sind weniger virulent, da sie keine Toxine produzieren und nicht invasiv sind (Astley, Coburn et al. 2016). Infektionen mit solchen Erregern oder mit Pilzen zeigen die Tendenz zum Verbleib eines besseren Visus als das bei Infektionen mit anderen Erregern der Fall ist. Bei aggressiveren Infektionen kann auch nur ein Visus von Handbewegungen, Lichtschein oder *nulla lux* zurückbleiben (Cohen, Flynn et al. 1995).

1.2.3 Therapie der Endophthalmitis

Die EVS hat 1995 bisher die umfassendste Untersuchung zum Einsatz der ppV als Therapiemaßnahme bei einer Endophthalmitis durchgeführt. Hierbei zeigte sich ein Vorteil der ppV gegenüber einer Glaskörperpunktion (*vitreous tap*) nur in den Fällen, bei denen die Sehschärfe bei der Vorstellung Lichtschein oder weniger betrug. Alle anderen Gruppen profitierten von beiden

Eingriffen gleichermaßen. Daraufhin wurde in dieser Studie dazu geraten, eine ppV nur dann auszuführen, wenn keine bessere Sehschärfe als Lichtschein gegeben ist (EVS; Endophthalmitis Vitrectomy Study Group 1995). Die bei dieser Studie angewandte Operationstechnik, die lediglich bis zu 50 % des Glaskörpers entfernte, wurde später als mangelhaft angesehen (Behrens-Baumann 2011). Für die Therapie der Endophthalmitis wird laut den ESCRS Empfehlungen und der DGII-Leitlinie daher nun eine rasche Indikationsstellung für die Vitrektomie empfohlen (DGII 2005, Barry 2013). Eine spätere Studie zeigte, dass es keinen signifikanten Unterschied bezüglich des Outcomes gab, wenn die ppV nur einige oder 48 Stunden nach Diagnosestellung durchgeführt wurde (Sridhar, Yonekawa et al. 2016). Daten aus Indien zeigten jedoch, dass bei einer fungalen Endophthalmitis die frühe Vitrektomie einen positiven Einfluss auf den Outcome hatte (Behera, Budhwani et al. 2017).

Es wird zwischen der klassischen 20-Gauge-ppV und der mikrochirurgischen 23-(bis 27-) Gauge-ppV Technik unterschieden. Der Anfang der 20G-ppV-Technik hat die Behandlung der Netzhautabhebung revolutioniert (Machemer, Parel et al. 1972). Heutzutage rücken die mikrochirurgischen Methoden immer mehr in den Vordergrund. Dabei wird die Bindehaut weniger traumatisiert und eine Skleranaht ist nicht mehr in allen Fällen erforderlich, wodurch ein postoperativer Astigmatismus verhindert und eine schnellere Genesung ermöglicht werden können (Eckardt 2005).

Bei einer 20G-ppV wird die Bindehaut von temporal unten über 12 Uhr nach nasal oben eröffnet. Dann werden senkrechte Stiletinzisionen gemacht. Bei mikroinzisionaler ppV hingegen wird die Bindehaut zuerst 1-2 mm verlagert und mit einer Druckplatte an der Sklera festgehalten. Die Stiletinzisionen werden in einem 30° bis 40° Winkel durch die Sklera und *pars plana* gemacht, wodurch eine abgewinkelte Schnitfführung entsteht. Anschließend werden drei Trokare stumpf inseriert, welche die Einführung von Instrumenten ermöglichen (Eckardt 2005). Dies kann entweder in den beschriebenen zwei Schritten erfolgen oder in einem Einigen, wobei dann die Eröffnung der Bindehaut entfällt. Bei den mikrochirurgischen Techniken sind die Inzisionen so klein, dass sie sich

postoperativ im Regelfall selbst verschließen und nicht genäht werden müssen (Fujii, De Juan et al. 2002).

Nach Einführung der Instrumente kann die Vitrektomie mit Hilfe eines Cutters, welcher als Saugschneidegerät fungiert, durchgeführt werden. Wenn die ppV im Rahmen einer Endophthalmitis durchgeführt wird, sollte eine Glaskörperprobe von 0,2-0,5 ml zunächst für mikrobiologische Untersuchungen unverdünnt aspiriert werden (Lemley und Han 2007). Während der anschließenden Entfernung des Glaskörpers wird der Augeninnendruck durch die Infusion einer Spüllösung aufrechterhalten. Die Operationstechnik ist grundsätzlich nicht streng standardisiert und viele Details, wie die Wahl der anschließenden Endotamponade, liegen im Ermessen des Operateurs (Heimann, Bartz-Schmidt et al. 2008).

Spüllösungen, die intravitreal eingesetzt werden können, sind beispielsweise 0,9 % Kochsalzlösung, Ringerlösung, Balanced Salt Solution (BSS), Plasma-Lyte 148 oder TC Medium 199. Die während der ppV benutzten Spüllösungen müssen vor allem die Transparenz der Hornhaut und Linse sowie die Verträglichkeit mit der Netzhaut garantieren. Ferner sollen diese Lösungen stabil, nicht teuer und einfach herzustellen sein (Samuel, Desai et al. 2003). Häufig eingesetzt wird BSS Plus, welche der chemischen Zusammensetzung des Glaskörpers ähnelt und zusätzlich Glutathion sowie Bikarbonat enthält. Sie galt zunächst als bessere Spüllösung, da sie im Vergleich mit den Anderen weniger Endothelzellschäden verursachte (Matsuda, Tano et al. 1984). Eine randomisierte prospektive Studie hat allerdings gezeigt, dass der Einsatz von BSS oder BSS Plus keinen relevanten Unterschied machte (Rosenfeld, Waltman et al. 1986). Eine weitere randomisierte Studie mit Kaninchenaugen konnte zeigen, dass oxygenierte BSS oder BSS-Plus Spüllösungen bessere ERG-Ergebnisse in postvitrektomierten Augen erzielten als der einfache Einsatz des BSS (Javaheri, Fujii et al. 2007).

Für die Therapie der Endophthalmitis wird laut den ESCRS Empfehlungen und der DGII-Leitlinie neben einer raschen Indikationsstellung für die Vitrektomie die Gabe einer empirischen Kombination von Vancomycin 1 mg und Ceftazidim 2 mg intraokular empfohlen, um das grampositive und

gramnegative Erregerspektrum abzudecken (DGII 2005, Barry 2013). Bei einer fungalen Endophthalmitis wird die intraokulare Gabe von 5 µg Amphotericin empfohlen (DGII 2005). Die beste Behandlung für ein mit Gas endotamponiertes Auge ist zwar nicht belegt, aber die üblichen Dosierungen können bei Augen, die 50 % mit Gas gefüllt sind, noch eingesetzt werden. Alternativ wäre die alleinige Gabe von Vancomycin 1 mg in den Glaskörperraum und eine zusätzliche i.v.-Antibiose mit Fluorchinolonen der vierten Generation zu erwägen (Eifrig, Scott et al. 2004).

Eine Ergänzung der lokalen Therapie um eine systemische Antibiose wurde aufgrund mangelnder Effektivität durch die EVS abgelehnt. Da aber die in dieser Studie getestete Antibiotika nicht zufriedenstellend auf das Erregerspektrum abgestimmt wurden und das Ergebnis deswegen schlecht zu verwerthen ist (Behrens-Baumann 2011), wird die intravenöse Antibiotika-Therapie oft trotzdem eingesetzt. Für eine empirische systemische Therapie eignen sich Vancomycin und Ceftazidim oder alternativ Imipenem für das grampositive und Ciprofloxacin für das gramnegative Spektrum. Bei einer fungalen Endophthalmitis können Variconazol oder Fluconazol systemisch verabreicht werden (DGII 2005).

Systemische antiinflammatorische Therapie mit Prednisolon sowie auch die intraokulare Steroidgabe sind in ihrer Wirkung nicht ausreichend belegt (DGII 2005). Trotz der strittigen Evidenz wird die intraokulare Gabe von Dexamethason 400 µg im klinischen Alltag als sinnvoll erachtet, um die Entzündungsreaktion zu reduzieren (Barry 2013). Nun wird in dieser Arbeit untersucht, ob eine mikrobizid wirksame intraokulare Spüllösung als Maßnahme einer raschen Bekämpfung der Endophthalmitis-Erreger verträglich wäre und so eine Erweiterung der Therapiemaßnahmen darstellen könnte.

1.2.4 Prophylaxe-Maßnahmen gegen Endophthalmitis

Die präoperative Desinfektion mit PVP-I ist die evidenzbasierte Prophylaxe-Maßnahme gegen Endophthalmitis nach Kataraktextraktion (Ciulla, Starr et al. 2002). Ferner gibt es einen wissenschaftlichen Konsens bezüglich

der intrakameralen Gabe von 1 mg Cefuroxim am Ende der Kataraktextraktion. Dies führte zu einer fünf- oder sogar mehrfachen Reduzierung der Endophthalmitis-Inzidenz (Montan, Wejde et al. 2002). Zu diesen evidenzbasierten Prophylaxe-Maßnahmen wird auch in den ESCRS-Empfehlungen am Ende einer Kataraktextraktion geraten (Barry 2013).

Die anderweitige perioperative Gabe von Antibiotika bleibt umstritten. Hypothetisch wurde die subkonjunktivale Antibiotika-Gabe in der mikroinzisionalen (23G und 25G) Chirurgie als sinnvoll angenommen, da sie nicht nur antibiotisch wirkt, sondern auch eine Glaskörperprotrusion zurückverlagern kann, wenn die Injektion über der Sklerotomie-Stelle gemacht wird. Dabei sollten diese Injektionen über allen Sklerotomie-Stellen erfolgen. An evidenzbasierten Belegen mangelt es noch (Hu, Bourges et al. 2009, Govetto, Virgili et al. 2013). In der Kataraktchirurgie waren die subkonjunktivalen Injektionen von 125 mg Cefuroxim im Vergleich zur intrakameralen Antibiotika-Gabe in ihrer Wirkung jedoch deutlich unterlegen (Barry 2013).

Fluorchinolone als Augentropfen können postoperativ im Ermessen des Operateurs eingesetzt werden. Die Effektivität solcher Anwendung konnte bislang aber nicht eindeutig bewiesen werden (Barry 2013). Zu beachten gilt, dass eine prophylaktische Anwendung von Antibiotika zur vermehrten Endophthalmitiden mit multiresistenten Keimen führen könnte (Storey, Dollin et al. 2016). Eine kurzfristige Anwendung antibiotischer Augentropfen präoperativ ist durch die Desinfektion mit PVP-I obsolet (Barry 2013).

Von einem Zusatz von Antibiotika in Spüllösungen wird in den ESCRS-Empfehlungen abgeraten, da einerseits der Nutzen nicht bewiesen werden konnte und gleichzeitig mit einem prophylaktischem Einsatz auch die Resistenzentwicklung steigt (Barry 2013). Der Einsatz von 10 mg Gentamicin in 100 ml BSS Spüllösung, die standardmäßig während ppV-Eingriffe benutzt worden ist, konnte die Entwicklung von Endophthalmitiden in der Folge nicht verhindern (Kunimoto, Kaiser et al. 2007). Die Toxizität bestimmter Antibiotikagruppen und die Gefahr der Überdosierung sind weitere Nachteile (Campochiaro und Lim 1994).

Einige Schritte bei der Durchführung der ppV können für die Prophylaxe bedeutend sein. Die *Microsurgical Safety Task Force* (MSTF) veröffentlichte Empfehlungen für die Prophylaxe einer Endophthalmitis nach mikrochirurgischer (25G und 23G) ppV, die teils evidenzbasierte aber vorwiegend auf Expertenmeinungen basierende Maßnahmen enthält (Kaiser, Prenner et al. 2010, Shah und Gupta 2012). Als eine Komponente wird die Verlagerung der Bindehaut vor der Sklerotomie genannt, was keine Überlagerung der Einstichstellen in der Bindehaut und Sklera zur Folge hätte und die Eindringung der an der Oberfläche angesiedelten Bakterien erschweren würde. Ferner sollte eine abgewinkelte Inzisionsführung für eine bessere Adaptation der Schnittkanten sorgen. Somit wird erreicht, dass postoperativ weniger Hypotonie entsteht und die Erreger insgesamt eine längere Strecke überwinden müssten. Bei der Entfernung der Mikrokanülen sollte darauf geachtet werden, dass der Glaskörper nicht inkarzeriert wird (Kaiser, Prenner et al. 2010).

Eine Reduktion der Endophthalmitis-Fälle wurde unter Einsatz der minimalinvasiven Technik und einer anschließenden Gastamponade mit Octafluorpropan (C_3F_8) beobachtet (Chiang, Kaiser et al. 2011). Diese Reduktion im Zusammenhang mit Gasendotamponaden wurde auch in anderen Studien gezeigt (Wu, Berrocal et al. 2011, Park, Ramasamy et al. 2014b). Aus diesem Grund wurde es auch durch die MSTF als Empfehlung geäußert, einen Austausch der Flüssigkeit durch das Gas am Ende der ppV zu erwägen (Chiang, Kaiser et al. 2011). Es ist allerdings gut möglich, dass nicht der Einsatz von Gas *per se* ein Vorteil für die postoperative Endophthalmitis ist, sondern die Tatsache, dass beim Einsatz von Gas undichte Stellen durch Bläschenbildung sofort erkannt werden. Postoperativ werden klinische Kontrollen der Wundleckage, der Glaskörperinkarzeration und ein engmaschiges Follow-up der Patienten empfohlen (Shah und Gupta 2012).

Bei den IVIs wurden signifikant häufiger die *Streptococcus spp.* als Erreger der Endophthalmitis nachgewiesen, deswegen zielen Prophylaxe-Maßnahmen hierbei darauf ab, diese Kontaminationsquelle zu reduzieren. Eine

Metastudie zeigte auf, dass bei Liquorpunktion oder intraartikulären Injektionen ebenfalls häufig aerosolierte Erreger auf die Injektionsstelle gelangt sind (McCannel 2011). Entweder das Tragen einer Atemmaske oder das Schweißen konnten solche Kontamination verringern (Doshi, Bakri et al. 2011). Eine Studie zeigte, dass eine Einhaltung der prophylaktischen Maßnahmen wie das Tragen der Atemmaske und eine ausreichende Menge angemessen konzentrierter PVP-I Desinfektion (z.B. 5 ml des 2,5%igen PVP-I und Einwirkzeit von 30 s) eine Inzidenz von 0 Fälle pro 15.144 IVIs erreichte (Shimada, Hattori et al. 2013).

1.3 Povidon-Iod – Wirkung und Verträglichkeit

PVP-I ist ein Komplex von Triiodid (I_3^-) und dem organischen Polymer Polyvinylpyrrolidon. In wässrigen Lösungen entstehen in Gleichgewichtsreaktionen sieben verschiedene Formen des Iods, von denen jedoch fast nur das molekulare I_2 eine bakterizide Wirkung hat (Gottardi 1985). Die nicht-kovalente Bindung über Wasserstoffbrücken von Iod mit dem Polymer bildet ein Depot für das aktive Iod. Die Freisetzung des I_2 aus der PVP-I Mizelle erfolgt prolongiert, sodass die Konzentration von freiem Iod langsam ansteigt, ohne die bakterizid unwirksamen anderen Formen zu bilden. Die Komplexierung mit PVP erhöht dadurch die chemische Stabilität und die Wasserlöslichkeit des Iods und verringert die lokale Toxizität (Schreier, Erdos et al. 1997, Cooper 2007, Capriotti und Capriotti 2012).

Die bakterizide Wirkung des PVP-I beruht auf den starken Oxidierungseigenschaften des freien I_2 . Es oxidiert Aminosäuren wie Cystein und Methionin an der S-H Bindungsstelle und verhindert Wasserstoffbindung durch Reaktion an der N-H Bindungsstelle in Arginin, Histidin und Lysin. In den Zellmembranen reagiert Iod mit der C=C Bindung der Fettsäuren. In der DNA kann es mit Adenin, Cytosin oder Guanin eine Bindung eingehen, die die Wasserstoffbindung verhindert (Cooper 2007). Da hierbei jedoch keine freien Radikale entstehen, ist eine ausreichende Gewebeverträglichkeit gewährleistet, was auch in Zellkulturversuchen gezeigt wurde (Assadian 2008). Elektronenmikroskopisch konnten in verschiedenen Bakterien unter Einwirkung

von PVP-I folgende Ereignisse gezeigt werden: Koagulation des chromosomalen Materials, Segregation der Zytoplasmabestandteile und Auflockerung der Zellwände. Biochemisch wurde die Abnahme der Enzymaktivität gezeigt. So kann Iod gleichzeitig Schäden in der Zellmembran, im Zytoplasma und in der Enzymaktivität hervorrufen (Schreier, Erdos et al. 1997).

Die antimikrobielle Wirkung von Iod umfasst Bakterien inklusive Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) (Lacey und Catto 1993), behüllte und unbehüllte Viren (Kawana, Kitamura et al. 1997) Sporen, Pilze und Protozoen (Cooper 2007, Capriotti und Capriotti 2012). Der universelle Wirkmechanismus, der irreversible Schäden an räumlichen Strukturen und Funktionsbausteinen von Mikroorganismen verursacht (Schreier, Erdos et al. 1997), ist unterschiedlich von vielen Antibiotika-Arten, welche eine bestimmte Zielstruktur angreifen. Es wird angenommen, dass es keine Resistenzen gegen Iod gibt und auch eine Resistenzentwicklung unwahrscheinlich ist (Houang, Gilmore et al. 1976, Cooper 2007).

Ein Phänomen des PVP-I macht es besonders interessant für multiple medizinische Anwendungen: die bakterizide Wirkung steigt mit einer höheren Verdünnung. Berkelman et al. haben verschiedene Verdünnungen des 10%igen PVP-I getestet und konnten zeigen, dass die 1:100 Verdünnung sogar schneller bakterizid wirkte als die unverdünnte 10%ige Stocklösung. In vielen Fällen waren 1:1000 Verdünnungen genauso effektiv wie die Stocklösung und erst 1:10 000 Verdünnungen waren auch bei den höchsten getesteten Einwirkzeiten nicht mehr ausreichend bakterizid. Dies kann dadurch erklärt werden, dass I₂ aus dem PVP-I Komplex in einer verdünnten Lösung leichter freigesetzt wird. Endgültig ist der Mechanismus allerdings nicht bekannt (Berkelman 1982).

Zwar ist PVP-I grundsätzlich gut verträglich, aber es treten dennoch Allergie-Fälle auf. Krohne et. al. weist darauf hin, dass die befürchtete Anaphylaxie bei Anwendung von Iod ausgeschlossen ist, da dies eine Superlative der Immunreaktion Typ I, einer antikörpervermittelten Antwort darstellt. Das Iod-Molekül an sich kann allerdings auch als natürlicher Bestandteil des menschlichen Körpers keine solche Immunantwort hervorrufen.

Die Körperreaktion auf Anwendung von Iod kann hingegen eine Kontaktallergie, also eine Immunreaktion vom Typ IV, hervorrufen, welche über T-Zellen vermittelt wird und somit keine Anaphylaxie verursacht. Wenn das Iod in einem Komplex wie das PVP-I verabreicht wird, kann dieses Präparat trotz allem beide Immunreaktionen hervorrufen. Verantwortlich ist dann das Präparat und nicht das Iod selbst (Krohne, Allam et al. 2016).

1.4 Elektrophysiologische Grundlagen

Mit der Elektoretinographie kann schon seit über einem Jahrhundert ein komplexes Signal abgeleitet werden, das aus der Summierung verschiedener Potentialschwankungen in den Netzhaut-Zellen resultiert. Es ist zu beachten, dass das ERG verschiedener Spezies mit bestimmten Abweichungen die typische Form der a- und b-Welle zeigte (Perlman 1995).

Die Einteilung des ERG-Signals in drei Wellen basiert auf der grundlegenden Arbeit von Einthoven mit Froschaugen (Einthoven 1908). Dabei wurde der initiale Abfall der ERG-Kurve als der Punkt A, die danach kommenden positiven Ausschläge als B und C bezeichnet. Eine ebenfalls *bis dato* gebräuchliche Einteilung der retinalen Antwort in die Phasen PI bis PIII geht auf den Nobelpreisträger Ragnar Granit zurück. Diese Phasen beschreiben das ERG-Signal einer Katzenretina in zeitlicher Abfolge, abhängig von der Tiefe der Anästhesie. Dabei wird PI als eine langsame und PII als eine schnelle positive Kurve beschrieben. PIII hingegen ist eine negative Kurve. Demnach entspricht die a-Welle dem negativen Anfang von PIII und die b-Welle der Summation von positiven PII und PIII (Granit 1933).

Mit intraretinal eingeführten Mikroelektroden konnte gezeigt werden, dass die negative Auslenkung der a-Welle zu einem großen Teil als eine Reduktion des Dunkelstroms durch Hyperpolarisation der Stäbchen erklärt werden kann (Penn und Hagins 1969). Mit einer ebenfalls lokalen Elektrode konnte der Ursprung der Potentialänderung im Außensegment der Photorezeptoren lokalisiert werden (Heynen und van Norren 1985).

Die positive b-Welle gestaltet sich als Potentialschwankung der den Photorezeptoren nachgeschalteten retinalen Zellen. Mit pharmakologischen

Substanzen konnte gezeigt werden, dass die b-Welle in der ERG erlischt, wenn ein Glutamat-Agonist eingesetzt wird, welcher die depolarisierten Bipolarzellen unterdrückt. Des Weiteren konnte eine erhöhte K^+ -Konzentration in der inneren und äußeren Plexiformen Schicht der Netzhaut und eine Depolarisation der Müller-Zellen nachgewiesen werden, die das Korrelat für die b-Welle darstellt (Stockton und Slaughter 1989).

Die c-Welle stellt die Hyperpolarisation der Zellen des retinalen Pigmentepithels (RPE) in Folge der abgefallenen K^+ -Konzentration um die Photorezeptoren dar. Den Ursprung der c-Welle im RPE unterstützen auch pharmakologische Testungen, bei denen es nach Destruktion des RPE zu einem Erlöschen der c-Welle kam, die a- und b-Wellen aber nicht unterdrückt wurden (Oakley und Green 1976).

2 Material und Methoden

Die angewandte Methode der isolierten und perfundierten Retina wurde durch Sickel (Sickel 1965) etabliert und eignet sich vor allem für Toxizitäts-, Verträglichkeits- und physiologische Studien (Luke, Weiergraber et al. 2005). Auf dieser Methode basierten der angewandte Aufbau und die Durchführung der Versuche.

Folgende Hypothese wurde für die jeweiligen Konzentrationen hierbei geprüft: Die Konzentration (0,0375 %, 0,025 %, 0,0125 %, 0,01 %, 0,0075 %) einer PVP-I-Spüllösung hatte nach 45-minütiger Exposition und 60-minütiger Auswaschzeit einen relevanten Effekt auf das ERG.

2.1 Gewinnung und Präparation der isolierten Retina

Die Rinderaugen wurden in einem lokalen Schlachthof abgeholt. Um eine Hypoxie zu verhindern, wurden die Augen sofort nach der E nukleation im Bereich der *Ora serrata* präpariert und in eine bereits oxygenierte und gekühlte Nährlösung gelegt. Der vordere Augenabschnitt, Linse und Glaskörper wurden bei diesem Schritt bereits entfernt. Eine Perfusionsunterbrechung bis ca. 15 min kann angenommen werden.

Im nächsten Schritt wurden die Präparate kleeblattförmig eingeschnitten und einzelne Proben samt Aderhaut und Sklera herausgestanzt. Der Durchmesser der Proben betrug ca. 5 mm. Bis zum Einsatz in die Perfusionskammer wurden diese Stenzen in einer präoxygenierten Nährlösung unter 4°C gelagert. Dies verursachte meistens in kürzester Zeit die atraumatische Ablösung der Netzhaut vom RPE. In anderen Fällen wurde die Dissoziation durch leichtes Schütteln initiiert. Die abgelöste Retina wurde dann auf den Kunststoff-Träger gebracht und mit einem Doppel-Ring-System befestigt. Durch eine natürliche Wölbung der Netzhaut in Richtung des Glaskörpers konnte die Seite der Photorezeptoren immer identifiziert und korrekt auf den Träger platziert werden. Während des Transportes sowie der Präparation blieben die Retinae unter Einsatz des Rotlichts dunkeladaptiert.

2.2 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau (Abb. 1) bestand aus einer lichtdichten Perfusionskammer (1), einer Lichtquelle (1), einem Träger mit Elektroden (1), einer Rollerpumpe (2), einem Wasserbad mit Entlüfter (3), einem Medikamenten-Perfusor (4) und aus einem aufzeichnenden Oszilloskop.

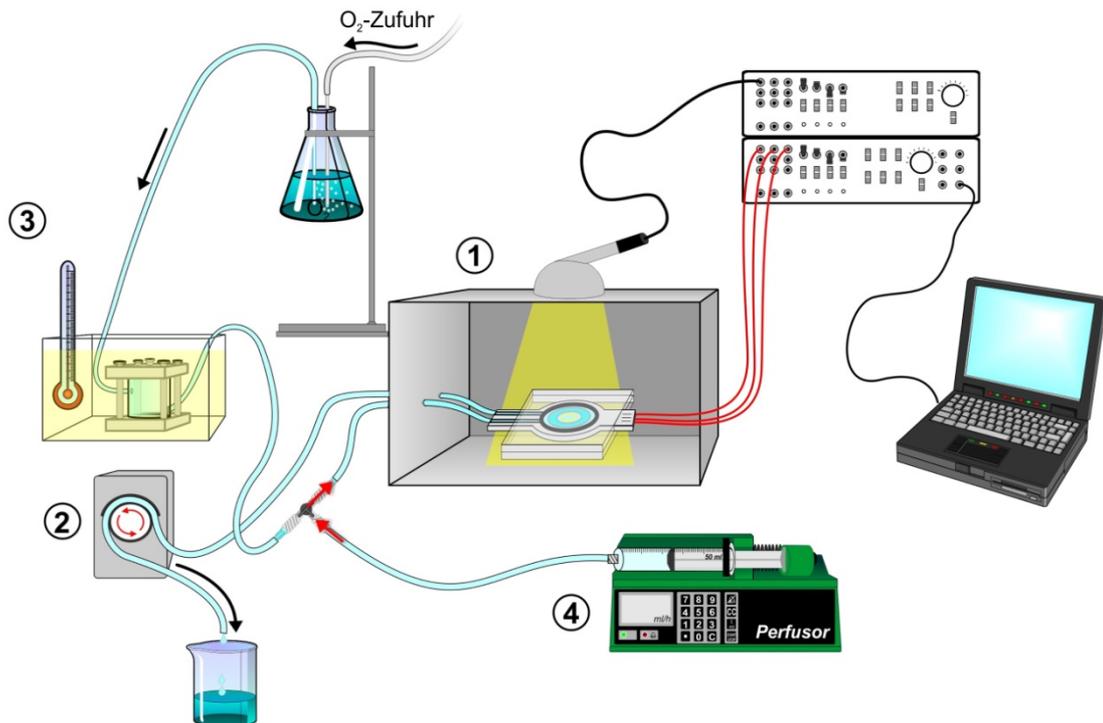


Abbildung 1: Aufbau des Modells der isolierten und perfundierten Retina. 1 Perfusionskammer; 2 Rollerpumpe; 3 Entlüfter in einem Wasserbad; 4 Medikamenten-Perfusor. Autorin des Schemas Regina Ebenhoch, Department für Augenheilkunde Tübingen.

Als Nährlösung wurde die Sickel-Lösung (120 mM NaCl, 2 mM KCl, 0,1 mM MgCl₂, 0,15 mM CaCl₂, 1,5 mM NaH₂PO₄, 13,5 mM Na₂HPO₄ und 5 mM Glucose) eingesetzt (Sickel 1966). Diese wurde aus steril filtrierten Stocklösungen innerhalb 24 Stunden vor Gebrauch angesetzt. Während des Versuches wurde die Lösung ununterbrochen mittels eines Aquariumssteines oxygeniert und in einem Wasserbad aufgeheizt, sodass sie in der Perfusionskammer 30°C erreichte. Um Störungen bei der Ableitung des ERG durch Luftblasen in der Perfusionskammer zu vermeiden, kam ein Entlüfter zum

Einsatz. Die Zufuhr in die Perfusionskammer erfolgte mit Hilfe einer Rollerpumpe mit einer konstanten Laufgeschwindigkeit von 1,5 ml/min. Die Perfusion der Netzhaut im Träger wurde von beiden Seiten gewährleistet.

Die Ableitung der retinalen Aktivität erfolgte unmittelbar nach dem Einbau einer Probe in die Perfusionskammer. Die Amplitude der aufgenommenen Kurve wurde mittels Verstärker auf 11 μV eingestellt und galt als stabil, sobald sie über 30 min nicht mehr als $\pm 1 \mu\text{V}$ geschwankt ist. Die Messungen wurden durch das Auslösen einer Xenon-Lichtquelle in der Perfusionskammer alle 5 min durchgeführt. Die Lichtintensität betrug dabei 6,3 mlx an der Netzhaut-Oberfläche. Dies wurde durch einen Lichtfilter gewährleistet (Wratten Filter; Kodak, Stuttgart, Germany). Ein Timer (Photopic Stimulator PS33 Plus; Grass Warwick, RI, USA) kontrollierte die Dauer des Reizes von 10 μs . Das ERG wurde über zwei Silberdrahtelektroden am Träger aufgenommen und durch den Grass RPS312RM Amplifier verstärkt, anschließend verarbeitet und in digitale Form konvertiert (PCI-MIO-16XE-50).

2.3 Validierung des Einsatzes des Medikamenten-Perfusors

In dem vorgestellten Aufbau des Experiments wurde die Testsubstanz der oxygenierten Nährlösung kurz vor dem Eintritt in die Perfusionskammer mittels Medikamenten-Perfusors PERFUSOR® Secura FT der Firma B. Braun hinzugefügt. Dies ist eine Erweiterung des etablierten Modells der isolierten und perfundierten Retina.

In anderen Anwendungen dieses wurde die Testsubstanz oft direkt der Nährlösung beigefügt und auf diese Weise in die Perfusionskammer befördert (Luke, Krott et al. 2007, Luke, Januschowski et al. 2008, Luke, Januschowski et al. 2009, Luke, Januschowski et al. 2010a, Januschowski, Zhou et al. 2012). Für bestimmte Substanzen wurde ein Lösungsmittelträger der Nährlösung addiert (Luke, Krott et al. 2007, Luke, Januschowski et al. 2010b). Für harte Substanzen wie Triamcinolon-Kristalle oder Gel-Substanzen wurde eine direkte Applikation durch eine Kanüle auf die Netzhautprobe praktiziert (Luke,

Januschowski et al. 2008, Januschowski, Mueller et al. 2011, Januschowski, Mueller et al. 2012a, Januschowski, Mueller et al. 2012b).

Mit dem Einsatz des PVP-I war es allerdings nicht möglich, einen der bereits beschriebenen Wege zu wählen. In den Vorversuchen fiel auf, dass eine offene Lagerung unter der Oxygenierung zu einer viel schnelleren Entfärbung des PVP-Iods führte als bei einer geschlossenen Lagerung ohne zusätzliche Anreicherung mit Sauerstoff. Da die Entfärbung einen Verlust der bakteriziden Wirkung des Povidon-Iods bedeutet (FachInfo 2013), wurde die Zufuhr der Testsubstanz über die reichlich oxygenierte Nährlösung als mangelhaft angesehen.

Die Einführung des Medikamenten-Perfusors in den Experimentaufbau machte es möglich, das PVP-I für die Dauer des Experimentes in einem geschlossenen System ohne zusätzliche Oxygenierung zu lagern. Der Medikamenten-Perfusor wurde über einen Dreiwegehahn kurz vor Eintritt in die Perfusionskammer an den zuführenden Schlauch, der die oxygenierte Sichel-Lösung befördert, angeschlossen (Abb. 1). Der Einsatz des Medikamenten-Perfusors ermöglichte eine Minderung des unerwünschten Effektes, da die Testsubstanz nur eine sehr kurze Zeit in Berührung mit der oxygenierten Sichel-Lösung kam.

Da die ausreichende Oxygenierung einer der Grundbausteine des Modells der isolierten und perfundierten Retina ist, musste in einer Versuchsreihe ausgeschlossen werden, dass durch die Mischung der Testsubstanz mit der nicht-oxygenierten Sichel-Lösung eine Minderversorgung der Retinae entsteht. Es wurden Validierungsversuche durchgeführt, in denen die unoxxygenierte Sichel-Lösung als Testsubstanz über den Medikamenten-Perfusor mit einer maximalen Geschwindigkeit von 10 ml/h über 45 min der Nährlösung beigefügt wurde.

Es zeigte sich hierbei ein Rückgang der Amplituden der a-Wellen um 3,5 % ($p=0,37$) und der b-Wellen um 6,2 % ($p=0,24$), was keine relevanten ERG-Veränderungen darstellte. In den tatsächlichen Versuchen wurde eine maximale Laufrate der Testlösung von 7,7 ml/h erreicht, die damit unterhalb der

getestet von 10ml/h lag, sodass man eine dadurch entstehende relevante Unterversorgung mit Sauerstoff ausschließen kann.

Der Einsatz des Medikamenten-Perfusors zur Beförderung der Testsubstanz ist eine Erweiterung des Modells der isolierten und perfundierten Retina, die es vor allem ermöglicht, flüchtige oder weniger stabile Substanzen zu testen. Durch die Genauigkeit des Medikamenten-Perfusors kann die richtige Dosierung stets gewährleistet werden und die Handhabung des Wechsels zwischen Nähr- und Testlösung während eines Versuches ist deutlich erleichtert.

2.4 Protokoll der einzelnen Versuche

Der Ablauf eines Versuches wird in Abb. 2 visualisiert. Am Anfang jedes Versuches wurde eine Einlaufzeit von 30 min eingehalten, während der die Stabilität der retinalen Aktivität gesichert wurde. Die Messungen hierfür erfolgten alle 5 min. Für die Testphase musste der Medikamenten-Perfusor gestartet werden; dafür war es erforderlich, die Rollerpumpe kurz auszumachen, der Perfusionstopp betrug dabei ca. 15 Sekunden. Die Testphase umfasste 9 Messungen über 45 min. Anschließend wurde mit einer ebenfalls zu vernachlässigenden Perfusionsunterbrechung die Nährlösung ohne den Medikamenten-Perfusor gestartet und es folgte die Auswaschzeit, die 60 min dauerte.

Es wurden folgende Konzentrationen des PVP-I getestet: 0,0375 %, 0,025 %, 0,0125 %, 0,01 %, 0,0075 %. Für jede Konzentration wurden 5 Versuche jeweils für die a- und b-Welle durchgeführt (n=5). Die Laufrate des Perfusors wurde für die jeweilige Konzentration ermittelt und überstieg die validierte Geschwindigkeit von 10ml/h nicht. Für die Aufzeichnung der a-Wellen wurden der Sichel-Lösung 2 mM Aspartat zusätzlich beigelegt, um die synaptische Transmission an der ersten retinalen Synapse zu hemmen und somit die b-Welle zu unterdrücken (Hanawa und Tateishi 1970).

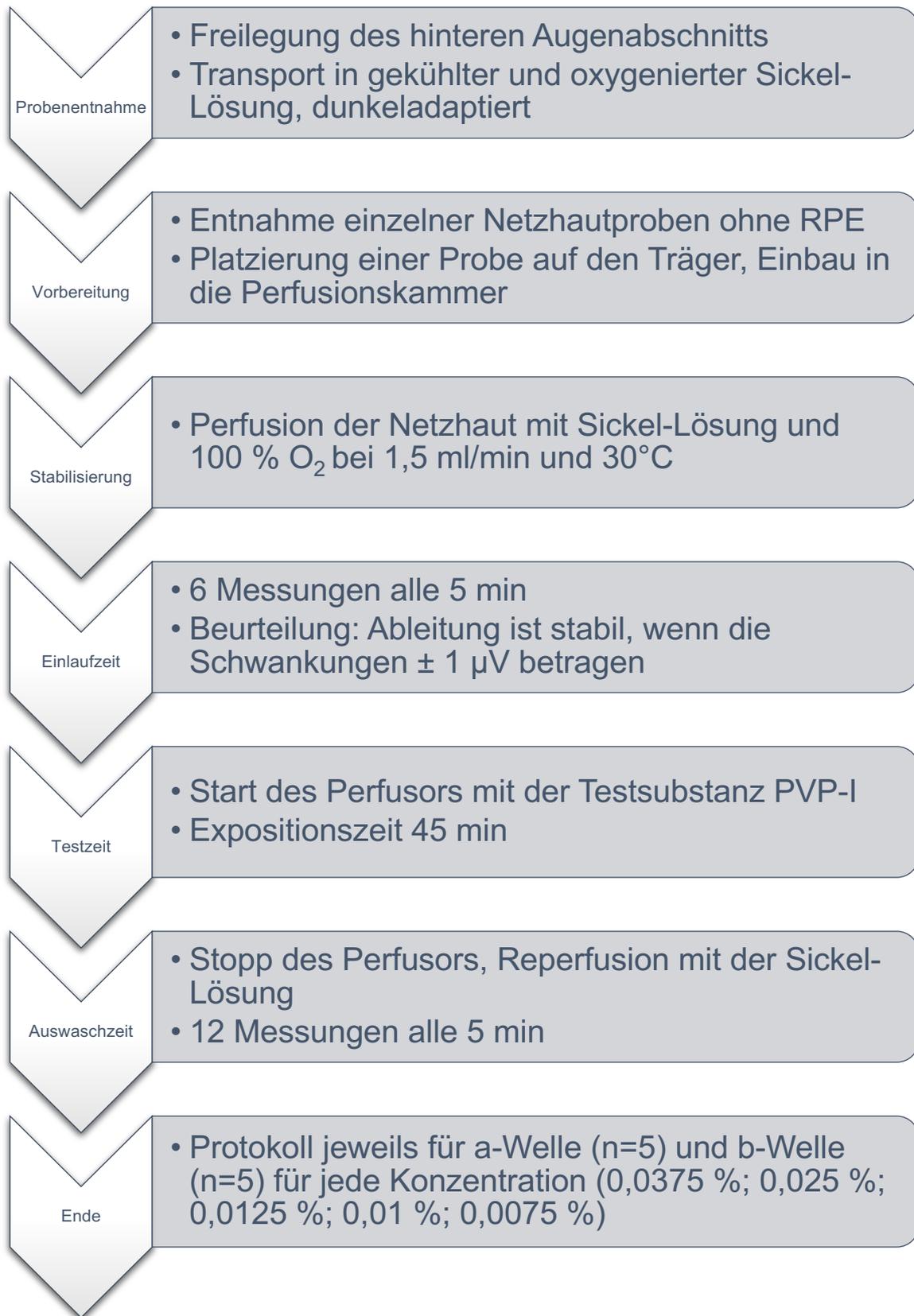


Abbildung 2: Protokoll eines Versuches im Modell der isolierten und perfundierten Retina unter Einsatz von Rindernetzhaut. Quelle: eigene Darstellung.

2.5 Interpretation des Elektretinogramms

Das biphasische ERG wurde von der Superfused Retina® Software aufgenommen und ausgewertet. Einzelmessungen wurden alle 5 min durchgeführt. Über eine Cursor-Funktion wurde die Amplitude [μV] sowie die Latenz [ms] von a-Wellen (siehe Abb. 3) und b-Wellen (siehe Abb. 4) gemessen.

Die Qualität des ERG-Signals wurde mit der Einlaufzeit von 30 min am Anfang jedes Versuches überprüft. Eine Exposition mit der Testsubstanz erfolgte erst nach Gewährleistung einer stabilen ERG-Ableitung. Demnach ist es möglich, die durchschnittlichen Messwerte der Einlaufzeit mit den gemittelten Werten während und nach der Expositionszeit zu vergleichen. Darüber hinaus ist die stabile Ableitung der b-Welle in dem Modell der isolierten und perfundierten Retina über 10 Stunden bereits belegt. Dabei zeigte die Amplitude der b-Welle einen geringen durchschnittlichen Rückgang um 1,2 % pro vergangene Stunde (Luke, Weiergraber et al. 2005).

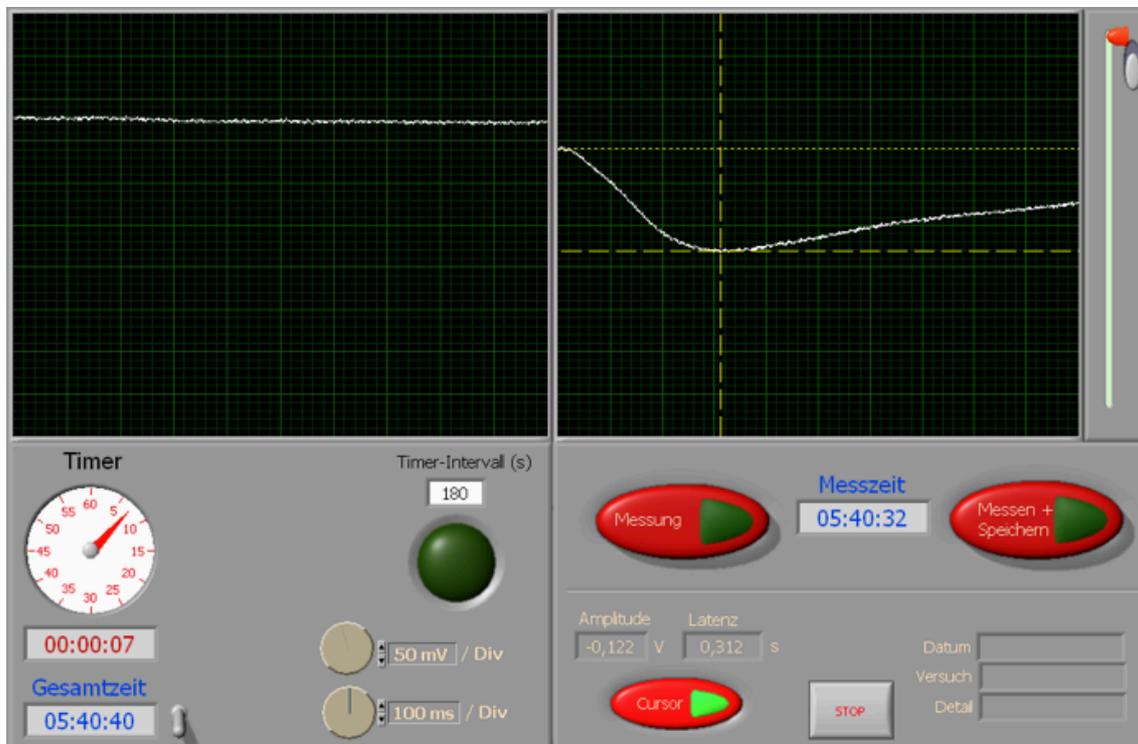


Abbildung 3: a-Welle in Superfused Retina® PC-Software. Quelle: eigene Aufnahme.

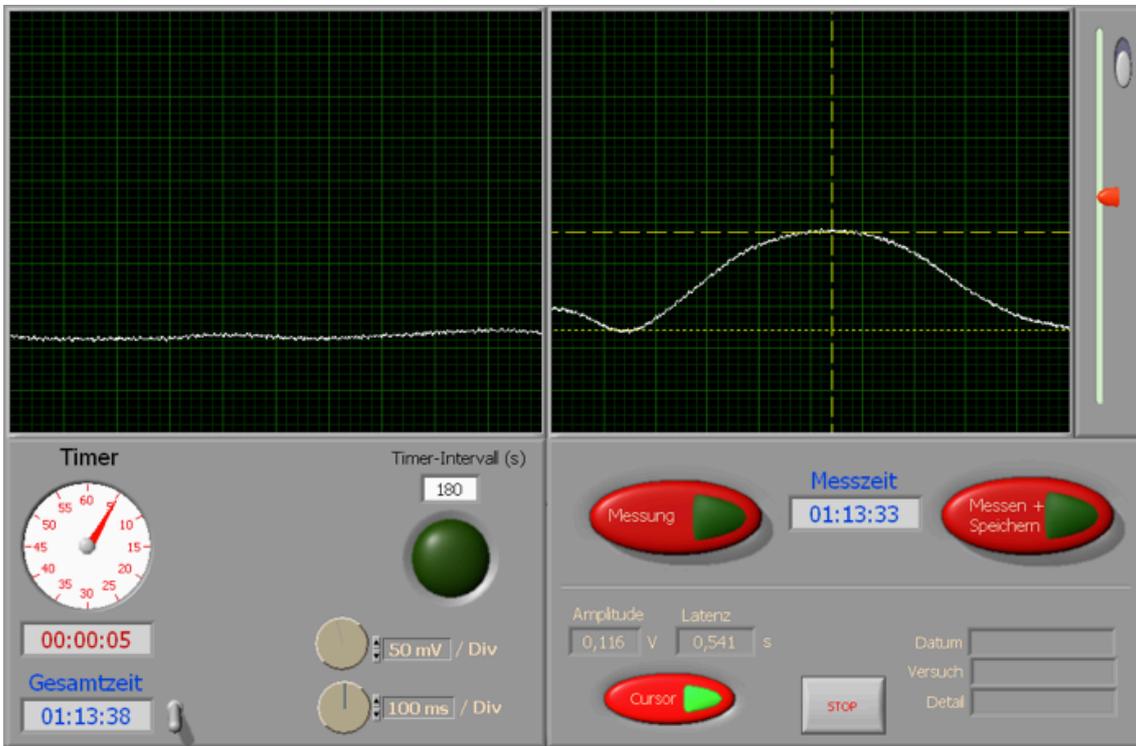


Abbildung 4: b-Welle in Superfused Retina® PC-Software. Quelle: eigene Aufnahme.

3 Ergebnisse

3.1 ERG der ausgewählten Povidon-Iod Konzentrationen

In der statistischen Auswertung der ERG-Messungen wurden die Amplituden der a- oder b-Wellen jeder Konzentration (n=5) je nach Messzeitpunkt gemittelt und miteinander verglichen. Entscheidend war dabei jedoch der letzte Messpunkt der Auswaschzeit in der 130. Minute verglichen mit dem Ausgangswert in der 25. Minute vor der Testzeit. Die Daten wurden mit dem statistischen t-Test überprüft. Dabei wurde ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als statistisch relevant (markiert: *) angesehen (siehe *Tabelle 3*).

Tabelle 3: Veränderung der durchschnittlichen Amplituden (%) und p-Werte.

Konzentration		0,0075 %	0,01 %	0,0125 %	0,025 %	0,0375 %
b-Welle	75. Minute	-5,36 %	-11,86 %	-48,3 %	-58,6 %	-60,7 %
	p=	0,76	0,108	$8,416 \times 10^{-6*}$	0,02*	0,002*
	90. Minute				+25 %	
	p=				0,476	
	130. Minute	-17,9 %	-10,2 %	-48,3 %	-62,1 %	-73,8 %
	p=	0,25	0,35	0,018*	0,0008*	$9,07 \times 10^{-6*}$
a-Welle	75. Minute	+5,45 %	-8,62 %	-17 %	-47,27 %	-60,33 %
	p=	0,744	0,45	0,022*	0,008*	0,013*
	85. Minute					+50 %
	p=					0,1
	130. Minute	-12,8 %	-17 %	-10,6 %	-34,5 %	-32,6 %
	p=	0,34	0,161	0,079	0,056	0,043*

3.1.1 Die Wirkung des 0,0375%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen

In der Testphase wurden die Netzhautproben mit der 0,0375%igen oxygenierten PVP-I-Spüllösung für 45 min exponiert. Dabei wurde PVP-I mittels eines Medikamenten-Perfusors zu der Sichel-Lösung hinzugefügt. Im ERG zeigten a- und b-Wellen unter dieser Exposition durchschnittlich einen statistisch relevanten Rückgang der Amplitude.

a) a-Welle

Die Amplituden der a-Wellen zeigten unmittelbar nach der Beendigung der Testzeit in der 75. Minute einen signifikanten Rückgang um 60,33 % ($p=0,013^*$). Nach den ersten zehn Minuten Reperfusion mit Sichel-Lösung ohne die Testsubstanz kam es zu einem Anstieg der Amplitude um 50 % ($p=0,1$), der im Vergleich zum Ausgangswert nicht statistisch relevant war. Nach Beendigung der 60-minütigen Auswaschzeit gab es einen statistisch signifikanten Rückgang um 32,6 % ($p=0,043^*$) im Vergleich zu dem Ausgangswert (Pfeil in Abb. 5).

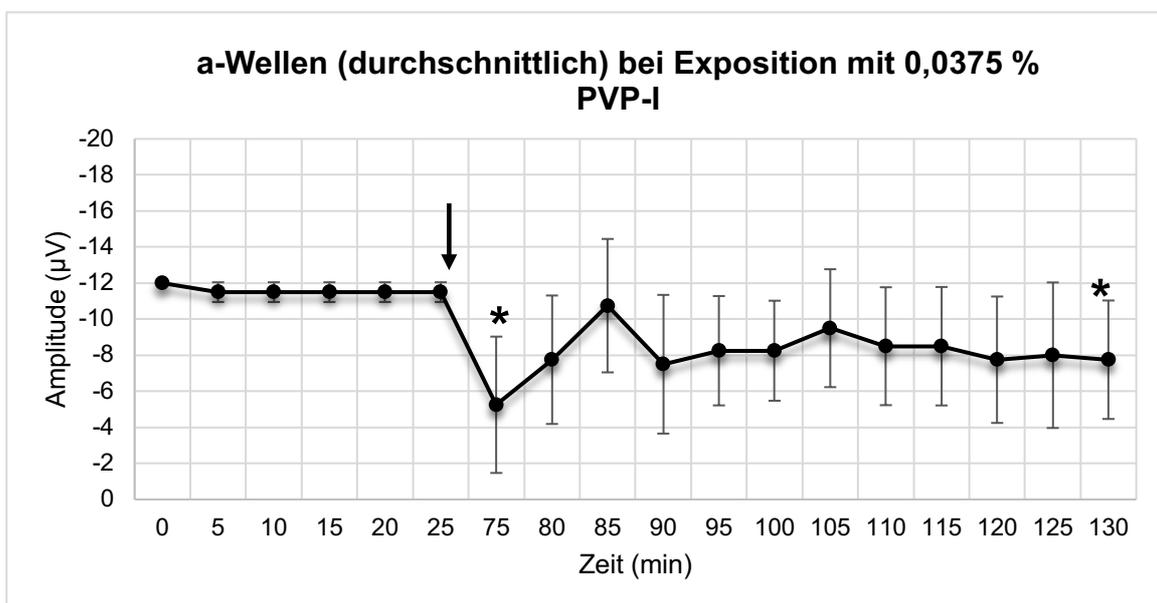


Abbildung 5: a-Wellen bei Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Sterne markieren statistisch signifikante Werte.

b) b-Welle

Die b-Welle zeigte nach der Exposition mit 0,0375%iger PVP-I-Spüllösung direkt nach der Beendigung der Testphase einen anschaulichen Rückgang der Amplitude um 60,7 % ($p=0,002^*$) in der 75. Minute im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb. 6). Auch nach 60-minütiger Auswaschzeit kam es zu einem weiteren Abfall. Im Durchschnitt ist die Amplitude am Ende der

Auswaschzeit um 73,85 % gesunken, was sich bei $p=9,07 \times 10^{-6}$ statistisch relevant zeigte.

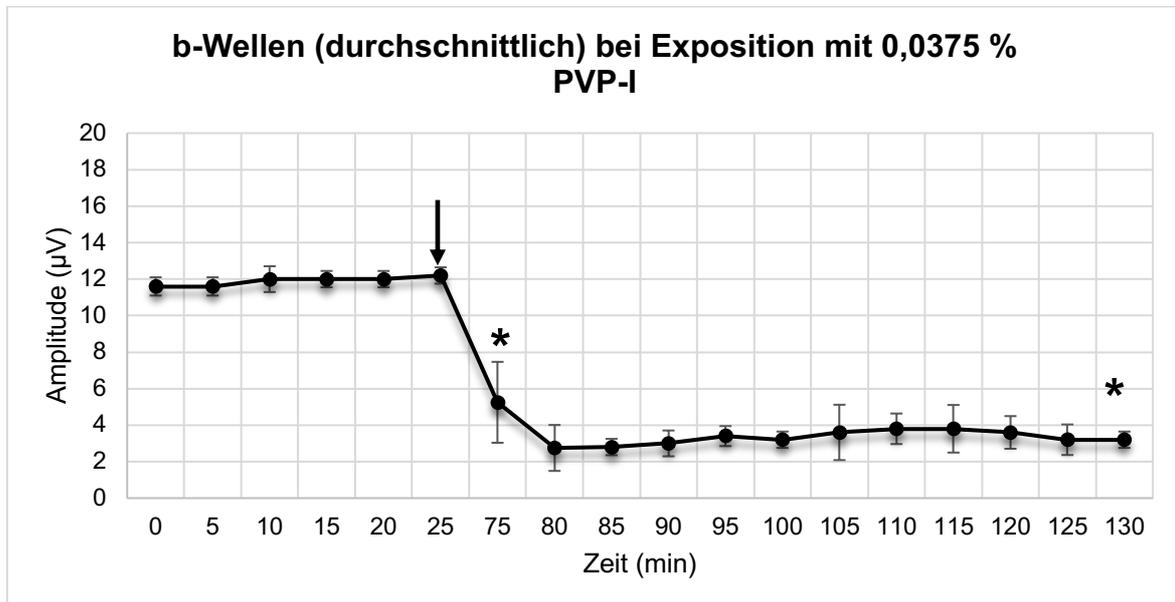


Abbildung 6: b-Wellen bei Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Sterne markieren ausgewählte statistisch signifikante Werte.

3.1.2 Die Wirkung des 0,025%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen

Bei der Testung der 0,025%igen PVP-I-Spüllösung zeigte sich ein relevanter Rückgang der Amplitude der b-Wellen und ein statistisch nicht signifikanter Rückgang der a-Wellen.

a) a-Welle

Unter der Exposition mit 0,025%igem PVP-I entwickelten sich die Amplituden der a-Wellen über die Auswaschzeit durchschnittlich rückläufig. In der 75. Minute wurde im Mittel der größte Rückgang um 47,27 % ($p=0,008$ *) im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb. 7) aufgenommen. Im weiteren Verlauf nahm die Amplitude leicht zu, sodass der Rückgang der Amplitude in der 130. Minute 34,5 % betrug, was sich allerdings im Vergleich zum Ausgangswert als statistisch nicht relevant zeigte ($p=0,056$).

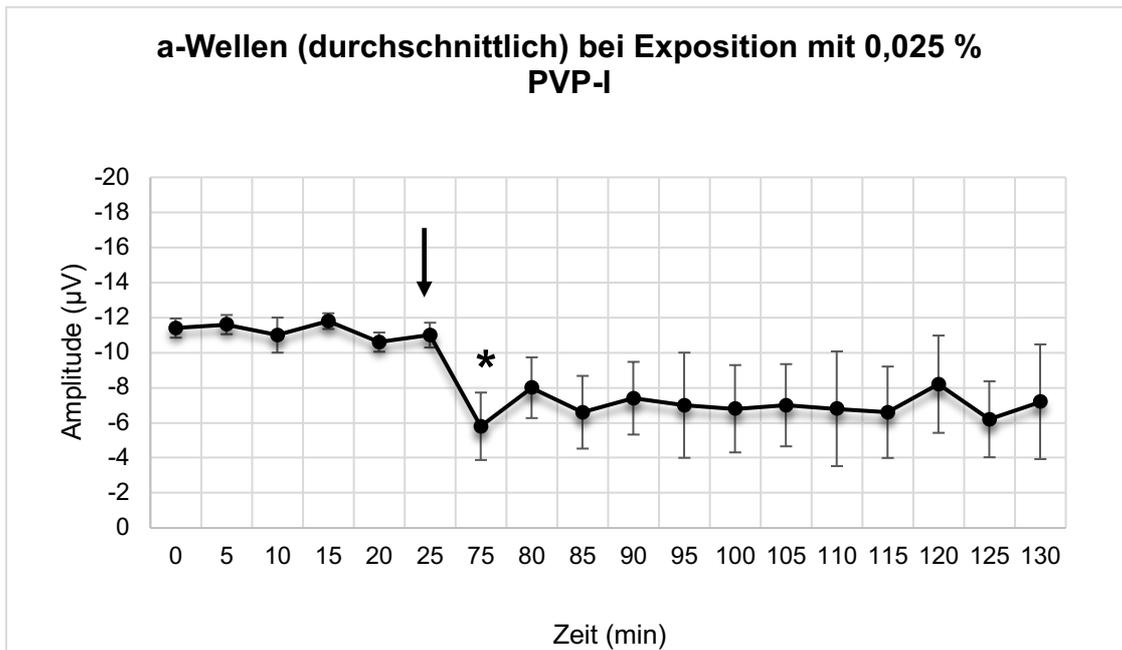


Abbildung 7: a-Wellen bei Exposition mit 0,025%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Stern markiert exemplarisch einen statistisch signifikanten Wert.

b) b-Welle

Nach der Testphase mit 0,025%igem PVP-I wurde ein statistisch signifikanter Rückgang der gemittelten Amplituden der b-Wellen registriert. Nach Einwirkung der Testsubstanz sind die Amplituden in der 75. Minute im

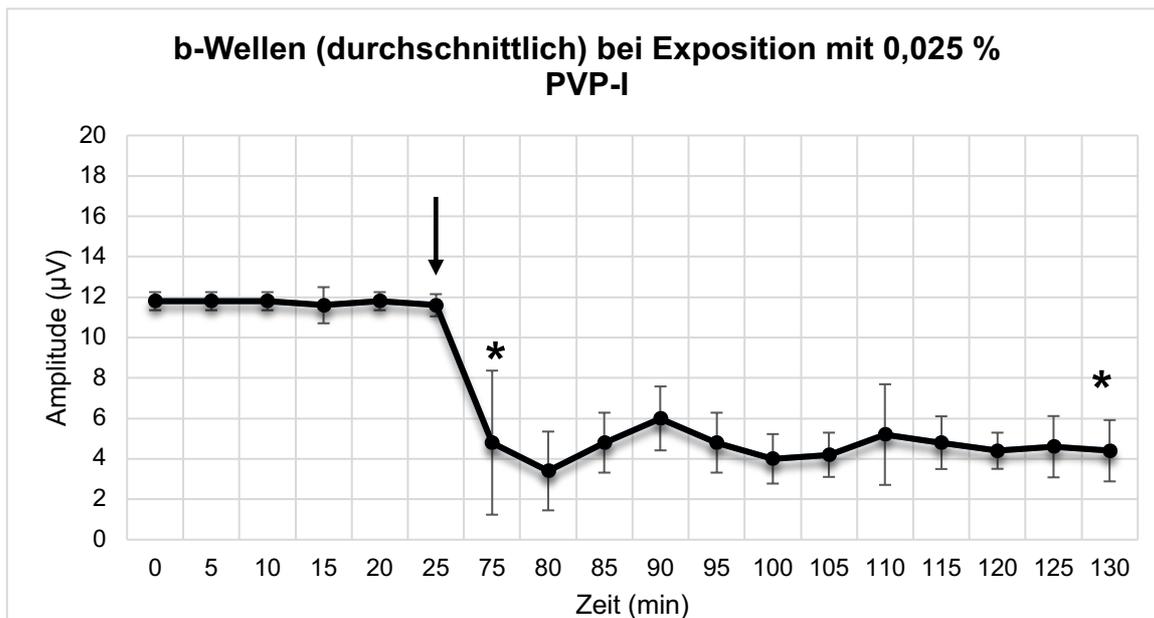


Abbildung 8: b-Wellen bei Exposition mit 0,025%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Sterne markieren ausgewählte statistisch signifikante Werte.

Durchschnitt um 58,6 % ($p=0,02^*$) gefallen. Trotz geringer Schwankungen ist die Amplitude am Ende der Auswaschzeit weiter um 62,1 % im Vergleich zum Ausgangswert gesunken ($p=0,0008^*$).

3.1.3 Die Wirkung des 0,0125%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen

Bei der Exposition mit 0,0125%iger PVP-I-Spüllösung zeigte sich ein statistisch signifikanter Rückgang der b-Wellen und ein geringer nicht signifikanter Abfall der Amplituden der a-Welle.

a) a-Welle

Nach der Testphase ist die durchschnittliche Amplitude initial um 17 % ($p=0,022^*$) gefallen. Im Verlauf der Auswaschzeit kam es zu einem kleinen Anstieg und es wurde im Mittel ein Rückgang der Amplituden der a-Wellen um 10,6 % ($p=0,079$) des Ausgangswertes (Pfeil in Abb. 9) registriert, der nicht statistisch signifikant war.

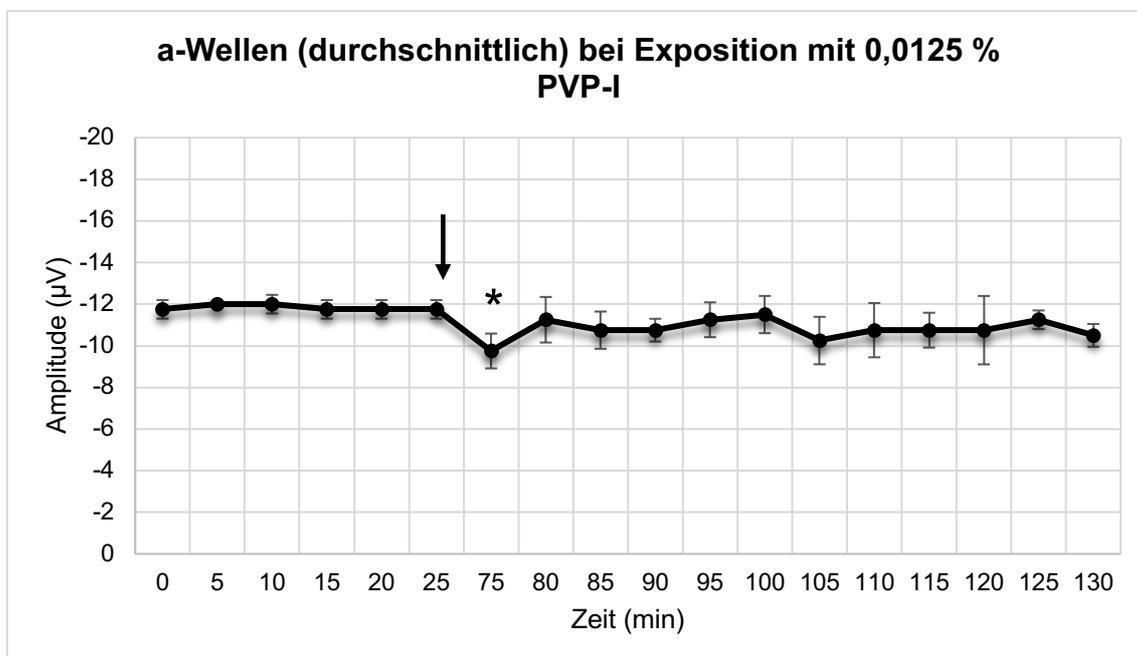


Abbildung 9: a-Wellen (durchschnittlich) bei Exposition mit 0,0125%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Stern markiert einen statistisch signifikanten Wert.

b) b-Welle

Nach der Einwirkung der 0,0125%igen PVP-I-Spüllösung erfolgte ein initialer Abfall (75. Min) der durchschnittlichen Amplitude um 48,3 % ($p=8,4 \times 10^{-6}$). Trotz geringer Schwankungen während der Auswaschzeit blieb die gemittelte Amplitude der b-Wellen auch am Ende um 48,3 % ($p=0,018^*$) des Ausgangswertes (Pfeil in Abb. 10) gesunken, was ebenfalls statistisch signifikant gesichert war.

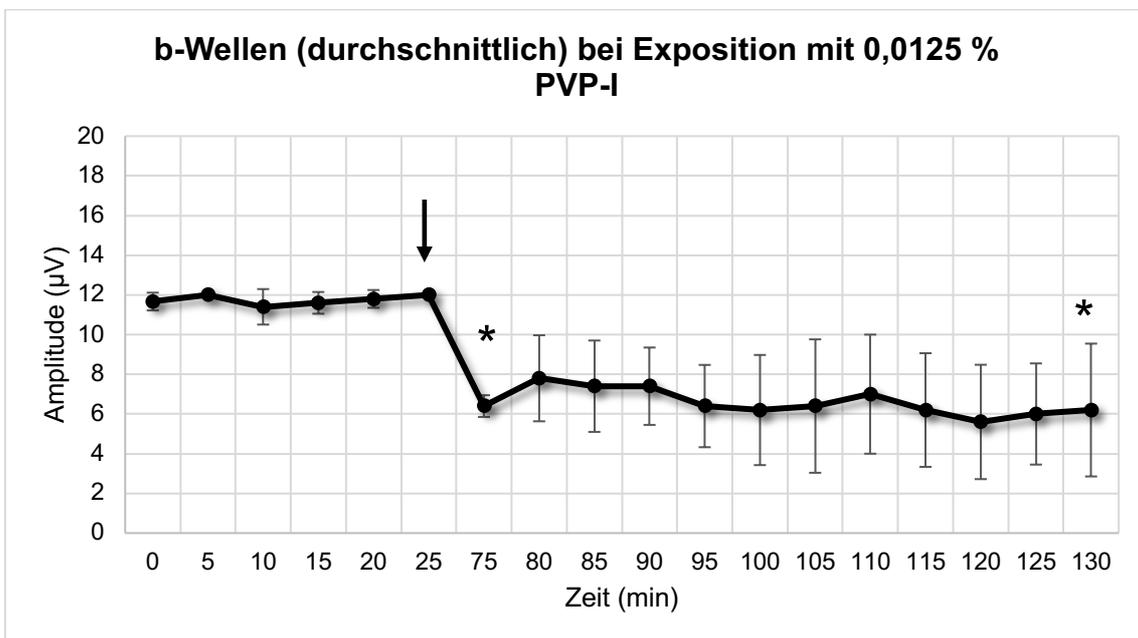


Abbildung 10: b-Wellen bei Exposition mit 0,0125%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt. Sterne markieren ausgewählte statistisch signifikante Werte.

3.1.4 Die Wirkung des 0,01%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen

Es erfolgte die 45-minütige Exposition mit 0,01%igem PVP-I entsprechend dem Versuchsprotokoll. Die Amplituden der a- und b-Wellen zeigten jeweils einen nicht statistisch signifikanten Abfall.

a) a-Welle

Hierbei zeigten die Amplituden am Anfang und am Ende der Auswaschzeit im Durchschnitt einen Rückgang von respektive 8,62 % ($p=0,45$)

und 17 % ($p=0,161$) im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb.11), der nicht statistisch signifikant war.

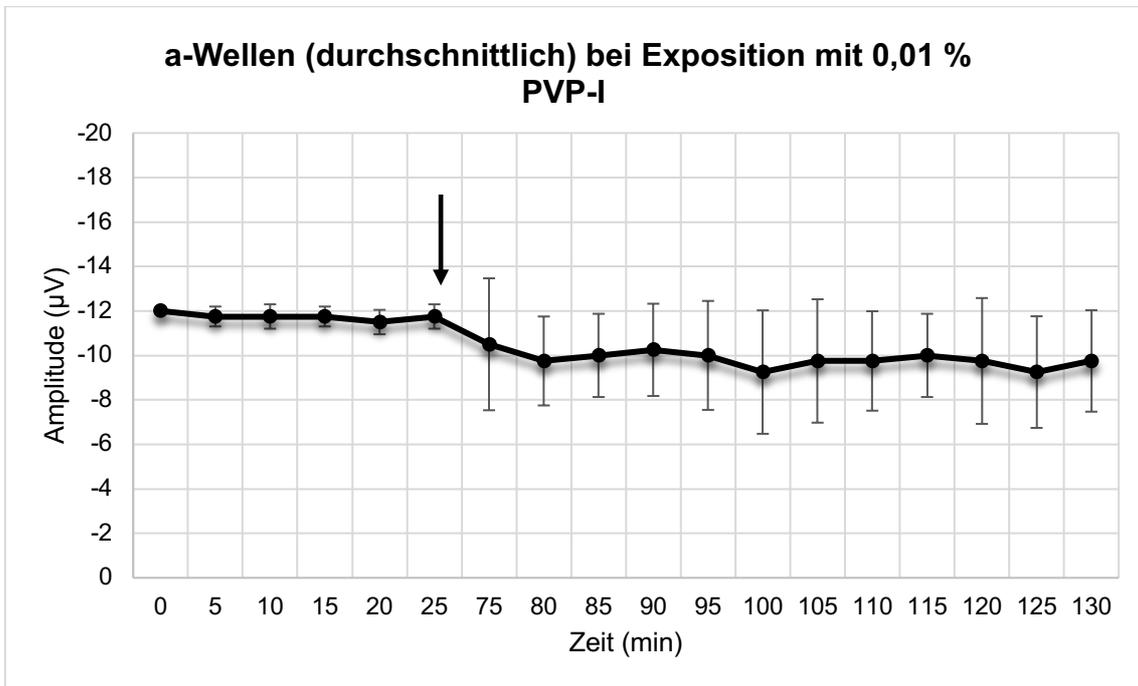


Abbildung 11: a-Wellen bei Exposition mit 0,01%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt.

b) b-Welle

Unter Testung der 0,01%igen PVP-I-Spüllösung kam es durchschnittlich zu einem geringen Rückgang der Amplituden der b-Wellen um 11,86 % ($p=0,108$) am Anfang und um 10,2 % ($p=0,35$) am Ende der Auswaschzeit im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb. 12). Dieser Rückgang zeigte sich statistisch nicht signifikant.

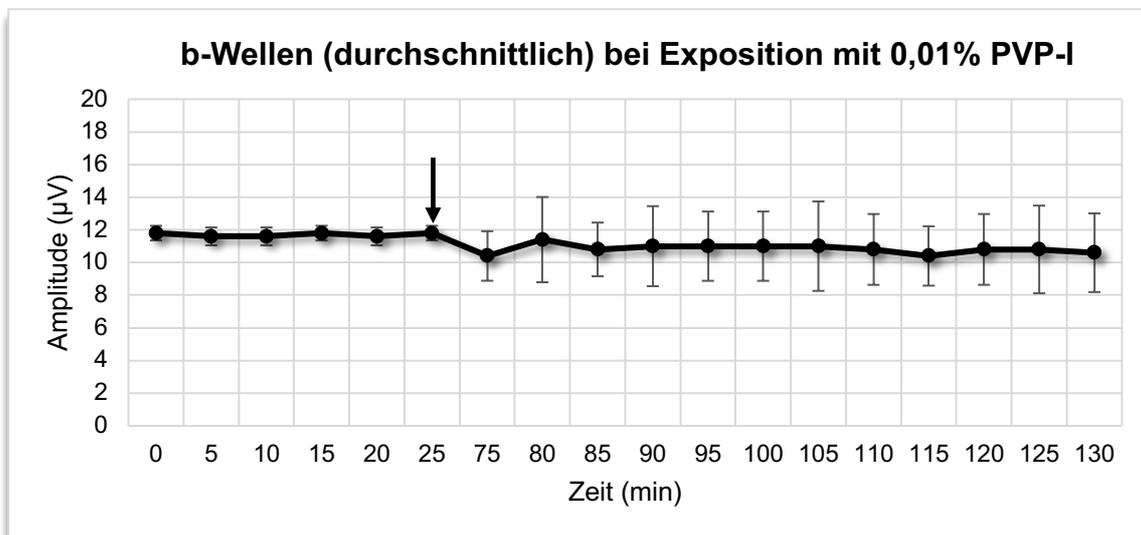


Abbildung 12: b-Wellen bei Exposition mit 0,01%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt.

3.1.5 Die Wirkung des 0,0075%igen Povidon-Iods auf a- und b-Wellen

Nach der Exposition der Netzhautproben mit der 0,0075%igen PVP-I-Spüllösung zeigten a- und b-Wellen statistisch insignifikante Senkungen der durchschnittlichen Amplitudenwerte.

a) a-Welle

Der durchschnittliche Wert der abschließenden Messung zeigte einen Rückgang um 12,8 % ($p=0,34$) im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb.13), was statistisch nicht signifikant war.

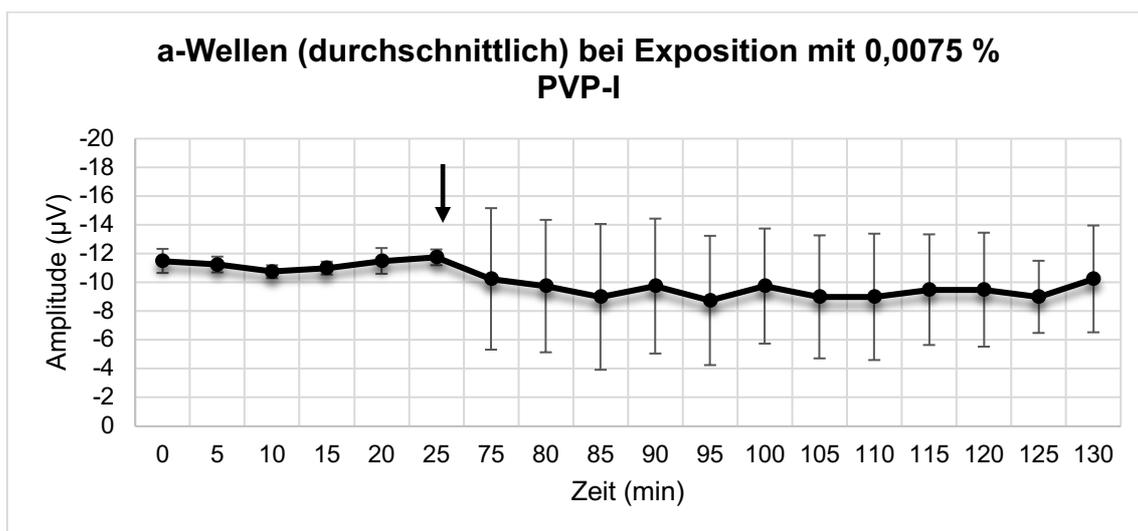


Abbildung 13: a-Wellen bei Exposition mit 0,0075%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt.

b) b-Welle

Am Ende der Auswaschzeit zeigte sich bei den durchschnittlichen Werten der Amplituden der b-Wellen ein Rückgang um 17,9 % ($p=0,25$) im Vergleich zum Ausgangswert (Pfeil in Abb. 14). Dieser Rückgang war nicht statistisch relevant.

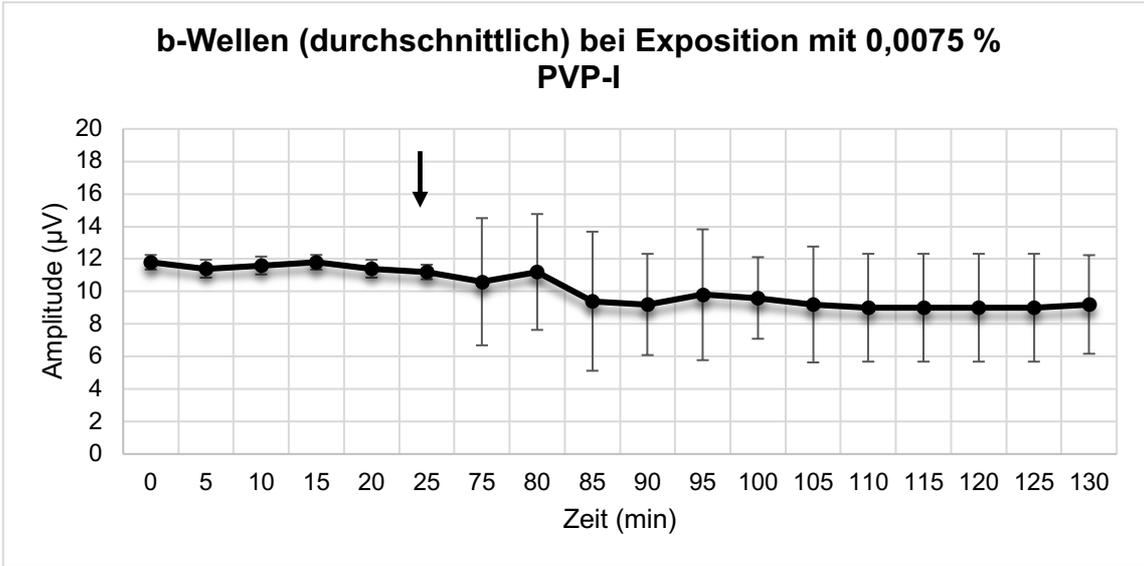


Abbildung 14: b-Wellen bei Exposition mit 0,0075%igem PVP-I. Pfeil markiert den Expositionszeitpunkt.

3.2 Licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen

In einem weiteren Teil der Arbeit wurden Proben eingebettet, um licht- und elektronenmikroskopische Aufnahmen von den Rindernetzhäuten nach einer Exposition mit PVP-I zu untersuchen. Für die Exposition der Netzhäute mit 0,0375 % und 0,3%igem PVP-I wurde das gleiche Protokoll verfolgt, wie im Kapitel 2.4 beschrieben. Anschließend wurden Netzhautproben mit 5%igem Glutaraldehyd in 0,1M Kakodylatpuffer bei 4°C fixiert, mit 1%igem Osmium Tetraoxid nachfixiert und mit Uranyl-Acetat gefärbt. Die Proben wurden mit einer Verdünnungsserie 30 % - 50 % - 70 % - 80 % - 95 % - 100 % des Ethanols und mit Propylen-Oxid dehydriert sowie in Epon eingebettet. Ultradünnschnitte mit Schwermetallfärbung für das Transmissionselektronenmikroskop sowie Semi-Dünnschnitte mit Toluidinblaufärbung für Lichtmikroskopie wurden angefertigt.

3.2.1 Lichtmikroskopische Schichtung der Rindernetzhaut

Die Netzhaut zeigte nach der Einwirkung mit 0,0375%igem PVP-I die übliche lichtmikroskopische Schichtung der neurosensorischen Netzhaut, bestehend aus den Photorezeptoren mit Außen- und Innensegmenten (AS und IS), der äußeren Körnerschicht (ÄKS), der äußeren plexiformen Schicht (ÄPS), der inneren Körnerschicht (IKS), der inneren plexiformen Schicht (IPS) und der Ganglienzellschicht (GZS). Außerdem wurde in der Ganglienzellschicht ein Blutgefäß abgebildet (Abb. 15). Die Außensegmente der Photorezeptoren waren durch die Trennung vom RPE nicht kompakt und teils zerstört. Auffällig gestaltete sich eine Aufhellung in der Mitte der Aufnahme, die über die gesamte Länge der Photorezeptoren, also bis in die äußere Körnerschicht, wo die Zellkerne liegen, ausgedehnt war. Solche Stellen der Aufhellung wurden in allen Schnitten und an mehreren Stellen vorgefunden. Die Zellen erschienen in diesen Arealen weniger strukturiert im Vergleich zu angrenzenden dunkleren Arealen.

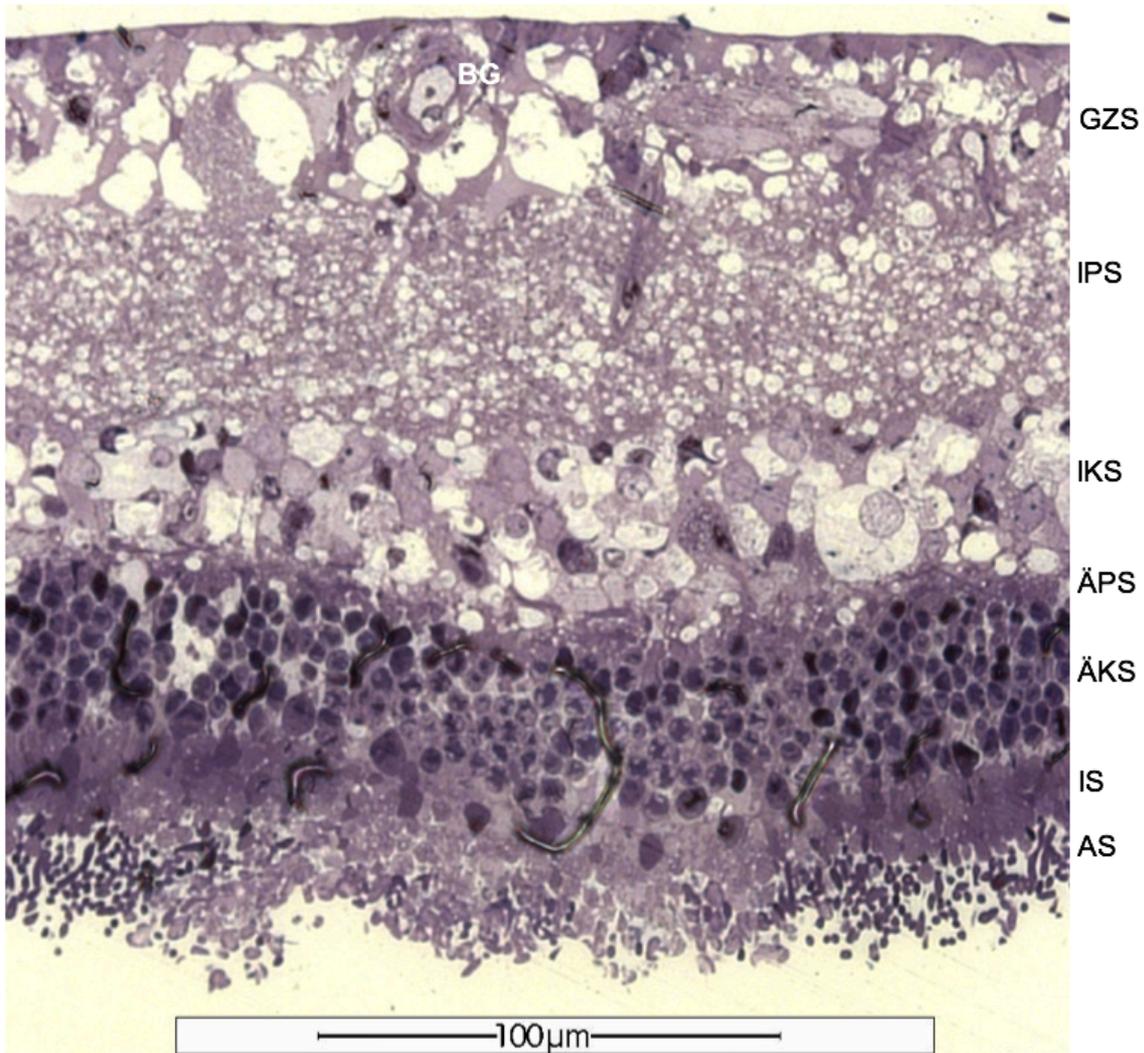


Abbildung 15: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Neurosensorische Schicht. Außensegmente (AS), Innensegmente (IS), äußere Körnerschicht (ÄKS), äußere plexiforme Schicht (ÄPS), innere Körnerschicht (IKS), innere plexiforme Schicht, Ganglienzellschicht (GZS), Blutgefäß (BG). Eponschnitt mit Toluidinblaufärbung.

Die Netzhaut, die mit 0,3%igem PVP-I getestet wurde, zeigte lichtmikroskopisch ebenfalls eine typische Schichtung (Abb. 16 A und B). Auffällig war eine breite Schicht von Strukturen, die morphologisch am ehesten Nervenfasern entsprachen, die zwischen der inneren plexiformen Schicht und der Ganglienzellschicht lokalisiert war. Die Letztere wurde durch diese Nervenfasern scheinbar verdrängt, da die in Abb. 16 A breite Ganglienzellschicht in Abb. 16 B fast nicht mehr abgrenzbar schien, während die Nervenfasern annähernd die zweifache Breite einnahmen. Ein Blutgefäß samt Erythrozyten wurde zwischen Nervenfasern ebenfalls aufgenommen.

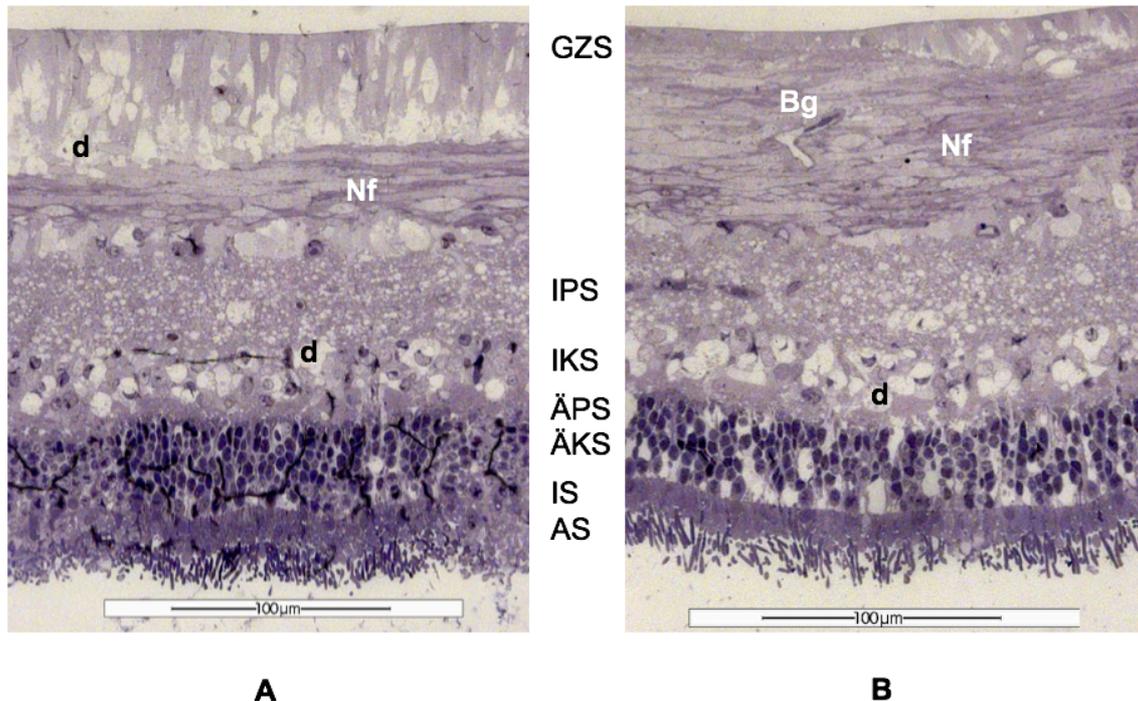


Abbildung 16: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Neurosensorische Schichten an zwei unterschiedlichen Stellen. Außensegmente (AS), Innensegmente (IS), äußere Körnerschicht (ÄKS), äußere plexiforme Schicht (ÄPS), innere Körnerschicht (IKS), Innere plexiforme Schicht, Ganglienzellschicht (GZS), Nervenfasern (Nf), Blutgefäß (Bg), defekte Zellen (d). Eponschnitt mit Toluidinblaufärbung.

In den äußeren und inneren Körnerschichten sowie in der Ganglienzellschicht waren defekte Stellen mit fehlenden Zellen zu sehen. Besonders in der Abb. 16 A war die säulenartige Struktur der inneren Retina zu sehen, mit vielen apoptotischen Arealen, wo Ganglienzellen waren, und verbleibenden Müller-Zellen. Insgesamt war die Ganglienzellschicht in der Netzhaut nach Einwirkung mit 0,3%igem PVP-I morphologisch stärker verändert als die Netzhaut nach der Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Auch bei dieser Netzhaut, die mit 0,3 % PVP-I getestet wurde, waren unterschiedliche Kontraste, d.h. hellere im Wechsel mit dunklen Stellen zu sehen (Abb. 16 A), die bereits bei der Konzentration 0,0375% durchgehend in der Netzhaut beobachtet wurden. Die Zahl der defekten, fehlenden Zellen war in der ganzen Netzhaut eher konstant und hing nicht von der Verteilung der helleren und dunkleren Areale ab.

In einer höheren Vergrößerung wurde der Unterschied zwischen aufgehellten und dunklen Arealen der Photorezeptoren deutlich (Abb. 17). Im aufgehellten Areal schien die Unterscheidung von Außen- und Innensegmenten aufgehoben, einzelne Zellgrenzen waren nicht zu erkennen. Die *Membrana limitans externa* war erhalten, aber durch ein unruhiges Zellmuster und – anordnung schwer erkennbar. In der äußeren Körnerschicht waren die Zellkerne der Photorezeptoren auch weitestgehend beschädigt.

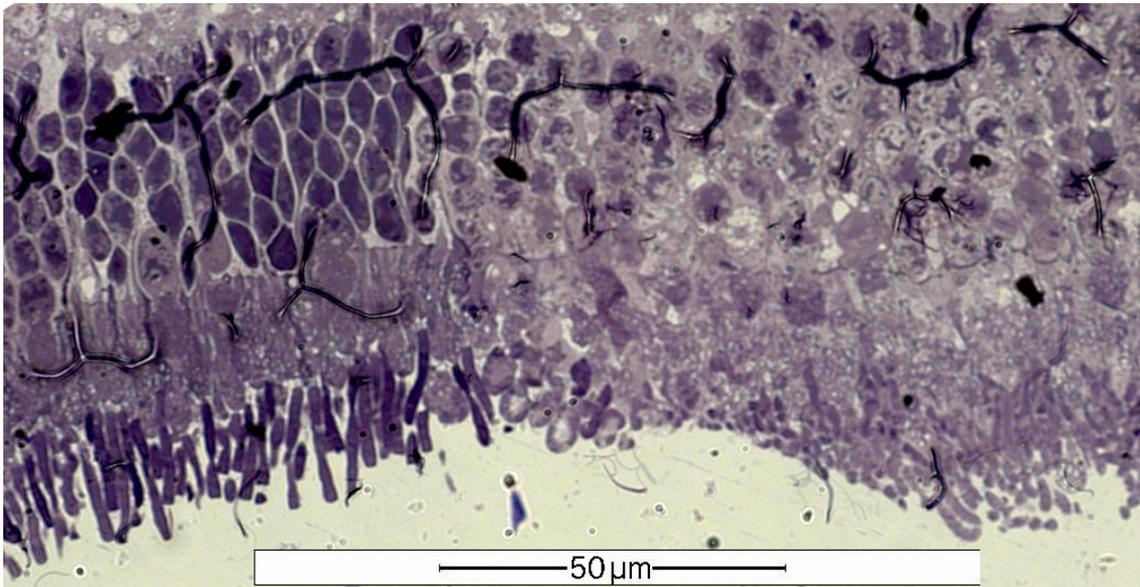


Abbildung 17: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Übergang zwischen aufgehellten und dunklen Arealen. Eponschnitt mit Toluidinblaufärbung.

3.2.2 Elektronenmikroskopische Darstellung von Strukturen der Rindernetzhaut

Die Discus der Photorezeptoren waren gleichmäßig dick und regelmäßig angeordnet. An den seitlichen Enden der Discus war eine typische Schleifenbildung zu erkennen. Die Zellmembran umgab das Außensegment des Photorezeptors von außen und war deutlich von der Membran und den Schleifen der inneren Discus zu unterscheiden (Abb. 18). Die Außensegmente in der Netzhaut nach der Exposition mit 0,3%igem PVP-I wiesen gleiche, gut erhaltene Struktur auf.

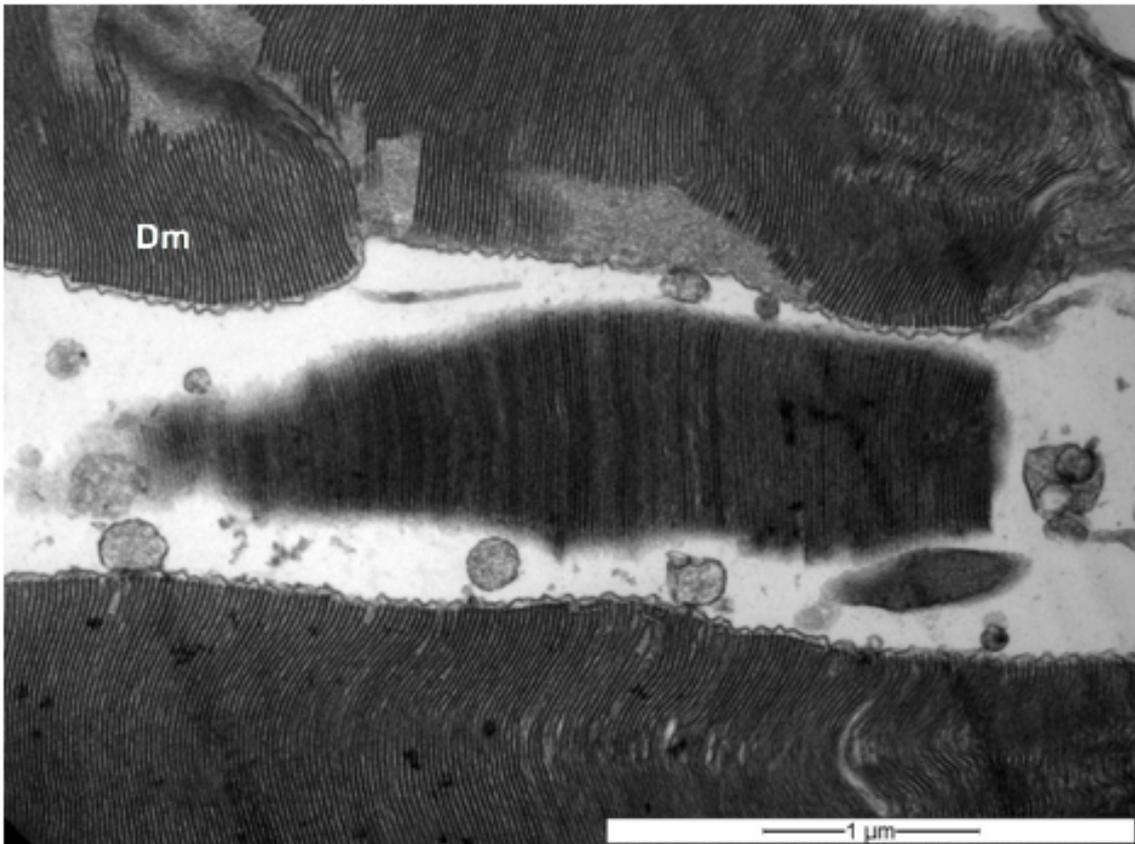


Abbildung 18: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Die Außensegmente der Photorezeptoren. Die Discusmembran (Dm) weisen typische Schleifenbildung auf und sind von der Zellmembran abgegrenzt. Vergrößerung 20.000.

Eine gelockerte Struktur der Mitochondrien bei der Netzhaut nach der Einwirkung mit 0,3%igem PVP-I konnte identifiziert werden (Abb. 19). Die Doppelmembrane der Mitochondrien konnten erkannt werden. Ferner wurden andere zytoplasmatische Bestandteile wie Vesikel im Apex der Innensegmente abgebildet. In der Abbildung ist zu erkennen, dass das Innensegment über das Cilium mit dem Außensegment verbunden ist. Die Lockerung der Struktur im Vergleich zu strukturell unauffälligen Mitochondrien eines Zapfens in der Netzhaut nach der Anwendung des 0,0375%igen PVP-I (Abb. 20) war also hinweisgebend für eine strukturelle Veränderung bei steigender Konzentration.

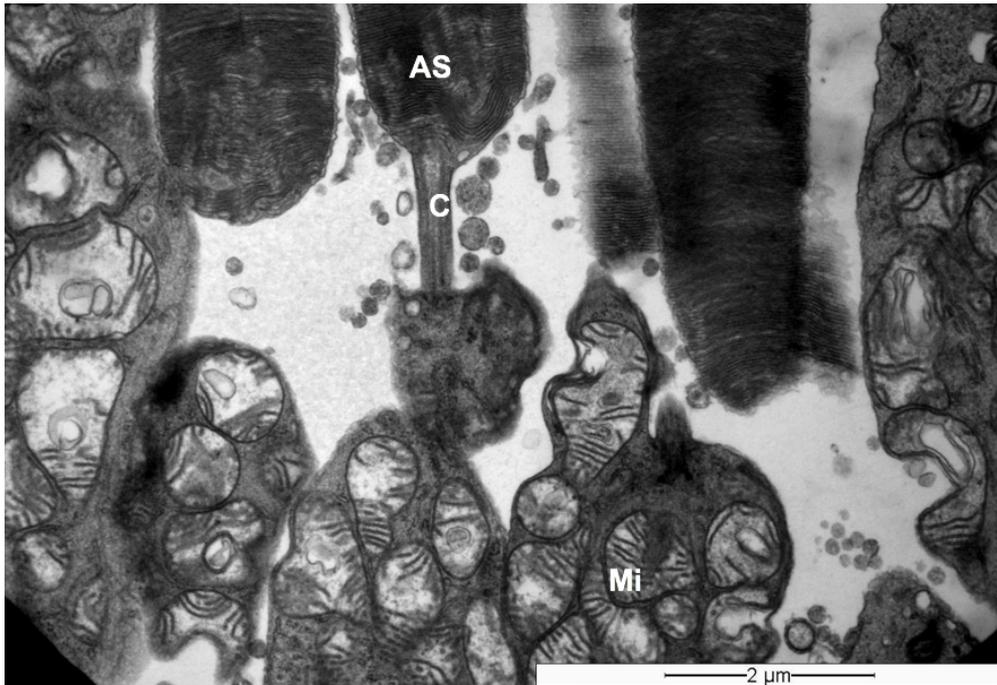


Abbildung 19: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Außen (AS)- und Innensegment (IS) eines Stäbchens, verbunden über ein Cilium (C). Mitochondrien (Mi) in den Innensegmenten (IS) weisen gelockerte Struktur auf. Vergrößerung 12.000.

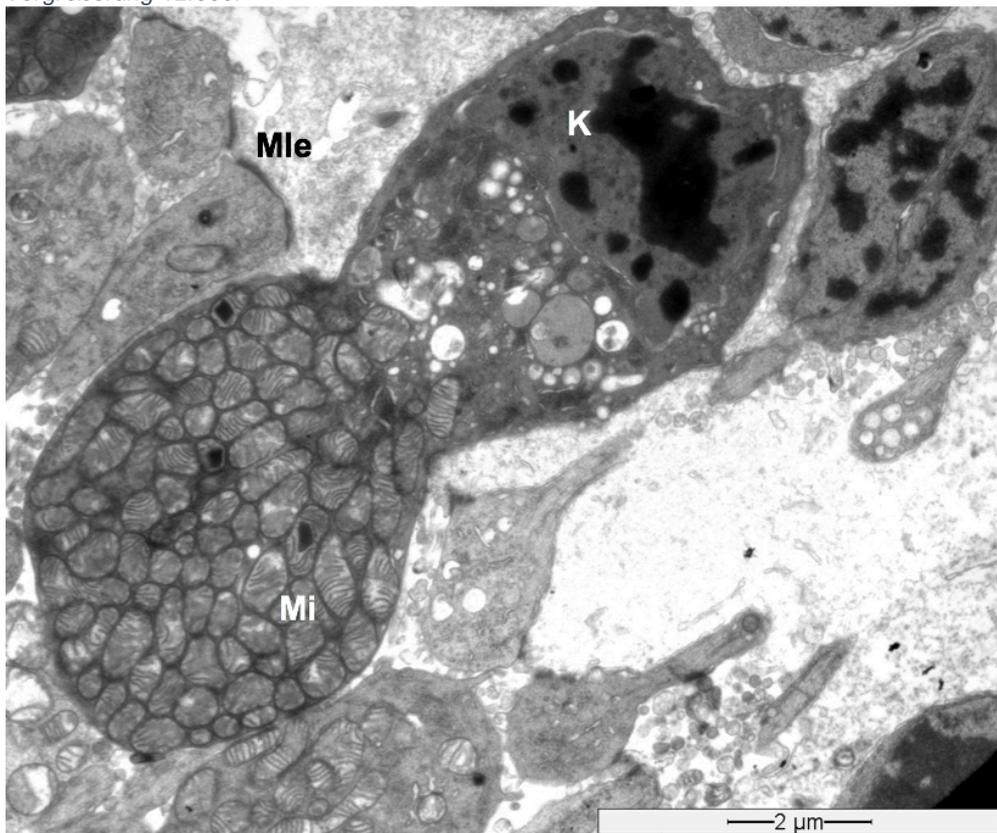


Abbildung 20: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Innensegment eines Zapfens mit reichlich Mitochondrien (Mi). Übergang zur äußeren Körnerschicht, wo der Zellkern (K) liegt. Membrana limitans externa (Mle) zu erkennen. Vergrößerung 7.000.

Lichtmikroskopisch wurden wie oben beschrieben territorial hellere Stellen identifiziert, die weniger kompakt und strukturiert, deswegen suggestiv mehr geschädigt erschienen. Im Wechsel dazu konnten in dunkleren Stellen kompaktere, besser geordnete Zellen erkannt werden. In den elektronenmikroskopischen Aufnahmen ließ sich eine solche territoriale Aufhellung und der Strukturverlust, gefolgt von dunkleren Stellen, in Übersichtsdarstellungen reproduzieren. In höheren Vergrößerungen jedoch wurden eher einzelne dunkle Zellen identifiziert, als ganze Areale (Abb. 21).

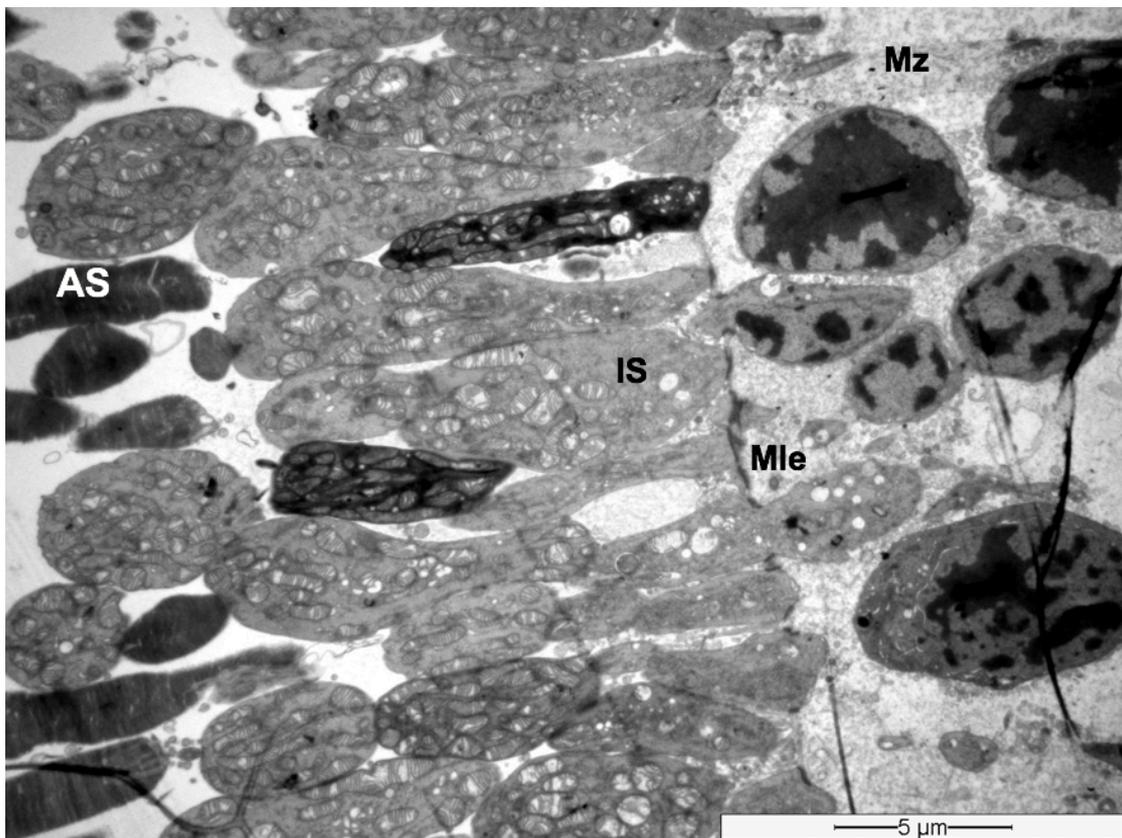


Abbildung 21: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Innen(IS)- und Außensegmente (AS) der Photorezeptoren. Membrana limitans externa (Mle), Müllerzelle (Mz). Auffällige Dunkelfärbung einzelner Zellen. Vergrößerung 3.000.

Solche einzelnen dunklen Zellen ließen sich sowie in den dunkleren als auch in den helleren Arealen finden. Teilweise erschienen sie, eventuell aufgrund des höheren Kontrastes, strukturell besser erhalten als benachbarte hellere Zellen. Die Elektronendichte war in den Innensegmenten am deutlichsten ausgeprägt, wie man exemplarisch in der Abb. 21 sehen kann. Man konnte aber erkennen, dass das Innensegment des Zapfens mit dem

Übergang zur inneren Körnerschicht auch dunkler gefärbt war als die umliegenden Photorezeptoren, also, dass die Dunkelfärbung die ganze Photorezeptorzelle betraf (Abb. 20).

In einer höheren Vergrößerung zeigte sich die *Membrana limitans externa*, die als Zellverbindung in Form von *Zonulae adhaerentes* zwischen den Innensegmenten der Photorezeptoren und den Müller-Zellen den Eindruck einer Membran macht (Abb. 22). Hierbei waren die Zellgrenzen und die Verbindungen in Form elektronendichterer Stellen erkennbar. Auffällig war, dass auch hier die Innensegmente unterschiedlich elektronendicht waren. Ferner abgebildet wurde ein Zellkern eines Stäbchens.

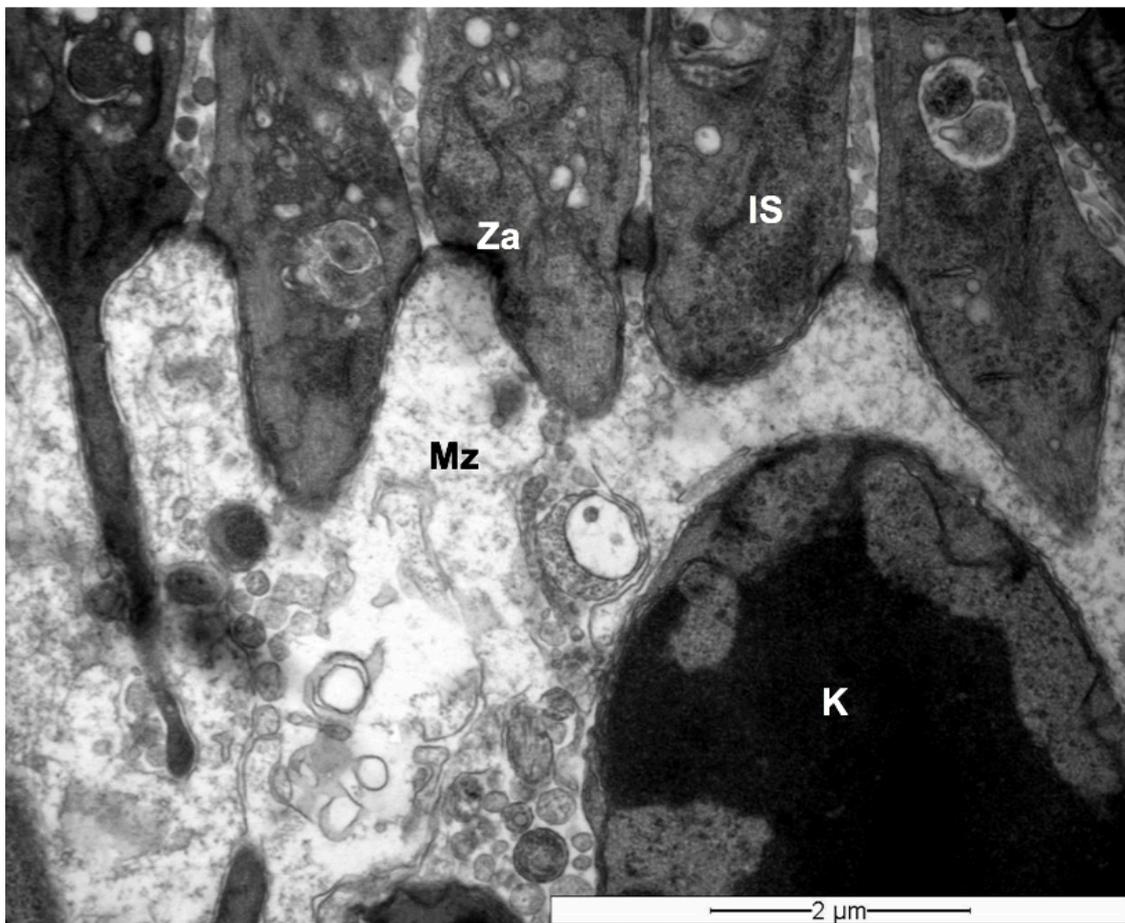


Abbildung 22: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Äußere limitierende Membran. Innensegmente (IS) der Photorezeptoren, Müllerzellen (Mz) und sie verbindende Zonulae adhaerentes (Za), Zellkern (K) eines Stäbchens. Vergrößerung 12.000.

In den inneren Schichten der Netzhaut waren retinale Gefäße variabler Größe zu finden (Abb. 23, Abb. 24). Endoluminal sind die Gefäße von Endothelzellen und nach außen von Perizyten ausgekleidet. Im Lumen konnte man Erythrozyten erkennen. Auffällig waren luminal fingerförmige Ausläufer der Endothelzellen, die in das Lumen des Gefäßes hineinragen (Abb. 23, Pfeil). In Abb. 24 wurde außerdem ein Kern der Endothelzelle angeschnitten, die Perizyten schienen das Gefäß in mehreren Schichten zu umgeben. Der Vergleich erweckt den Eindruck, dass die Fingerformationen bei der mit 0,3 %igem PVP-I behandelten Netzhaut (Abb. 23) deutlicher ausgeprägt waren als bei der niedrigeren Konzentration (Abb. 24).

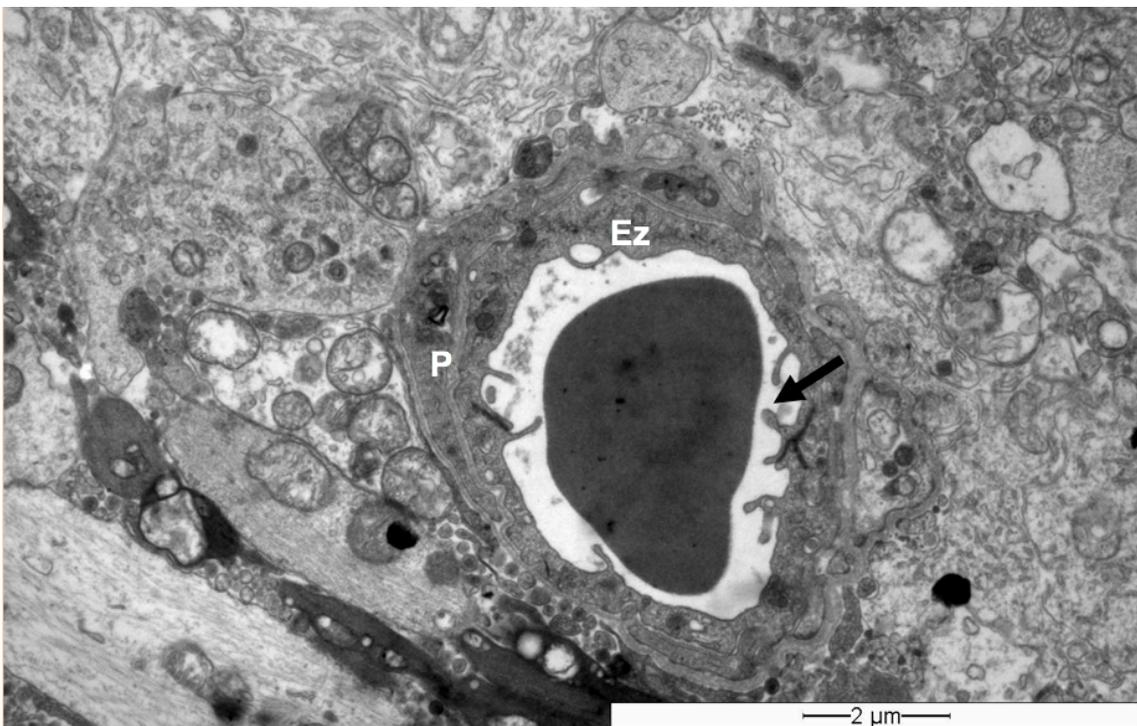


Abbildung 23: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Retinales Gefäß mit Erythrozyt im Lumen. Luminal einragende Ausläufer (Pfeil) der Endothelzellen (Ez), Perizyten (P). Vergrößerung 7.000.



Abbildung 24: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,0375%igem PVP-I. Retinales Gefäß mit Erythrozyten im Lumen. Kern einer Endothelzelle (KEz) angeschnitten. Vereinzelte Ausläufer (Pfeil) der Endothelzellen luminal, Perizyten (P). Vergrößerung 4.400.

Die in den lichtmikroskopischen Bildern (siehe oben) imponierende breite Schicht der nervenfaserartigen Strukturen bestätigte elektronenmikroskopisch ein Muster aus unterschiedlich elektronendichtem Nervengewebe (Abb. 25). Die Nervenfasern waren parallel angeordnet, gut strukturiert und nicht myelinisiert. In den Zellen waren Mitochondrien, ein Nukleus und ein endoplasmatisches Retikulum zu erkennen. Umliegend waren zahlreiche Vesikel sichtbar.

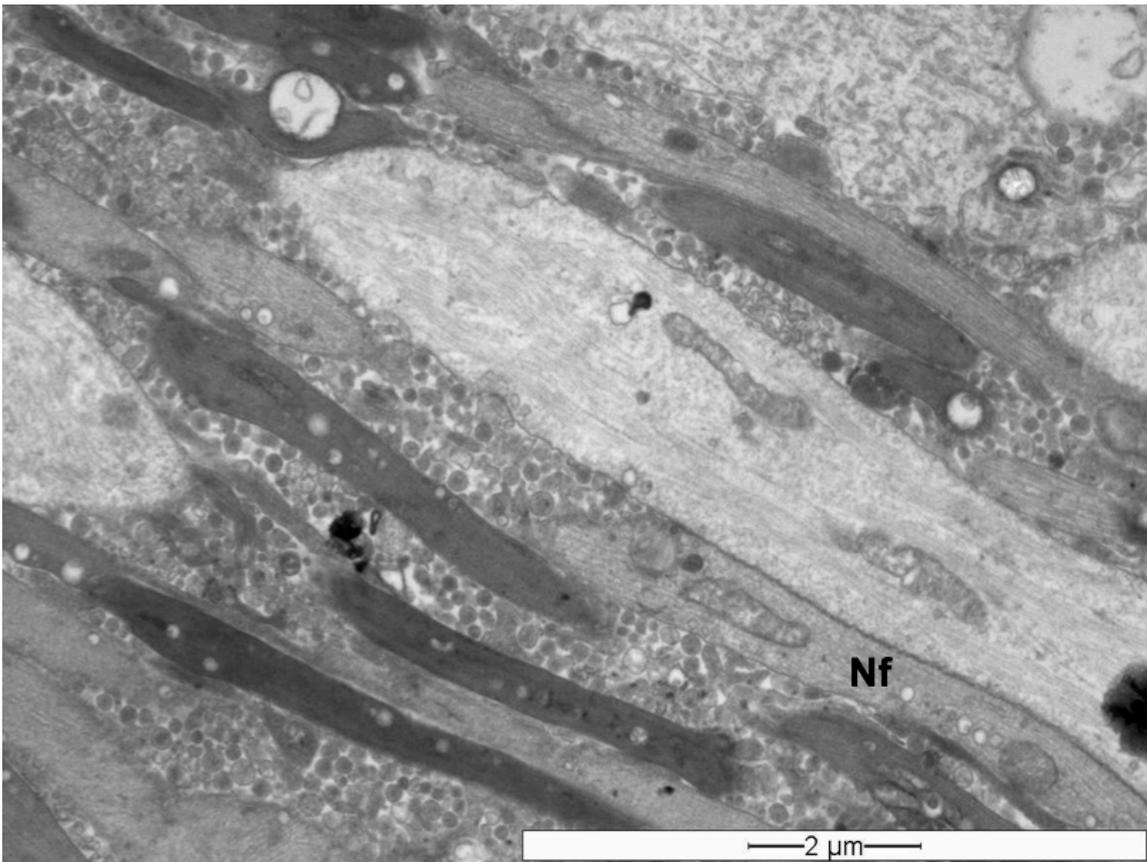


Abbildung 25: Rindernetzhaut nach 45-minütiger Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Nervenfasern (Nf) zwischen der Inneren plexiformen Schicht und der Ganglienzellschicht. Vergrößerung 7.000.

3.3 Interpretation der Ergebnisse

Es wurden für jede der fünf getesteten Konzentrationen (0,0375 %, 0,025 %, 0,0125 %, 0,01 %, 0,0075 %) jeweils 10 ERG-Versuche durchgeführt, von denen jeweils zur eine Hälfte a- und b-Wellen aufgenommen wurden. Es konnte eine Tendenz beobachtet werden, dass die b-Wellen bereits bei einer geringeren PVP-I-Konzentration von 0,0125 % ($p=0,018^*$) einen signifikanten Rückgang der Amplitude aufwiesen (siehe Abb. 26). Die Amplituden der a-Wellen hingegen zeigten erst in einer deutlich höheren Konzentration von 0,0375 % ($p=0,043^*$) einen signifikanten Abfall (siehe Abb. 27). Insgesamt war der maximale Rückgang bei b-Wellen quantitativ höher (um 73,85 %) als bei a-Wellen (34,5 %).

Über den Verlauf der Auswaschzeit konnte man bei den a-Wellen eine Tendenz zur Regeneration erkennen. Bei den Konzentrationen 0,0125 %

($p=0,022^*$), 0,025 % ($p=0,008^*$), und 0,0375 % ($p=0,013^*$), wurde ein statistisch signifikanter Abfall der durchschnittlichen Amplituden direkt nach der Testzeit registriert, davon war der Rückgang am Ende der Auswaschzeit nur bei der Konzentration 0,0375 % ($p=0,043^*$) weiterhin statistisch signifikant. Ein gegenteiliger Effekt konnte bei den b-Wellen beobachtet werden. Bei den Konzentrationen 0,0125 % ($p=8,416 \times 10^{-6^*}$), 0,025 % ($p=0,02^*$) und 0,0375 % ($p=0,002^*$) wurde ein statistisch signifikanter initialer Rückgang registriert, der bei allen drei Konzentrationen signifikant blieb (respektive $p=0,018^*$, $p=0,0008^*$, $p=9,07 \times 10^{-6^*}$).

Der Effekt des PVP-I folgte bei der b-Welle einem systematischen Muster (Abb. 26). Nach einem initialen teils signifikanten Abfall (0,0125 % bei $p=8,4 \times 10^{-6^*}$; 0,025 % bei $p=0,02^*$; 0,0375 % bei $p=0,02^*$) folgte ein geringer Anstieg der Amplitude im Verlauf der Auswaschzeit. Am Ende der Auswaschzeit konnte unter Einwirkungen aller Konzentrationen ein Rückgang der Amplitude registriert werden, der bei den Konzentrationen 0,0375 %, ($p=9,07 \times 10^{-6^*}$), 0,025 % ($p=0,0008^*$) und 0,0125 % ($p=0,018^*$) statistisch gesichert war und bei den Konzentrationen 0,0075 % ($p=0,25$) und 0,01 % ($p=0,36$) nicht relevant war. Auffällig war der signifikante Anstieg der Amplituden bei der Konzentration 0,025 % in der 90. Minute, der gegenüber dem initialen Abfall (75. Minute)

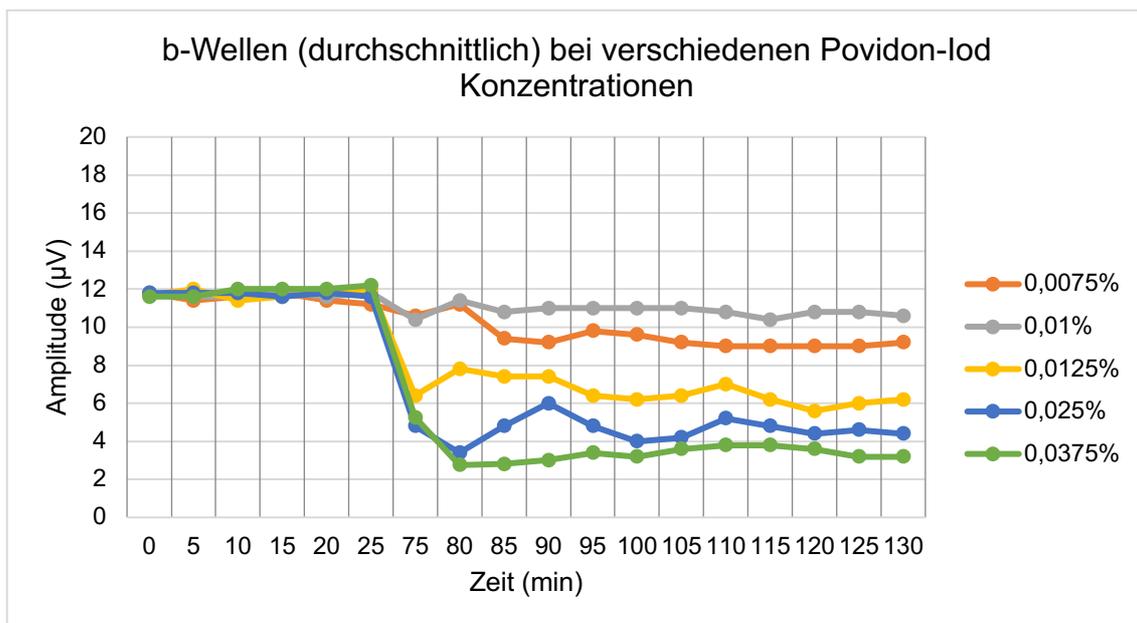


Abbildung 26: b-Wellen (durchschnittlich) bei verschiedenen PVP-I Konzentrationen.

statistisch allerdings nicht signifikant war ($p=0,48$). Im weiteren Verlauf der Auswaschzeit kam es in dieser Versuchsgruppe zu einem statistisch gesicherten Rückgang der Amplitude um insgesamt 62,1 % im Vergleich zum Ausgangswert ($p=0,0008^*$).

Der Effekt des PVP-I auf die Amplituden der a-Wellen war heterogener (Abb. 27). Nach einem initialen Abfall in der 75. Minute (signifikant bei 0,025 % ($p=0,008^*$); 0,0375 % ($p=0,01^*$) und bei 0,0125 % ($p=0,02^*$), nicht signifikant bei 0,0075 % ($p=0,8$); 0,01 % ($p=0,44$)) kam es in allen Konzentrationen zu einem Anstieg der Amplitude. Am Ende der Auswaschzeit war der Rückgang der Amplitude nur bei der Konzentration 0,0375 % (Abfall um 32,6 % ($p=0,043^*$)) statistisch relevant. Anzumerken ist, dass die Konzentration 0,025 % einen sogar niederen Wert am Ende der Auswaschzeit erreichte (Abfall um 34,5 % ($p=0,056$)), war aber aufgrund von höherer Standardabweichung statistisch nicht verwertbar. Ins Auge springt die Verlaufskurve der Konzentration 0,0375 %, die einen statistisch nicht gesicherten Anstieg ($p=0,1$) in der 85. Minute gegenüber im Vergleich zur 75. Minute zeigte. Am Ende der Auswaschzeit nahm die Kurve dennoch so stark ab, dass dies der einzige signifikante Rückgang unter allen Konzentration war.

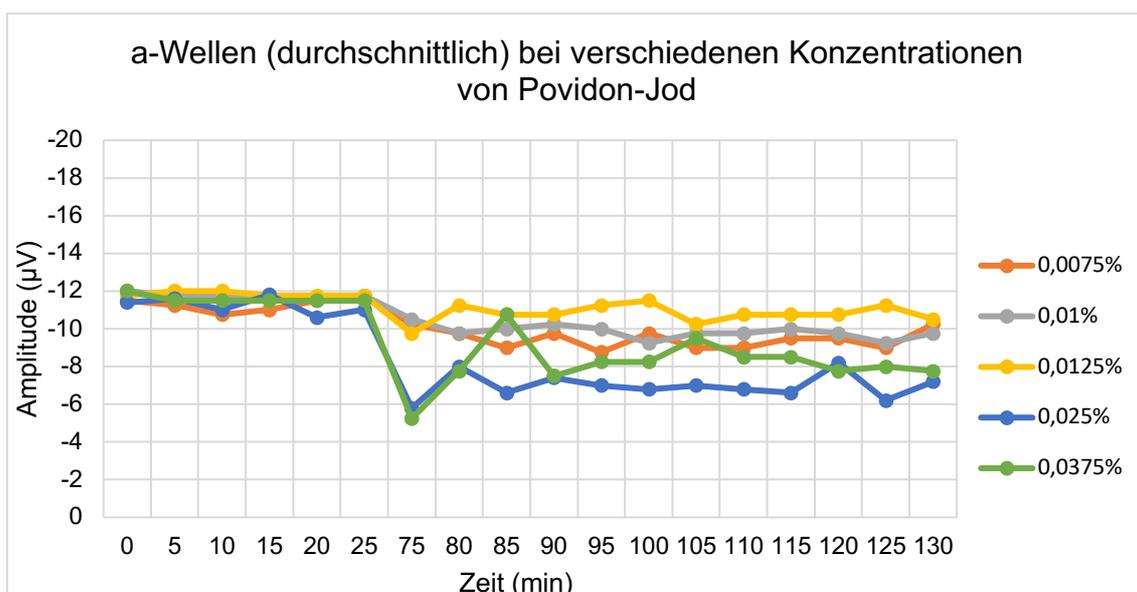


Abbildung 27: a-Wellen (durchschnittlich) bei verschiedenen PVP-I Konzentrationen.

Die graphische Darstellung der Antwort der a- und b-Wellen (Abb. 26 und 27) ließ über einen möglichen linearen Zusammenhang zwischen steigender Konzentration des PVP-I und Amplitudenveränderung nachdenken. Mittels Regression konnte dieser Zusammenhang für die b-Welle ($R^2 = 0,78$) und für die a-Welle ($R^2 = 0,72$) ausreichend belegt werden (Abb. 28 und Abb. 29).

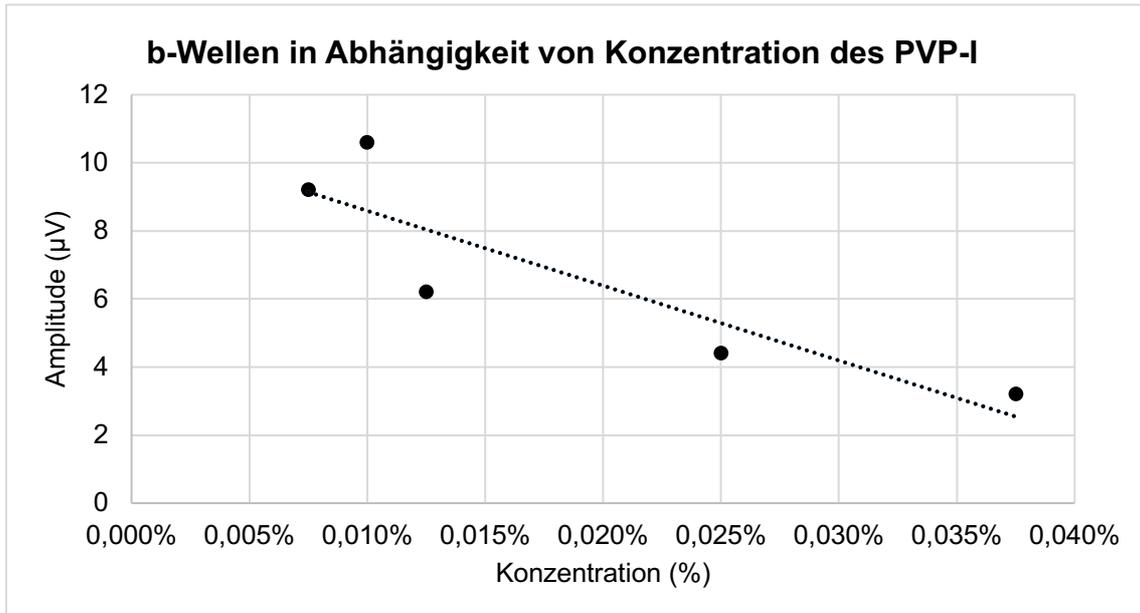


Abbildung 28: b-Wellen-Antwort in Abhängigkeit von Konzentration des PVP-I.

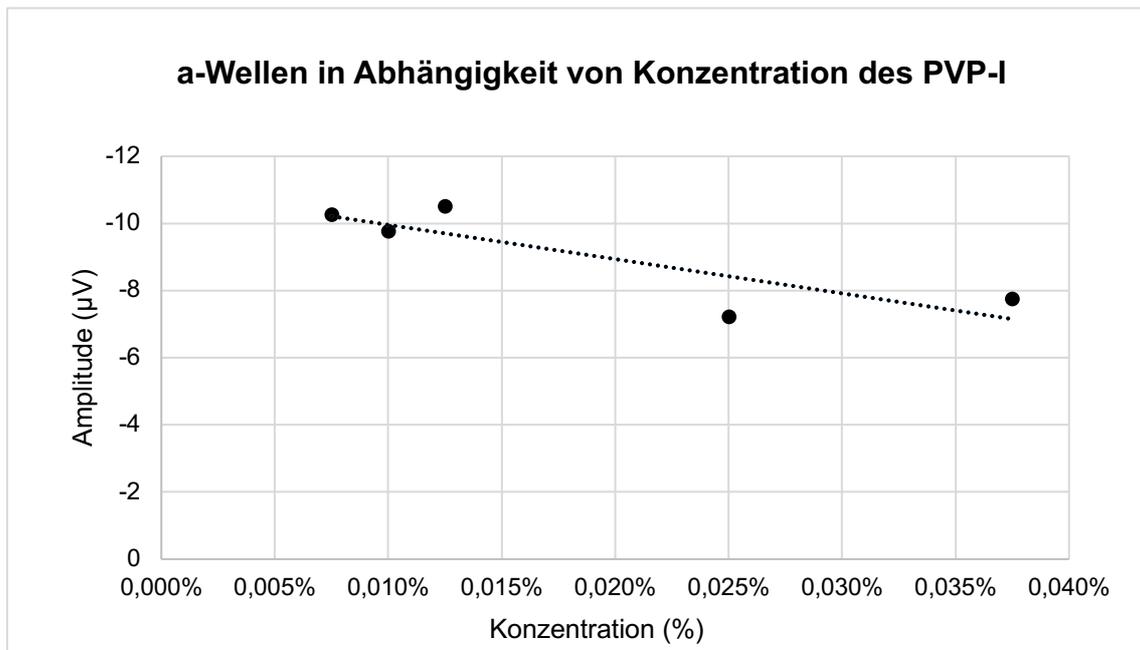


Abbildung 29: a-Wellen-Antwort in Abhängigkeit von Konzentration des PVP-I.

Unter Berücksichtigung der statistischen Relevanz der ERG-Veränderungen unter Einwirkungen von getesteten PVP-I Konzentrationen, 0,01 % war die höchste Konzentration, die keinen statistisch relevanten Rückgang im ERG zeigte. Der statistisch insignifikante Abfall der durchschnittlichen Amplituden um 10,2 % bei der b-Welle und um 17 % bei der a-Welle könnten mit Messschwankungen aufgrund der Spezifität des *ex vivo* Gewebes zusammenhängen. Die 45-minütige Exposition mit 0,01%igem PVP-I lieferte demnach keine eindeutigen Hinweise eines schädlichen Effektes.

In den licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen konnten bei beiden getesteten Konzentrationen auffällige Strukturmerkmale identifiziert werden. In den lichtmikroskopischen Aufnahmen waren in beiden getesteten Konzentrationen von 0,3 % und 0,0375 % ein Wechsel zwischen aufgehellten und dunkleren Arealen zu finden. Die dunkleren Areale schienen gleichzeitig besser erhalten und strukturierter zu sein. Nach Einwirkung beider Konzentrationen waren in der Netzhaut defekte Zellen zu finden, besonders ausgeprägt in der Netzhaut nach Exposition mit 0,3%igem PVP-I. Hierbei wurde eine säulenartige Struktur in der Ganglienzellschicht aufgenommen, die aufgrund fehlender Ganglienzellen entstanden war. Auffällig war in den licht- und elektronenmikroskopischen Aufnahmen eine breite Nervenfaserschicht bei der Netzhaut nach Exposition mit 0,3%igem PVP-I, die kein Korrelat bei der Netzhaut nach Exposition mit 0,0375%igem PVP-I hatte.

Elektronenmikroskopisch wurde die typische Struktur der Photorezeptoren aufgezeichnet. In den Innensegmenten wurden Mitochondrien aufgenommen, die bei der Exposition mit 0,3 %igem PVP-I eine Auflockerung der Struktur zeigten. Im Vergleich dazu erschienen die Mitochondrien bei Einwirkung von 0,0375%igem PVP-I gut erhalten. Bei beiden getesteten Konzentrationen konnten einzelne, besonders elektronendichte Photorezeptoren aufgenommen werden. Die Verteilung dieser Zellen war von ihrer Lokalisation in den lichtmikroskopisch bezeichneten dunkleren oder helleren Arealen unabhängig. Ein weiteres strukturelles Merkmal, welches in den Netzhäuten beider PVP-I Konzentrationen aufgetreten war, waren fingerförmige luminale Ausläufer der Endothelzellen in den Gefäßen.

4 Diskussion

4.1 Die intravitreale Verträglichkeit des Povidon-Iods

Die in dem Modell der isolierten und perfundierten Retina im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Expositionsversuche der Rindernetzhaut mit PVP-I bildeten einen intraoperativen Einsatz einer mikrobizid wirksamen Spüllösung mit dem Zusatz von PVP-I nach. Eine intravitreale Spüllösung BSS Plus mit PVP-I wurde in einer klinischen Studie mit 4 Endophthalmitis-Fällen bereits getestet. Vier Erkrankte (n=4) bekamen im Rahmen der Standardbehandlung eine ppV, bei der eine 0,025%ige PVP-I-Spüllösung eingesetzt wurde. In 3/4 der Fälle war der Erregernachweis vor dem Eingriff negativ. In einem Fall jedoch wurden die KNS vor der ppV, aber nicht nach der ppV nachgewiesen. Im Follow-up wurden in dieser Studie keine objektivierbaren Untersuchungen durchgeführt, klinisch ließ sich allerdings keine auf das PVP-I zurückführende schädliche Wirkung beobachten (Nakashizuka, Shimada et al. 2015). Diese Ergebnisse gaben den Impuls, in der vorliegenden Arbeit die Konzentration 0,025 % unter standardisierten, kontrollierten Bedingungen an der Rindernetzhaut zu testen. Hierbei zeigte sich im ERG jedoch ein Rückgang der b-Welle, während die a-Welle stabil ableitbar blieb. Dieses Ergebnis ließ also eine Schädigung der inneren Netzhaut nicht ausschließen.

Auch in einer Reihe von weiteren Studien wurden ähnliche Konzentrationen des PVP-I als verträglich gezeigt, wenn sie als intravitreale Injektionen in Kaninchenaugen verabreicht wurden. So zeigten intravitreale Konzentrationen von 0,02 %¹ (Kim, Cao et al. 2015) und 0,027 %² (Trost, Kivilcim et al. 2007) keine relevanten ERG-Änderungen und 0,03% verursachte nur bei einem Auge (n=10) einen leichten Rückgang um 22 % des ERG-Signals (Whitacre und Crockett 1990). Erst eine intravitreale Konzentration von 0,3 % zeigte einen sofortigen Rückgang der a-Welle um 73 % und der b-Welle um 78 % in der ERG. Klinisch manifestierte sich hierbei eine rasche Iritis und

¹ In der Studie als 0,1 ml des 0,3%igen PVP-I verabreicht, was in einem Volumen von 1,5 ml des Glaskörpers eines Kaninchenauges die intravitreale Konzentration von 0,02 % ergibt.

² In der Studie als Injektion von 400 µg verabreicht.

Kataraktbildung in allen getesteten (n=4) Kaninchenaugen (Whitacre und Crockett 1990). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit mit dem Modell der isolierten und perfundierten Rindernetzhaut bestätigten solche Ergebnisse jedoch nicht.

Nicht nur die Konzentrationen 0,0375 % und (wie oben dargestellt) 0,025 %, sondern auch die Konzentration 0,0125 % verursachte in dieser Arbeit signifikante ERG-Veränderungen. Die getrennte Auswertung von a- und b-Wellen zeigte auf, dass die b-Welle von den Konzentrationen 0,025 % und 0,0125 % bereits beeinträchtigt wurde, während die a-Welle unter der gleichen Exposition weiterhin stabil ableitbar war. Dies ließ also einen schädlichen Effekt des PVP-I in der inneren Netzhaut bei diesen Konzentrationen vermuten. Die Konzentrationen 0,01 % und 0,0075 % zeigten hingegen keine relevanten Veränderungen bei den Amplituden weder der a-, noch der b-Wellen im ERG, was schlussfolgern ließ, dass sie keinen schädlichen Effekt auf die Rindernetzhaut hatten. Die Konzentration von 0,01 % war also die höchste der getesteten Konzentrationen, die keine relevanten ERG-Veränderungen an der a- oder b-Welle verursachte. Genau diese Konzentration wurde bisher in keiner der Studien getestet. Mit den in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnissen sind Daten von noch niedrigeren Konzentrationen plausibel vereinbar, wie die gute Verträglichkeit bei 0,00675 % (Kim, Cao et al. 2015) oder 0,003%igem PVP-I (Whitacre und Crockett 1990). Das sensitivere Ergebnis der Verträglichkeitsuntersuchungen im Vergleich zu bisher bekannten Daten kann mit dem Aufbau der Versuche erklärt werden.

In dem Modell der isolierten und perfundierten Retina bestand die Möglichkeit, Bedingungen zu kontrollieren, während sie in einem Tierversuch oft nicht so einfach beeinflusst werden konnten. Zum Beispiel, wurde in diesem Modell ein direkter Kontakt zwischen der Spüllösung und der Netzhaut gewährleistet, was die Kontrolle über Expositionszeit sowie über die konstante Konzentration an der Netzhautoberfläche ermöglichte. Wenn jedoch in den Tierversuchen das PVP-I intravitreal injiziert wurde, musste die verabreichte Menge sich erst im Glaskörper gleichmäßig verteilen, um Kontakt zu der Netzhaut in der jeweils gewünschten Konzentration zu bekommen. Ferner

konnten in dieser Arbeit ERG-Messungen mehrmals über eine Zeitspanne hinweg erfolgen, wohingegen sie in Tierversuchen über eine kürzere Zeit - eventuell als Momentaufnahme - aufgenommen worden sind. Anschließend erfolgte außerdem ein Austausch der Testlösung gegen eine Spüllösung und reversible Veränderungen durch das PVP-I konnten aufgenommen werden, was in den Tierversuchen ebenfalls nicht möglich war.

Die Versuche im Modell der isolierten und perfundierten Netzhaut wurden darüber hinaus so konzipiert, dass sie möglichst der klinischen Anwendung entsprechen würden. Um die Testlösungen mit PVP-I herzustellen, wurde die Sickel-Lösung benutzt, die chemisch mit den üblichen intravitreal angewendeten Lösungen, wie z.B. BSS Plus, vergleichbar ist.³ Des Weiteren wurde eine Testzeit von 45 min gewählt, da sie in etwa der Dauer einer ppV entspricht. Das Modell ermöglichte es, die retinale Antwort auf die Exposition mit der Testlösung in Echtzeit aufzunehmen. Nach 45 min wurde die PVP-I Spüllösung gegen die Nährlösung ausgetauscht. Es handelt sich hierbei also um Kurzzeit-Daten, die also den intraoperativen Einsatz theoretisch für die Dauer des Eingriffes beschränken. Ferner würde in der klinischen Anwendung die Oxygenierung der Spüllösung entfallen, die in diesem Experimentenaufbau notwendig war, um die *ex vivo* Retina mit Sauerstoff zu versorgen. Aufgrund dieser Eigenschaften sind in diesem Set-up gewonnene Ergebnisse für den klinischen Einsatz einer solchen PVP-I Spüllösung besonders wertvoll.

³ BSS Plus: NaCl, KCl, MgCl₂ + 6H₂O, CaCl₂ + 2H₂O, Na₂HPO₄, Na₂CO₃, Dextrose, Glutathion-Disulfid. Alcon Laboratories Inc. (2003). "BSS PLUS sterile intraocular irrigation solution." Zugegriffen am: 29.03.2017, in: http://ecatalog.alcon.com/pi/BSSplus250_us_en.pdf. Sickel-Lösung: NaCl, KCl, MgCl₂ + 6H₂O, CaCl₂ + 2H₂O, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, Glucose. Siehe „2.2 Versuchsaufbau“.

4.2 Mikroskopische Beurteilung der Rindernetzhäute nach Exposition mit Povidon-Iod

Die Verträglichkeit von zwei PVP-I- Konzentrationen wurde ferner in einer elektronen- und lichtmikroskopischen Untersuchung der entsprechend exponierten Rindernetzhäute getestet. Zum einen, wurde die 0,0375%ige Lösung, die in den elektrophysiologischen Versuchen den höchsten signifikanten Rückgang der a- und b-Wellen bereits gezeigt hatte, getestet. Zum anderen aber, eine fast zehnfache Konzentration (0,3 %), deren morphologischer Schaden an der Kaninchennetzhaut bereits beschrieben ist, damit sie als Referenz dienen könnte.

Der schädliche Effekt von 0,3%igem PVP-I auf die Netzhaut eines Kaninchens wurde in Form von einem Ödem der Nervenfasern, der Ganglienzellschicht sowie der inneren plexiformen Schicht, in der unter anderem die Dendriten der Ganglienzellen lokalisiert sind, beschrieben. 7 und 28 Tage nach der Exposition wurde eine Nekrose aller Schichten histologisch festgestellt (Whitacre und Crockett 1990). Ein solches Ergebnis wurde in den Aufnahmen der Rindernetzhaut nach der Anwendung des 0,3%igen PVP-I reproduziert, wobei elektronen- und lichtmikroskopisch ein deutlicher Verlust der Ganglienzellen sowie eine säulenartige Struktur der Ganglienzellschicht gezeigt wurden. Diese säulenartige Struktur wies eine besondere optische Ähnlichkeit zu den Aufnahmen der defekten Zellen in der Ganglienzellschicht der oben genannten Studie auf (Whitacre und Crockett 1990). Ganglienzellen, die in einer gesunden Netzhaut als Zellen mit rundem, exzentrischen Kern und reichlich Zytoplasma (Aly 2003) sowie variabler Größe je nach Lokalisation in der Netzhaut (Hebel und Hollander 1979) beschrieben wurden, waren in dieser Schicht kaum auffindbar.

Nach der Exposition mit 0,3%igem PVP-I wurde in dieser Arbeit eine aufgelockerte Struktur der Mitochondrien in den Innensegmenten der Photorezeptoren beobachtet. Defekte Stellen in verschiedenen anderen Schichten der Netzhaut konnten bei dieser Konzentration ebenfalls festgestellt werden. Für eine Identifikation des geschädigten Zelltyps wäre hierbei allerdings eine immunhistochemische Bestimmung notwendig, die im Rahmen

dieser Arbeit nicht ausgeführt wurde. Vergleichbare Feststellungen wurden im Rahmen einer Studie veröffentlicht, die viel niedriger konzentrierte, 0,01% und 0,05%ige Lösungen des PVP-I einsetzte, dies jedoch nicht an der Netzhaut, sondern am Gehirn der Kaninchen testete. Lichtmikroskopisch wurden dabei irreguläre, teils degenerierte und depolarisierte Kortex-Zellen aufgenommen. Es wurde über eine vermehrt auftretende Apoptose und eine geringere Zellzahl berichtet. Elektronenmikroskopisch wurden Anschwellungen der Mitochondrien und des Zytoplasmas, eine reduzierte Zahl der Organellen, vermehrte Vakuolen sowie eine Kernpyknose aufgenommen (Li, Wang et al. 2015). Die festgehaltenen degenerativen Veränderungen an der Rindernetzhaut nach Exposition mit 0,3%igem PVP-I waren also vergleichbar mit denjenigen Schädigungen niederer Konzentrationen am anderen neuronalen Gewebe.

Ferner wies die in dieser Arbeit getestete Netzhaut nach der Anwendung der 0,3%igen PVP-I-Spüllösung eine auffällige Schichtung auf. Eine Nervenfaserschicht zwischen der inneren plexiformen Schicht und der Ganglienzellschicht wurde aufgenommen. Eine solche Nervenfaserschicht, bestehend aus nichtmyelinisierten Axonen der Ganglienzellen, wird in einer gesunden Rindernetzhaut weiter vitreal, d.h. auf der anderen Seite der Ganglienzellschicht als in diesen Aufnahmen, beschrieben (Aly 2003). Die sehr geordnete Richtung der Nervenfasern ist für alle anderen Zellen (amakrine, Bipolar- und Ganglienzellen), die in der inneren plexiformen Schicht ihre Fortsätze haben, eher untypisch. Die Ausrichtung der Nervenfasern ließ annehmen, dass es sich um einen Anschnitt der Papille oder der nah gelegenen Fasern des Nervus Opticus handeln könnte.

Auffällig bei beiden getesteten Konzentrationen (0,0375 % und 0,3 %) waren lichtmikroskopisch aufgenommene hellere und dunklere Areale, die sich auch in ihrer Struktur unterscheiden haben. Solche Beobachtung wurde in anderen Studien allerdings weder unter toxischer Wirkung des PVP-I (Whitacre und Crockett 1990) noch in unauffälligen Befunden (Trost, Kivilcim et al. 2007, Brozou, Karabatakis et al. 2009) beschrieben. Eine Deutung als Artefakt konnte nicht ausgeschlossen werden. Elektronenmikroskopisch wurden hingegen gehäuft einzelne Photorezeptoren, die über ihre gesamte Länge

elektronendichter waren, aufgenommen. Diese elektronendichten Photorezeptoren waren sowohl in den bereits erwähnten lichtmikroskopisch dunkleren, als auch in den helleren Arealen zu finden. Eine Elektronendichtedifferenz ist nur als Unterscheidungsmerkmal der Stäbchen und Zapfen in ihren Außensegmenten oder Zellkernen bekannt (Mason, Fager et al. 1973) - deswegen war dieser Befund auffällig. Hervorzuheben ist, dass manche Strukturen aufgrund des höheren Kontrastes in den dunkleren Zellen besser erhalten schienen als in den umliegenden helleren Zellen. Nichtsdestotrotz war die Ursache dieses Elektronendichteunterschiedes unklar und könnte auch auf pathologische, vielleicht apoptotische Geschehnisse in den Zellen hindeuten. Dies wäre auch mit den Ergebnissen der Elektrophysiologie vereinbar, da die 0,0375%ige PVP-I-Spüllösung relevante Abnahmen der a- und b-Wellen verursachte.

Ebenfalls bei beiden getesteten Rindernetzhäuten (Exposition mit 0,0375 % und 0,3 %) konnten retinale Gefäße aufgenommen werden, die endoluminale Ausläufer der Endothelzellen zeigten. In der elektronenmikroskopischen Analyse der gesunden Rindernetzhaut sind solche Formationen nicht beschrieben (Aly 2003). Als Mikrovilli-artige Ausläufer sind elektronenmikroskopisch ähnliche Strukturen in „Labyrinth“-Kapillaren bei choroidaler Neovaskularisation humaner Netzhautproben beschrieben. Diese sind allerdings viel deutlicher ausgeprägt und füllen das Lumen der betroffenen Kapillaren ganz aus (Schraermeyer, Julien et al. 2015). Es blieb daher offen, ob die hier aufgenommenen Ausläuferformationen in den mit PVP-I getesteten Proben einen pathologischen Wert haben.

Die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung der Netzhäute reproduzierte also den bereits beschriebenen schädlichen Effekt von 0,3%igem PVP-I auf die Netzhaut. Die Konzentration von 0,0375 % wies zwar auch einige strukturelle Merkmale auf, diese konnten allerdings nicht eindeutig pathologisch dem Effekt von PVP-I zugeteilt werden. Eine territoriale Aufhellung und eine Ausläuferformation der Endothelzellen im Lumen der Blutgefäße wurden als morphologische Veränderungen im Zusammenhang zur Anwendung des PVP-I

bisher nicht beschrieben und konnten auch hierbei nicht in ihrer Genese geklärt werden.

Eine gute Verträglichkeit von PVP-I in niederen Konzentrationen wurde hingegen mit mikroskopischen Aufnahmen bereits in einigen Studien belegt. Intravitreale Konzentrationen von 0,027 % (Trost, Kivilcim et al. 2007), 0,02 % und 0,00675 %⁴ (Kim, Cao et al. 2015) des PVP-I haben lichtmikroskopisch an den Kaninchenretinazellen keine sichtbaren Schäden verursacht. Mit *S. epidermidis* infizierte und entzündete Kaninchenaugen zeigten nach einer Behandlung mit 0,013%igem⁵ PVP-I histologische Zeichen einer chronischen Entzündung, aber keine morphologischen Veränderungen, die auf die Anwendung des PVP-I zurückzuführen wären (Brozou, Karabatakis et al. 2009).

Diese Daten legen nahe, dass PVP-I-Konzentrationen bis 0,027 % keine morphologischen Schäden an der Netzhaut verursachen, die histologisch sichtbar wären. Die in dieser Arbeit getesteten Konzentration von 0,0375 % zeigte zwar einen schwächeren Effekt als die bekanntermaßen toxische Konzentration von 0,3 %. Die aufgenommenen Auffälligkeiten ließen die Konzentration von 0,0375 % dennoch nicht als unschädlich bezeichnen. Die Tatsache, dass die Netzhäute in einem Modell der isolierten und perfundierten Retina der Testsubstanz exponiert wurden, ließ gleichzeitig nicht ausschließen, dass solche morphologischen Veränderungen auch der entsprechenden Aufbereitung oder *post mortem* Zeit zuzuordnen sind.

4.3 Intravitreale Povidon-Iod-Spüllösungen als Maßnahme der initialen Endophthalmitis-Therapie

Aus mehreren Gründen ist der medizinische Einsatz des PVP-I vorteilhaft. Dieses einfach verfügbare Desinfektionsmittel hat einen Wirkmechanismus, der antibakterizid, antifungal und antiviral wirkt und keine Resistenzen aufweist (Houang, Gilmore et al. 1976). Diese Eigenschaften sind dem universellen Wirkmechanismus zu verdanken, der über die Oxidierung von

⁴ In der Studie als 0,1 ml des 0,1%igen PVP-I verabreicht, was in einem Volumen von 1,5 ml des Glaskörpers eines Kaninchenauges die intravitreale Konzentration von 0,00675 % ergibt.

⁵ In dieser Studie als 0,1 ml des 0,2%igen PVP-I verabreicht, was in einem Volumen von 1,5 ml des Glaskörpers eines Kaninchenauges die intravitreale Konzentration von 0,013 % ergibt.

Aminosäuren und ungesättigten Fettsäuren zu einer Zerstörung der räumlichen Strukturen von Mikroorganismen führt. Da hierbei jedoch keine freien Radikale entstehen, ist eine ausreichende Gewebeverträglichkeit gewährleistet, was auch in Zellkulturversuchen gezeigt wurde (Assadian 2008). Aufgrund dieser Vorteile wird das PVP-I immer öfters in verschiedenen Bereichen eingesetzt, die über das Wundmanagement hinausgehen. In der Augenheilkunde ist das PVP-I bereits bekannt für die Anwendung vor Operationen, IVIs oder Parazentesen zur Prophylaxe der Endophthalmitis (Ciulla, Starr et al. 2002, Buzard und Liapis 2004). 2,5%iges PVP-I wurde als Prophylaxe des *Ophthalmia neonatorum* etabliert, wobei das Iod in liposomalen und somit noch weniger toxischen Augentropfen verabreicht wird (Isenberg, Apt et al. 1994, Reimer, Fleischer et al. 1997). Auch therapeutisch ist PVP-I in der Augenheilkunde bereits einsetzbar. 0,4%ige Iod-Tropfen sind effektiv in der Therapie der adenoviralen Konjunktivitis (Pelletier, Stewart et al. 2009). 1,25%ige PVP-I-Tropfen können alternativ zur Antibiotika bei einer bakteriellen Keratitis angewandt werden (Isenberg, Apt et al. 2017).

Die Wirksamkeit des PVP-I bei intraokularen bakteriellen Entzündungen wurde in mehreren Tierversuchen untersucht. Intravitreale Konzentrationen 0,00675 % und 0,02 % wurden an symptomatischen, mit *S. epidermidis* infizierten Kaninchenaugen getestet, in dem das PVP-I entweder einmal oder wiederholt dreimal verabreicht wurden. Dabei zeigte sich, dass die Augen mit erfolgter wiederholter Gabe höhere Amplituden im ERG erreichten und die Netzhaut histologisch weniger geschädigt war als jene Augen, die nur eine einmalige Gabe erhielten. Bei der wiederholten Gabe wurden ferner keine Unterschiede bezüglich der Wirksamkeit zwischen den beiden Konzentrationen festgestellt (Kim, Cao et al. 2015). Dass jedoch die alleinige Gabe von 0,0675%igem PVP-I nicht wirksam war, bestätigte eine Studie, die das PVP-I in mit *S. epidermidis* infizierten Kaninchenaugen untersucht hat. Diese Injektionen konnten die Entstehung der Endophthalmitis nicht verhindern und alle mit *S. epidermidis* injizierte Augen entwickelten Symptome (Troost, Kivilcim et al. 2007). Diese Ergebnisse sind mit der Erkenntnis vereinbar, dass die Halbwertszeit des PVP-I *in vivo* ca. 3 Stunden beträgt (Kim, Cao et al. 2015)

Ferner wurde es gezeigt, dass die intravitreale Konzentration von 0,013 % (n=10) PVP-I eine deutliche Reduktion der Entzündung erreichte, während die Konzentration von 0,00675 % nur eine vorübergehende klinische Besserung erzielte. Darüber hinaus wurde nach zwei Monaten nur bei den mit 0,013%igem PVP-I behandelten Augen eine Keimfreiheit erzielt. Histologisch zeigte sich allerdings auch nach der Keimelimination eine chronische Entzündung der Netzhaut, deren Ursache ungeklärt blieb. Aufgrund der mikrobiziden Wirksamkeit des PVP-I empfahlen die Autoren, eine solche Injektion noch vor der üblichen Endophthalmitis-Therapie durchzuführen (Brozou, Karabatakis et al. 2009). Wie im Kapitel 4.1 bereits erläutert, verursachte eine vergleichbare Konzentration (0,0125 %) im Modell der isolierten und perfundierten Rindernetzhaut jedoch einen signifikanten Rückgang der b-Welle, was eine Schädigung der inneren Netzhaut vermuten ließ und sich daher nicht zur Anwendung eignen würde.

Grundsätzlich wurde in einer *in vitro* Effektivitätsstudie ein Phänomen des PVP-I aufgezeigt, dass die bakterizide Wirkung mit einer zunehmenden Verdünnung der Lösung steigt. Diese Ergebnisse belegten, dass 0,1%iges PVP-I genauso schnell bakterizid wirkte wie das 10%ige PVP-I. 0,01%iges PVP-I war je nach getestetem Präparat (Pharmadine, Betadine, Providine) nach 1 min oder 2 min Exposition bakterizid gegen *S. aureus* (Berkelman 1982). Die Anzahl des tatsächlich wirksamen Iods variiert jedoch in verschiedenen Lösungen. Dies hängt von der Zusammensetzung der Lösungen ab, da das Iod unterschiedlich aus dem PVP-I-Komplex freigesetzt wird (Houang, Gilmore et al. 1976). Daher ist es wichtig, die Wirksamkeit der PVP-I-Lösungen abhängig von der Lösungszusammensetzung zu betrachten. Nakashizuka et al. haben die bakterizide Wirkung gegen *S. aureus* des verdünnten PVP-I in den Spüllösungen BSS und BSS Plus *in vitro* getestet. Die Konzentrationen 0,1 % und 0,01 % zeigten eine effektive bakterizide Wirkung nach 15 s und nach 15 min Expositionszeit (Nakashizuka, Shimada et al. 2015). Diese *in vitro* Ergebnisse belegen demnach die Wirksamkeit der PVP-I Konzentration von 0,01 %, die in dieser Arbeit als nicht schädlich gezeigt wurde.

Die oben dargestellten *in vitro* und *in vivo* Ergebnisse würden nahelegen, dass das 0,01%ige PVP-I für die Netzhaut verträglich sowie mikrobizid effektiv wäre. Ferner ist es bekannt, dass Konzentrationen bis 0,05 % des PVP-I keinen schädlichen Effekt auf die kornealen Endothel-Zellen hatten (Naor, Savion et al. 2001). Eine 48-stündige Exposition einer Silikon-Intraokularlinse mit 0,01%igem PVP-I führte jedoch zur Trübung dieser Linse (Goel, Kolli et al. 2008). Zur Verträglichkeit anderer intraokularen Strukturen und PVP-I fehlen noch umfassende Daten.

Bisher gibt es allerdings kein einheitliches Protokoll für die Eignung eines antiseptischen Mittels für den therapeutischen Einsatz in der Augenheilkunde (Kramer und Werner 2002). Deswegen lassen sich die Ergebnisse dieser Arbeit sowie der oben genannten Studien nicht einfach zu einer gemeinsamen Schlussfolgerung bringen. Aufgrund der bereits langjährigen Erfahrung mit PVP-I in der Augenheilkunde allgemein und der positiven Ergebnisse bezüglich der 0,01%igen PVP-I-Spüllösung kann man dennoch resümieren, dass die Testung einer solchen intraoperativen Spüllösung in weiteren klinischen Studien sinnvoll und vertretbar wäre. Die Notwendigkeit der Erweiterung des jetzigen Therapiestandards um solche Maßnahme wird im Folgenden dargestellt.

4.4 Endophthalmitis-Therapiestandards: aktuelle Problematik

Für die Therapie einer postoperativen Endophthalmitis gilt es, die Erreger rasch aus dem hinteren Augenabschnitt zu beseitigen. Die dazu stehenden Mittel sind entweder eine Glaskörperbiopsie und IVI (EVS; Endophthalmitis Vitrectomy Study Group 1995) oder eine ppV mit intraokularer Antibiotika-Gabe; letzteres ist der internationale Standard (Barry 2013). Die ppV hat Vorteile im Endophthalmitis-Management, da nicht nur die Erreger, sondern auch Toxine und Entzündungsmediatoren schnell reduziert werden (Lemley und Han 2007).

Da die Antibiotikagabe eine der Therapiesäulen darstellt, hängt der Erfolg der Endophthalmitis-Behandlung stark davon ab, wie die Sensitivität der Erreger auf die empfohlenen Antibiotika Ceftazidim und Vancomycin ist. In einer umfassenden Studie wurde eine 100%ige Sensitivität gegenüber Vancomycin und Ceftazidim nachgewiesen (Moloney und Park 2014). Andere Studie zeigte

ebenfalls 100%ige Sensitivität der Erreger gegenüber Vancomycin, jedoch nur 51 % der Erreger waren sensitiv gegen Ceftazidim (Yannuzzi, Si et al. 2017). In einer indischen Studie waren 40,28 % der nachgewiesenen gramnegativen Erreger resistent gegen Ceftazidim (Dave, Pathengay et al. 2017b).

Grundsätzlich gibt es bereits einige Berichte über multiresistente *P. aeruginosa* postoperative Endophthalmitiden in Indien. Ein Fall nach ppV, bei dem sich eine Resistenz gegen Ceftazidim, Amikacin und andere Antibiotika zeigte, konnte mit Imipenem behandelt werden (Goel, Bhambhwani et al. 2015). Gegen alle anderen Antibiotika resistente *P. aeruginosa* Stämme konnten jedoch nur mit einem alten Antibiotikum der Polymyxin-Gruppe Colistin behandelt werden (Samant und Ramugade 2014). In den USA sind multiresistente *P. aeruginosa* Fälle eher im Rahmen von Ausbrüchen nach kontaminierten Instrumenten bekannt (Hoffmann, Weber et al. 2002). In Griechenland wurde ebenfalls ein Ausbruch multiresistenter *P. aeruginosa* Endophthalmitiden gemeldet (Maltezou, Pappa et al. 2012). In sporadischen postoperativen Endophthalmitiden mit *P. aeruginosa* waren die Erreger gegen Ciprofloxacin und Imipenem, sowie in 83,4 % der Fälle gegenüber Ceftazidim sensitiv (Falavarjani, Alemzadeh et al. 2016).

Die Häufigkeit von MRSA und Methicillin-resistenten *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) bei allen Augeninfektionen variiert generell nach geographischer Lage und ist in Asien höher als in Europa (Barry 2013). Die Häufigkeit der MRSA-Endophthalmitiden zeigt jedoch die Tendenz, auch in den USA zuzunehmen (Deramo, Lai et al. 2008, Sridhar, Yonekawa et al. 2016). Einige Fälle mit Vancomycin-resistenten Enterokokken (VRE) in den USA konnten mit systemischem Linezolid und topischem Chloramphenicol (Sharma, Desai et al. 2010) oder mit Quinupristin intravitreal (Stroh 2012) behandelt werden. Von 7 Vancomycin-resistenten grampositiven Erregern, die in einer indischen Studie im Zeitraum von fünf Jahren registriert wurden, hatten *Bacillus spp.* den größten Anteil (Khera, Pathengay et al. 2013). *Bacillus spp.* sind zwar öfters ursächlich für posttraumatische Endophthalmitiden, wurden aber auch in postoperativen Fällen bereits nachgewiesen. Aufgrund der Freisetzung ihrer Endotoxine, wirken diese Erreger sehr aggressiv. In der Studie waren diese

Erreger gegen Ceftazidim sensitiv (Dave, Pathengay et al. 2017a). Ein weiterer Fallbericht in Indien zeigte einen Vancomycin-resistenten Endophthalmitis Fall mit KNS (Das, Pathengay et al. 2011).

Eine Infektion mit multiresistenten Erregern führt also dazu, dass zunächst die initiale Therapie nicht wirksam sein kann und kostbare Zeit verloren geht. Ferner bedeutet dies auch, dass Antibiotika dazu gezogen werden müssen, die selten eingesetzt werden und für intraokulare Anwendung wenig erforscht sind. Zum Beispiel, von allen VRE-wirksamen systemisch applizierten Antibiotika zeigte nur Linezolid nachweislich ausreichende Penetration in den Glaskörper (Berenger, Kulkarni et al. 2015). Die Endophthalmitis-Fälle mit resistenten Erregern haben folglich häufig einen schlechteren Outcome (Deramo, Lai et al. 2008). Da die Therapie der Endophthalmitis zunächst empirisch erfolgen soll, können mit den jetzigen Therapieempfehlungen von Vancomycin und Ceftazidim initial bestimmte resistente Erreger nicht erfasst werden. Es gibt andererseits auch keine andere antibiotische Kombinationstherapie, die empirisch alle Erreger inklusive der Pilze und Viren abdecken könnte.

Unter diesem Gesichtspunkt fällt die Anwendung des PVP-I als initiale Therapie-Maßnahme bei intravitrealen Spüllösungen besonders ins Gewicht. Denn die Breitbandwirksamkeit würde eine rasche Bekämpfung aller Erreger bereits bei empirischer Gabe gewährleisten. Ein weiterer Aspekt der initialen Therapie mit PVP-I ist der rasche Wirkungseintritt. Eine *in vitro* Studie zeigte auf, dass die Inkubation von häufigen Endophthalmitis-Erregern mit Vancomycin oder Gentamicin für 140 min zu keinerlei Reduktion der Keime führte (Gritz, Cevallos et al. 1996). Die Konzentrationen 0,1 % und 0,01 % des PVP-I zeigten hingegen eine effektive bakterizide Wirkung nach 15 s und nach 15 min Expositionszeit *in vitro* (Nakashizuka, Shimada et al. 2015).

Weitere ergänzende Therapiemaßnahmen, die das Ausmaß der Entzündung lokal begrenzen würden, könnten darüber hinaus auch einen positiven Einfluss auf den Outcome haben. Eine retrospektive Studie belegte zwar keinen Unterschied zwischen einer zusätzlichen intraokulären Behandlung mit Dexamethason und ohne (Hall, Scott et al. 2008). Eine Metaanalyse jedoch

bestätigte schwache Beweise für einen besseren Outcome nach 3 Monaten, wenn eine intraokuläre Steroidgabe erfolgte (Kim, Chen et al. 2017). Ferner wurde in einem Experiment mit Ratten der Effekt von humanen IgG auf den Verlauf einer *S. aureus*-Endophthalmitis untersucht. Diese Behandlung führte zu einem leichteren Verlauf und könnte künftig eine zusätzliche Therapie-Option darstellen (Han 2004).

4.5 Das Modell der isolierten und perfundierten Netzhaut in Kritik und Perspektive

Das Modell der isolierten Netzhaut ermöglicht Studien zur Verträglichkeit von PVP-I als Spüllösung bei ppV unter realitätsnahen Bedingungen, inklusive einer fließenden Spüllösung, einer Expositionszeit von 45 min und den Austausch des PVP-I gegen die Nährlösung am Ende des Versuches. Ferner leistete die Arbeit einen Beitrag dazu, den Aufbau des Modells für die Testung von flüchtigen Substanzen zu erweitern und zu präzisieren. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse liefern wertvolle Erkenntnisse über die Biokompatibilität des PVP-I in der Vertebratennetzhaut. Die 0,01%ige PVP-I Spüllösungen könnten zukünftig klinisch eine Erweiterung der initialen Therapie der Endophthalmitis darstellen.

Nichtsdestotrotz waren einige Limitationen, die sich aus dem Modell der isolierten und perfundierten Netzhaut ergeben, für die Durchführung der Versuche bedeutend. Das Arbeiten mit dem Gewebe, welches von einem Schlachthof bezogen wird, ermöglichte nicht die Kontrolle über tierbezogene Variablen, wie beispielsweise das Alter. Ferner waren nur Messungen innerhalb 48 Stunden mit maximaler Ableitung einer Probe von 10 Stunden, wie in der grundlegenden Methodenstudie berichtet, möglich (Luke, Weiergraber et al. 2005). Das schloss Langzeitmessungen oder ein Follow-up der gleichen Probe aus. Da die Proben nacheinander in einem experimentellen Set-up getestet wurden, ergab sich eine Reihenfolge, an deren letzten Stelle gleichzeitig die „älteste“, d.h. am längsten *ex vivo* inkubierte Netzhaut getestet wurde. Eine Quantifizierung der *ex vivo* Zeit oder sogar eine Kopplung an eine Kontrollgruppe, die die *ex vivo* Zeit jeweils entspräche, wäre allerdings

logistisch nicht praktikabel. In dieser Arbeit wurden daher die Erkenntnisse aus der oben genannten Studie zur Methode bezüglich der stabilen Ableitung über 10 Stunden zugrunde gelegt. Da die Dauer der in dieser Arbeit durchgeführten Versuche innerhalb dieser Zeitspanne lag, konnte in der Auswertung die 130. Minute des Experimentes als die 25. Minute gleichbehandelt und miteinander verglichen werden. Ferner wurde jede Probe über die Einlaufzeit auf stabile Ableitung überprüft, um zu gewährleisten, dass es sich um eine grundsätzlich gesunde, für das Experiment taugliche Gewebeprobe handelt.

Die strukturelle Ähnlichkeit zwischen der humanen und bovinen Netzhaut, die den Einsatz dieser Methode berechtigt, wurde in einigen Studien gezeigt. Das Rhodopsin als Strukturmerkmal der Außensegmente der Photorezeptoren wurde primär an der Rindernetzhaut erforscht (Hargrave, McDowell et al. 1983). Die Ähnlichkeit zwischen dem humanen und dem bovinen Gen, welches Rhodopsin kodiert, wurde kurz darauf belegt (Nathans und Hogness 1984). Diese Erkenntnisse wurden auf weitere Bereiche ausgedehnt, wie die grundsätzliche Struktur G-Protein-gekoppelter Rezeptoren in den Vertebraten (Palczewski 2006). Auch phylogenetische Untersuchungen liefern Belege, dass die Rindernetzhaut mit der humanen Ähnlichkeit aufweist. Das Myocilin-Gen, verantwortlich für die Entstehung einer Form des Offenwinkelglaukoms, ist unter der bovinen und humanen Netzhaut ähnlicher, als es im Vergleich zu Ratte oder Maus ist (Mukhopadhyay, Gupta et al. 2002).

Eine andere Methode, die die von einem Schlachthof bezogene *ex vivo* Hornhaut des Rinderauges involviert, ist der Bovine Hornhauttrübungs- und Permeabilitätstest (*Bovine Cornea Opacity Permeability Test*) (Gautheron, Dukic et al. 1992). Diese später noch weiterentwickelte Methode ist seit 2013 als wissenschaftlich valider alternativer Test zum Tierversuch durch die Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) anerkannt. Der Test kann in den toxikologischen Studien zur Identifikation starker Reizstoffe ohne weitere Untersuchungen eingesetzt werden (Wilson, Ahearne et al. 2015). Der Einsatz einer weiteren Methode, einer *ex vivo* Linse des Rinderauges, hat in toxikologischen Studien sogar besser abgeschnitten als der dafür etablierte Draize-Tierversuch (Sivak 1994).

Diese Fortschritte positionieren das Modell der isolierten und perfundierten Netzhaut im toxikologischen Hintergrund gut. Dennoch können strukturelle Unterschiede des Rinderauges zur humanen Netzhaut abweichende Effekte der Testsubstanz hervorrufen. Dies ist ein grundsätzliches Problem, das auch etablierte Tierversuche betrifft (Perlman 2009). Das Modell der isolierten und perfundierten Vertebratennetzhaut ermöglicht es, Experimente durchzuführen, die unter kontrollierten Bedingungen ablaufen, reproduzierbar sind und kein ethisches Dilemma generieren. Ein regelmäßiger Einsatz dieser und anderer tierversuchsparenden Methoden würde weitere Interpretation der Ergebnisse erleichtern und zur Qualitätssicherung beitragen.

4.6 Schlusswort

Die Notwendigkeit, die aktuell empfohlene Therapiestrategie der postoperativen Endophthalmitis zu überdenken, ergibt sich aus der Betrachtung des breiten Spektrums der Erreger, der aufkommenden und befürchteten Resistenzen sowie insgesamt schlechter Prognose trotz leitliniengerechter Behandlung. PVP-I ist ein breitbandwirksames Mittel, welches in der Augenheilkunde bereits als prophylaktische Maßnahme bekannt und etabliert ist, sowie auch für therapeutische Einsätze immer mehr erforscht wird. Vorteile des PVP-I liegen darin, dass gegen dieses Mittel bislang keine Resistenzen bekannt sind und es rasch alle potentiellen Endophthalmitis-Erreger wie Bakterien, Viren und Pilze erfassen kann. In dieser Arbeit zeigte 0,01%ige PVP-I-Spüllösung im ERG keine Veränderung der a- oder b- Welle. *In vitro* und *in vivo* Untersuchungen anderer Studien belegten die Bakterizidität von 0,01%igem PVP-I. Dies lässt zu, diese Konzentration für eine Anwendung im Rahmen einer therapeutischen ppV bei Endophthalmitis in den Fokus zu stellen. Zwar ist das Forschungsdesign aufgrund des Arbeitens mit dem *ex vivo* Gewebe limitiert, dennoch sind diese Erkenntnisse aufgrund des experimentellen Charakters und der realitätsnahen Nachbildung der Operationssituation wertvoll.

5 Zusammenfassung

Die postoperative Endophthalmitis ist eine seltene Komplikation, die allerdings aufgrund ihres schlechten Outcomes sehr gefürchtet wird. Ziel dieser Arbeit war daher, eine Konzentration des Povidon-Iods (PVP-I) zu bestimmen, die elektrophysiologisch keine schädliche Wirkung auf die Netzhaut zeigt und somit für den Einsatz als intravitreale Spüllösung im Rahmen einer therapeutischen pars plana Vitrektomie (ppV) bei Endophthalmitis empfohlen werden könnte.

In dieser Arbeit wurde daher das PVP-I im Modell der isolierten und perfundierten Vertebratennetzhaut getestet. Das bestehende Modell wurde um ein geschlossenes Beförderungssystem erweitert. Dunkeladaptierte Elektroretinogramme (ERG) wurden vor und nach einer 45-minütigen Exposition mit PVP-I (0,0375 %; 0,025 %; 0,0125 %; 0,01 %; 0,0075 %) abgeleitet. Nach der Exposition mit 0,0375 % und 0,3%igem PVP-I wurden die Netzhäute anschließend licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Eine relevante Reduktion der b-Wellen im ERG wurden nach Einwirkung von 0,0375 %, 0,025 % und 0,0125%igem PVP-I aufgenommen. Die a-Welle zeigte erst bei 0,0375 % einen relevanten Rückgang. Die höchste Konzentration, die keine relevanten Veränderungen im ERG bewirkte, war die 0,01%ige PVP-I-Spüllösung. In den mikroskopischen Untersuchungen wurden strukturelle Veränderungen nach der Einwirkung von 0,3%igem PVP-I gezeigt. Der Effekt von 0,0375%igem PVP-I auf die Netzhaut war nicht eindeutig.

Das Modell der isolierten und perfundierten Retina ist in der Untersuchung verschiedener pharmakologischer Substanzen bezüglich ihrer Biokompatibilität mit der Netzhaut bereits gut etabliert. Durch in dieser Arbeit gewonnene Daten zeigte sich nun, dass der Einsatz von 0,01%igem PVP-I zur Therapie in Form von intravitrealer Spüllösung keinen Hinweis auf schädliche Effekte lieferte. In mikrobiologischen Studien wurde die mikrobizide Wirksamkeit einer solchen Konzentration *in vitro* und *in vivo* bereits belegt. Die Anwendung dieser mikrobiziden PVP-I-Spüllösung wäre sinnvoll, da so sehr rasch alle Erreger inklusive multiresistente Bakterien, Pilze oder Viren abgedeckt werden könnten.

7 Literaturverzeichnis

- Aaberg, T. M., Jr., H. W. Flynn, Jr., J. Schiffman and J. Newton (1998). "Nosocomial acute-onset postoperative endophthalmitis survey. A 10-year review of incidence and outcomes." Ophthalmology **105**(6): 1004-1010.
- Alcon Laboratories Inc. (2003). "BSS PLUS sterile intraocular irrigation solution." Zugegriffen am: 29.03.2017, in: http://ecatalog.alcon.com/pi/BSSplus250_us_en.pdf.
- Aly, K. (2003). Glycohistochemical, Immunohistochemical and Electron Microscopic Examination of the Bovine Eyeball Doctor degree, Ludwig-Maximilians-University Munich.
- Assadian, O. K., A. (2008). Antiseptik. In: A. A. Kramer, O. Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Stuttgart, Georg Thieme Verlag: 208-254.
- Astley, R. A., P. S. Coburn, S. M. Parkunan and M. C. Callegan (2016). "Modeling intraocular bacterial infections." Prog Retin Eye Res **54**: 30-48.
- Bacon, A. S., C. R. Davison, B. C. Patel, D. G. Frazer, L. A. Ficker and J. K. Dart (1993). "Infective endophthalmitis following vitreoretinal surgery." Eye (Lond) **7 (Pt 4)**: 529-534.
- Barry, P., D. V. Seal, G. Gettinby, F. Lees, M. Peterson, C. W. Revie and E. E. S. Group (2006). "ESCRS study of prophylaxis of postoperative endophthalmitis after cataract surgery: Preliminary report of principal results from a European multicenter study." J Cataract Refract Surg **32**(3): 407-410.
- Barry, P. C., L.; Gardner, S.;. (2013). "ESCRS Guidelines for Prevention and Treatment of Endophthalmitis Following Cataract Surgery: Data, Dilemmas and Conclusions." Zugegriffen am: 19.07.2017, in: <http://www.es CRS.org/endophthalmitis/guidelines/ENGLISH.pdf>.
- Barza, M., P. R. Pavan, B. H. Doft, S. R. Wisniewski, L. A. Wilson, D. P. Han and S. F. Kelsey (1997). "Evaluation of microbiological diagnostic techniques in postoperative endophthalmitis in the Endophthalmitis Vitrectomy Study." Arch Ophthalmol **115**(9): 1142-1150.
- Becker, M. D. and F. Mackensen (2007). "[Treatment of acute postoperative endophthalmitis. New aspects in an emergency situation]." Ophthalmologie **104**(11): 947-951.

- Behera, U. C., M. Budhwani, T. Das, S. Basu, T. R. Padhi, M. R. Barik and S. Sharma (2017). "Role of Early Vitrectomy in the Treatment of Fungal Endophthalmitis." Retina.
- Behrens-Baumann, W. (2011). "[Prophylaxis and therapy of postoperative endophthalmitis. Criticism of the ESCRS study and the Early Vitrectomy study]." Ophthalmologe **108**(11): 1062, 1064-1066.
- Berenger, B. M., S. Kulkarni, B. J. Hinz and S. E. Md (2015). "Exogenous endophthalmitis caused by Enterococcus casseliflavus: A case report and discussion regarding treatment of intraocular infection with vancomycin-resistant enterococci." Can J Infect Dis Med Microbiol **26**(6): 330-332.
- Berkelman, R. L. H., B. W.; Anderson, R. L. (1982). "Increased Activity of Dilute Preparations of Povidone-Iodine Solutions." Journal of Clinical Microbiology **15**(4): 635-639.
- Bhattacharjee, H., K. Bhattacharjee, K. Gogoi, M. Singh, B. G. Singla and A. Yadav (2016). "Microbial profile of the vitreous aspirates in culture proven exogenous endophthalmitis: A 10-year retrospective study." Indian J Med Microbiol **34**(2): 153-158.
- Brozou, C. G., V. Karabatakis, M. Giannousis, K. Mandraveli, G. Karkavelas and S. Alexiou-Daniel (2009). "The efficacy of intravitreal povidone iodine application in experimental Staphylococcus epidermidis endophthalmitis." Ophthalmic Res **41**(4): 181-185.
- Buzard, K. and S. Liapis (2004). "Prevention of endophthalmitis." J Cataract Refract Surg **30**(9): 1953-1959.
- Campochiaro, P. A. and J. I. Lim (1994). "Aminoglycoside toxicity in the treatment of endophthalmitis. The Aminoglycoside Toxicity Study Group." Arch Ophthalmol **112**(1): 48-53.
- Capriotti, K. and J. A. Capriotti (2012). "Topical iodophor preparations: chemistry, microbiology, and clinical utility." Dermatol Online J **18**(11): 1.
- Chen, J. K., R. N. Khurana, Q. D. Nguyen and D. V. Do (2009). "The incidence of endophthalmitis following transconjunctival sutureless 25- vs 20-gauge vitrectomy." Eye (Lond) **23**(4): 780-784.
- Chiang, A., R. S. Kaiser, R. L. Avery, P. U. Dugel, D. Elliott, S. P. Shah, J. Heier, J. Duker, A. Y. Hu, S. D. Schwartz, I. U. Scott, J. S. Pollack, L. J. Faia and G. A. Williams (2011). "Endophthalmitis in microincision vitrectomy: outcomes of gas-filled eyes." Retina **31**(8): 1513-1517.
- Ciulla, T. A., M. B. Starr and S. Masket (2002). "Bacterial endophthalmitis prophylaxis for cataract surgery: an evidence-based update." Ophthalmology **109**(1): 13-24.

- Cohen, S. M., H. W. Flynn, Jr., T. G. Murray and W. E. Smiddy (1995). "Endophthalmitis after pars plana vitrectomy. The Postvitrectomy Endophthalmitis Study Group." Ophthalmology **102**(5): 705-712.
- Cooper, R. A. (2007). "Iodine revisited." Int Wound J **4**(2): 124-137.
- Czajka, M. P., E. Byhr, G. Olivestedt and E. M. Olofsson (2016). "Endophthalmitis after small-gauge vitrectomy: a retrospective case series from Sweden." Acta Ophthalmol.
- Das, M. K., A. Pathengay, G. Y. Shah and N. K. Koday (2011). "Vancomycin-resistant coagulase negative Staphylococcus endophthalmitis following cataract surgery." J Cataract Refract Surg **37**(10): 1908-1909.
- Dave, V. P., A. Pathengay, I. Budhiraja, S. Sharma, R. R. Pappuru, M. Tyagi, R. Narayanan, S. Jalali, J. Chhablani and T. Das (2017a). "Clinical Presentation, Microbiologic Profile and Factors Predicting Outcomes in Bacillus Endophthalmitis." Retina Online-Publikation vor Print.
- Dave, V. P., A. Pathengay, K. Nishant, R. R. Pappuru, S. Sharma, P. Sharma, R. Narayanan, S. Jalali, A. Mathai and T. Das (2017b). "Clinical presentations, risk factors and outcomes of ceftazidime-resistant Gram-negative endophthalmitis." Clin Exp Ophthalmol **45**(3): 254-260.
- Deramo, V. A., J. C. Lai, J. Winokur, J. Luchs and I. J. Udell (2008). "Visual outcome and bacterial sensitivity after methicillin-resistant Staphylococcus aureus-associated acute endophthalmitis." Am J Ophthalmol **145**(3): 413-417.
- DGII. (2005). Deutschsprachige Gesellschaft für Intraokularlinsenimplantation. "Leitlinie zur Prophylaxe und Therapie von Endophthalmitiden." Zugriffen am: 3.5.2017, in: http://www.dgii.org/uploads/pdfs/LeitlinieEndophthalmitis_2005.pdf.
- Doshi, R. R., S. J. Bakri and A. E. Fung (2011). "Intravitreal injection technique." Semin Ophthalmol **26**(3): 104-113.
- Eckardt, C. (2005). "Transconjunctival sutureless 23-gauge vitrectomy." Retina **25**(2): 208-211.
- Eifrig, C. W., I. U. Scott, H. W. Flynn, Jr., W. E. Smiddy and J. Newton (2004). "Endophthalmitis after pars plana vitrectomy: Incidence, causative organisms, and visual acuity outcomes." Am J Ophthalmol **138**(5): 799-802.
- Einthoven, J. W. (1908). "The form and magnitude of the electrical response of the eye to stimulation by light at various intensities." Exp Physiol **1**: 373-416.

- ESCRS European Society of Cataract & Refractive Surgeons (2007). "Prophylaxis of postoperative endophthalmitis following cataract surgery: results of the ESCRS multicenter study and identification of risk factors." J Cataract Refract Surg **33**(6): 978-988.
- EVS, E. V. S. G. (1995). "Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group." Arch Ophthalmol **113**(12): 1479-1496.
- EVS; Endophthalmitis Vitrectomy Study Group (1995). "Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group." Arch Ophthalmol **113**(12): 1479-1496.
- FachInfo, S. (2013). "Fachinformation Braunol." Zugegriffen am: 29.03.2017, in: <http://www.ratiopharm.de/index.php?eID=dumpFile&t=f&f=37388&g=-1&r=1894%2C1894&token=3370b821cd1e20a8f6b416a5743355efc97a861f>.
- Falavarjani, K. G., S. A. Alemzadeh, A. Habibi, A. Hadavandkhani, S. Askari and A. Pourhabibi (2016). "Pseudomonas aeruginosa Endophthalmitis: Clinical Outcomes and Antibiotic Susceptibilities." Ocul Immunol Inflamm: 1-5.
- Fileta, J. B., I. U. Scott and H. W. Flynn, Jr. (2014). "Meta-analysis of infectious endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents." Ophthalmic Surg Lasers Imaging Retina **45**(2): 143-149.
- Friling, E., M. Lundstrom, U. Stenevi and P. Montan (2013). "Six-year incidence of endophthalmitis after cataract surgery: Swedish national study." J Cataract Refract Surg **39**(1): 15-21.
- Fujii, G. Y., E. De Juan, Jr., M. S. Humayun, D. J. Pieramici, T. S. Chang, C. Awh, E. Ng, A. Barnes, S. L. Wu and D. N. Sommerville (2002). "A new 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery." Ophthalmology **109**(10): 1807-1812; discussion 1813.
- Garg, P., A. Roy and S. Sharma (2017). "Endophthalmitis after cataract surgery: epidemiology, risk factors, and evidence on protection." Curr Opin Ophthalmol **28**(1): 67-72.
- Garg, S. J., M. Dollin, P. Storey, J. D. Pitcher, 3rd, N. H. Fang-Yen, J. Vander, J. Hsu and T. Post-Injection Endophthalmitis Study (2016). "Microbial Spectrum and Outcomes of Endophthalmitis after Intravitreal Injection Versus Pars Plana Vitrectomy." Retina **36**(2): 351-359.

- Gautheron, P., M. Dukic, D. Alix and J. F. Sina (1992). "Bovine corneal opacity and permeability test: an in vitro assay of ocular irritancy." Fundam Appl Toxicol **18**(3): 442-449.
- Goel, N., V. Bhambhwani and B. Ghosh (2015). "Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa endophthalmitis in a silicone oil-filled eye treated with piperacillin/tazobactam: report of a case and review of literature." Int Ophthalmol **35**(4): 599-602.
- Goel, S., L. R. Kolli, S. P. Desai, A. Kumar, V. Gauba and G. R. Jayamanne (2008). "Povidone iodine causes opacification of silicone intraocular lens implants." Acta Ophthalmol **86**(7): 773-777.
- Goldschmidt, P., S. Degorge, D. Benallaoua, E. Basli, L. Batellier, S. Boutboul, C. Allouch, V. Borderie, L. Laroche and C. Chaumeil (2009). "New test for the diagnosis of bacterial endophthalmitis." Br J Ophthalmol **93**(8): 1089-1095.
- Gottardi, W. (1985). "The influence of the chemical behaviour of iodine on the germicidal action of disinfectant solutions containing iodine." J Hosp Infect **6 Suppl A**: 1-11.
- Govetto, A., G. Virgili, F. Menchini, P. Lanzetta and U. Menchini (2013). "A systematic review of endophthalmitis after microincisional versus 20-gauge vitrectomy." Ophthalmology **120**(11): 2286-2291.
- Granit, R. (1933). "The components of the retinal action potential in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve." J Physiol **77**(3): 207-239.
- Gritz, D. C., A. V. Cevallos, G. Smolin and J. P. Witcher, Jr. (1996). "Antibiotic supplementation of intraocular irrigating solutions. An in vitro model of antibacterial action." Ophthalmology **103**(8): 1204-1208; discussion 1208-1209.
- Hall, E. F., G. R. Scott, D. C. Musch and D. N. Zacks (2008). "Adjunctive intravitreal dexamethasone in the treatment of acute endophthalmitis following cataract surgery." Clin Ophthalmol **2**(1): 139-145.
- Han, D. P. (2004). "Intravitreal human immune globulin in a rabbit model of Staphylococcus aureus toxin-mediated endophthalmitis: a potential adjunct in the treatment of endophthalmitis." Trans Am Ophthalmol Soc **102**: 305-320.
- Han, D. P., S. R. Wisniewski, L. A. Wilson, M. Barza, A. K. Vine, B. H. Doft and S. F. Kelsey (1996). "Spectrum and susceptibilities of microbiologic isolates in the Endophthalmitis Vitrectomy Study." Am J Ophthalmol **122**(1): 1-17.
- Hanawa, I. and T. Tateishi (1970). "The effect of aspartate on the electroretinogram of the vertebrate retina." Experientia **26**(12): 1311-1312.

- Hargrave, P. A., J. H. McDowell, D. R. Curtis, J. K. Wang, E. Juszczak, S. L. Fong, J. K. Rao and P. Argos (1983). "The structure of bovine rhodopsin." *Biophys Struct Mech* **9**(4): 235-244.
- Hebel, R. and H. Hollander (1979). "Size and distribution of ganglion cells in the bovine retina." *Vision Res* **19**(6): 667-674.
- Heimann, H., K. U. Bartz-Schmidt, N. Bornfeld, C. Weiss, R. D. Hilgers and M. H. Foerster (2008). "[Primary pars plana vitrectomy. Techniques, indications, and results]." *Ophthalmologe* **105**(1): 19-26.
- Heynen, H. and D. van Norren (1985). "Origin of the electroretinogram in the intact macaque eye--II. Current source-density analysis." *Vision Res* **25**(5): 709-715.
- Hoffmann, K. K., D. J. Weber, M. F. Gergen, W. A. Rutala and G. Tate (2002). "Pseudomonas aeruginosa-related postoperative endophthalmitis linked to a contaminated phacoemulsifier." *Arch Ophthalmol* **120**(1): 90-93.
- Houang, E. T., O. J. Gilmore, C. Reid and E. J. Shaw (1976). "Absence of bacterial resistance to povidone iodine." *J Clin Pathol* **29**(8): 752-755.
- Hu, A. Y., J. L. Bourges, S. P. Shah, A. Gupta, C. R. Gonzales, S. C. Oliver and S. D. Schwartz (2009). "Endophthalmitis after pars plana vitrectomy a 20- and 25-gauge comparison." *Ophthalmology* **116**(7): 1360-1365.
- Isenberg, S. J., L. Apt, M. Valenton, S. Sharma, P. Garg, P. A. Thomas, P. Parmar, J. Kaliyamurthy, J. M. Reyes, D. Ong, P. D. Christenson, M. Del Signore and G. N. Holland (2017). "Prospective, Randomized Clinical Trial of Povidone-Iodine 1.25% Solution Versus Topical Antibiotics for Treatment of Bacterial Keratitis." *Am J Ophthalmol* **176**: 244-253.
- Isenberg, S. J., L. Apt, R. Yoshimori, R. D. Leake and R. Rich (1994). "Povidone-iodine for ophthalmia neonatorum prophylaxis." *Am J Ophthalmol* **118**(6): 701-706.
- Januschowski, K., S. Mueller, M. S. Spitzer, J. Hoffmann, C. Schramm, M. Schultheiss, K. U. Bartz-Schmidt and P. Szurman (2012a). "Investigating the biocompatibility of two new heavy intraocular dyes for vitreoretinal surgery with an isolated perfused vertebrate retina organ culture model and a retinal ganglion cell line." *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **250**(4): 533-545.
- Januschowski, K., S. Mueller, M. S. Spitzer, M. Lueke, K. U. Bartz-Schmidt and P. Szurman (2011). "The effects of the intraocular dye brilliant blue G (BBG) mixed with varying concentrations of glucose on retinal function in an isolated perfused vertebrate retina." *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **249**(4): 483-489.

- Januschowski, K., S. Mueller, M. S. Spitzer, C. Schramm, D. Doycheva, K. U. Bartz-Schmidt and P. Szurman (2012b). "Evaluating retinal toxicity of a new heavy intraocular dye, using a model of perfused and isolated retinal cultures of bovine and human origin." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **250**(7): 1013-1022.
- Januschowski, K., A. Zhour, A. Lee, R. Maddani, S. Mueller, M. S. Spitzer, S. Schnichels, M. Schultheiss, D. Doycheva, K. U. Bartz-Schmidt and P. Szurman (2012). "Testing the biocompatibility of a glutathione-containing intra-ocular irrigation solution by using an isolated perfused bovine retina organ culture model - an alternative to animal testing." Altern Lab Anim **40**(1): 23-32.
- Javaheri, M., G. Y. Fujii, J. V. Rossi, C. Q. Panzan, D. Yanai, R. R. Lakhanpal, M. Maia, R. N. Khurana, D. Guven, E. De Juan, Jr. and M. S. Humayun (2007). "Effect of oxygenated intraocular irrigation solutions on the electroretinogram after vitrectomy." Retina **27**(1): 87-94.
- Joondeph, B. C., J. P. Blanc and P. J. Polkinghorne (2005). "Endophthalmitis after pars plana vitrectomy: a New Zealand experience." Retina **25**(5): 587-589.
- Kaiser, R. S., J. Prenner, I. U. Scott, A. J. Brucker, H. W. Flynn, Jr., G. A. Williams, A. C. Ho, C. D. Regillo, A. Capone, R. Avery, D. Elliott, P. Dugel and J. Pollack (2010). "The Microsurgical Safety Task Force: evolving guidelines for minimizing the risk of endophthalmitis associated with microincisional vitrectomy surgery." Retina **30**(4): 692-699.
- Kawana, R., T. Kitamura, O. Nakagomi, I. Matsumoto, M. Arita, N. Yoshihara, K. Yanagi, A. Yamada, O. Morita, Y. Yoshida, Y. Furuya and S. Chiba (1997). "Inactivation of human viruses by povidone-iodine in comparison with other antiseptics." Dermatology **195 Suppl 2**: 29-35.
- Keynan, Y., Y. Finkelman and P. Lagace-Wiens (2012). "The microbiology of endophthalmitis: global trends and a local perspective." Eur J Clin Microbiol Infect Dis **31**(11): 2879-2886.
- Khera, M., A. Pathengay, A. Jindal, S. Jalali, A. Mathai, R. R. Pappuru, N. Relhan, T. Das, S. Sharma and H. W. Flynn (2013). "Vancomycin-resistant Gram-positive bacterial endophthalmitis: epidemiology, treatment options, and outcomes." J Ophthalmic Inflamm Infect **3**(1): 46.
- Kim, C. H., M. F. Chen and A. L. Coleman (2017). "Adjunctive steroid therapy versus antibiotics alone for acute endophthalmitis after intraocular procedure." Cochrane Database Syst Rev **2**: CD012131.
- Kim, K. H., J. Cao, J. W. Yoo, I. S. Yoon, J. W. Jung, J. E. Lee and I. S. Byon (2015). "Intraocular Pharmacokinetics of Povidone-Iodine and Its Effects on

Experimental Staphylococcus epidermidis Endophthalmitis." Invest Ophthalmol Vis Sci **56**(11): 6694-6700.

Kodjikian, L., A. Salvanet-Bouccara, S. Grillon, F. Forestier, J. L. Seegmuller, G. Berdeaux and E. French Collaborative Study Group on (2009). "Postcataract acute endophthalmitis in France: national prospective survey." J Cataract Refract Surg **35**(1): 89-97.

Kramer, A. and H.-P. Werner (2002). Requirements Concerning Antiseptics for Periorbital, Orbital and Intraorbital Application. In: A. B.-B. Kramer, W. Antiseptic Prophylaxis and Therapy in Ocular Infections. Basel, Karger. **33**: 28-116.

Krohne, T. U., J. P. Allam, N. Novak and F. G. Holz (2016). "[Iodine allergy] : A medical myth with risks for the ophthalmological patient]." Ophthalmologe **113**(12): 1023-1028.

Kunimoto, D. Y., R. S. Kaiser and S. Wills Eye Retina (2007). "Incidence of endophthalmitis after 20- and 25-gauge vitrectomy." Ophthalmology **114**(12): 2133-2137.

Lacey, R. W. and A. Catto (1993). "Action of povidone-iodine against methicillin-sensitive and -resistant cultures of Staphylococcus aureus." Postgrad Med J **69 Suppl 3**: S78-83.

Le Bourhis-Zaimi, M., H. Marini, J. Gueudry, E. Calenda, T. Vermeulin, N. Frebourg, M. Muraine and V. Merle (2017). "Incidence of postoperative nosocomial endophthalmitis: results of an 8-year prospective surveillance program in a university hospital in France." J Hosp Infect.

Lee, M. H., D. Cugley, A. Atik and G. S. Ang (2017). "Endophthalmitis or toxic anterior segment syndrome?" Clin Exp Optom **100**(1): 94-95.

Lemley, C. A. and D. P. Han (2007). "Endophthalmitis: a review of current evaluation and management." Retina **27**(6): 662-680.

Li, S. H., Y. Wang, H. B. Gao, K. Zhao, Y. C. Hou and W. Sun (2015). "Experimental study on the toxicity of povidone-iodine solution in brain tissues of rabbits." Int J Clin Exp Med **8**(9): 14863-14870.

Luke, M., K. Januschowski, J. Beutel, M. Warga, S. Grisanti, S. Peters, T. Schneider, C. Luke, K. U. Bartz-Schmidt and P. Szurman (2008). "The effects of triamcinolone crystals on retinal function in a model of isolated perfused vertebrate retina." Exp Eye Res **87**(1): 22-29.

Luke, M., K. Januschowski, J. Luke, S. Grisanti, P. Szurman, K. Dietz, A. Kampik, K. U. Bartz-Schmidt and K. H. Eibl-Lindner (2010a). "The safety profile of alkylphosphocholines in the model of the isolated perfused vertebrate retina." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **248**(4): 511-518.

- Luke, M., K. Januschowski, J. Luke, S. Peters, N. Wirtz, E. Yoruk, C. Luke, K. U. Bartz-Schmidt, S. Grisanti and P. Szurman (2009). "The effects of ranibizumab (Lucentis) on retinal function in isolated perfused vertebrate retina." Br J Ophthalmol **93**(10): 1396-1400.
- Luke, M., K. Januschowski, A. Tura, J. Luke, K. Nassar, C. Luke, T. Schneider, P. Szurman, S. Grisanti and K. U. Bartz-Schmidt (2010b). "Effects of pegaptanib sodium on retinal function in isolated perfused vertebrate retina." Curr Eye Res **35**(3): 248-254.
- Luke, M., R. Krott, M. Warga, P. Szurman, S. Grisanti, K. U. Bartz-Schmidt, T. Schneider and C. Luke (2007). "Effects of the protein tyrosine kinase inhibitor genistein and taurine on retinal function in isolated superfused retina." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **245**(2): 242-248.
- Luke, M., M. Weiergraber, C. Brand, S. A. Siapich, M. Banat, J. Hescheler, C. Luke and T. Schneider (2005). "The isolated perfused bovine retina--a sensitive tool for pharmacological research on retinal function." Brain Res Brain Res Protoc **16**(1-3): 27-36.
- Luther, T. T. and K. U. Bartz-Schmidt (1999). "[Endophthalmitis]." Ophthalmologie **96**(11): 758-771.
- Machemer, R., J. M. Parel and H. Buettner (1972). "A new concept for vitreous surgery. I. Instrumentation." Am J Ophthalmol **73**(1): 1-7.
- Mailhac, A., H. Durand, S. Boisset, D. Maubon, F. Berger, M. Maurin, C. Chiquet and M. Bidart (2017). "MALDI-TOF mass spectrometry for rapid diagnosis of postoperative endophthalmitis." J Proteomics **152**: 150-152.
- Maltezou, H. C., O. Pappa, G. Nikolopoulos, L. Ftika, A. Maragos, H. Kaitsa, E. Protonotariou, E. Diza, N. Georgiadis, A. Vatopoulos and P. Nicolaidis (2012). "Postcataract surgery endophthalmitis outbreak caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*." Am J Infect Control **40**(1): 75-77.
- Mason, J. O., 3rd, J. J. Yunker, R. S. Vail, M. F. White, Jr., R. M. Feist, M. L. Thomley, M. A. Albert, Jr. and T. O. Persaud (2008). "Incidence of endophthalmitis following 20-gauge and 25-gauge vitrectomy." Retina **28**(9): 1352-1354.
- Mason, W. T., R. S. Fager and E. W. Abrahamson (1973). "Ultrastructure of the receptor and epithelial layers of the bovine retina." J Anat **115**(Pt 2): 289-308.
- Matsuda, M., Y. Tano and H. F. Edelhauser (1984). "Comparison of intraocular irrigating solutions used for pars plana vitrectomy and prevention of endothelial cell loss." Jpn J Ophthalmol **28**(3): 230-238.

- McCannel, C. A. (2011). "Meta-analysis of endophthalmitis after intravitreal injection of anti-vascular endothelial growth factor agents: causative organisms and possible prevention strategies." Retina **31**(4): 654-661.
- Moloney, T. P. and J. Park (2014). "Microbiological isolates and antibiotic sensitivities in culture-proven endophthalmitis: a 15-year review." Br J Ophthalmol **98**(11): 1492-1497.
- Montan, P. G., G. Wejde, G. Koranyi and M. Rylander (2002). "Prophylactic intracameral cefuroxime. Efficacy in preventing endophthalmitis after cataract surgery." J Cataract Refract Surg **28**(6): 977-981.
- Mukhopadhyay, A., A. Gupta, S. Mukherjee, K. Chaudhuri and K. Ray (2002). "Did myocilin evolve from two different primordial proteins?" Mol Vis **8**: 271-279.
- Nakashizuka, H., H. Shimada, T. Hattori, T. Noguchi, N. Kokubo and M. Yuzawa (2015). "Vitrectomy using 0.025% povidone-iodine in balanced salt solution plus for the treatment of postoperative endophthalmitis." Retina **35**(6): 1087-1094.
- Naor, J., N. Savion, M. Blumenthal and E. I. Assia (2001). "Corneal endothelial cytotoxicity of diluted povidone-iodine." J Cataract Refract Surg **27**(6): 941-947.
- Nathans, J. and D. S. Hogness (1984). "Isolation and nucleotide sequence of the gene encoding human rhodopsin." Proc Natl Acad Sci U S A **81**(15): 4851-4855.
- Nentwich, M. M., C. N. Ta, T. C. Kreutzer, B. Li, F. Schwarzbach, Y. M. Yactayo-Miranda, A. Kampik and H. Mino de Kaspar (2015). "Incidence of postoperative endophthalmitis from 1990 to 2009 using povidone-iodine but no intracameral antibiotics at a single academic institution." J Cataract Refract Surg **41**(1): 58-66.
- Nentwich, M. M., Y. Yactayo-Miranda, F. Schwarzbach, A. Wolf, A. Kampik and H. Mino de Kaspar (2014). "Endophthalmitis after intravitreal injection: decreasing incidence and clinical outcome-8-year results from a tertiary ophthalmic referral center." Retina **34**(5): 943-950.
- Oakley, B., 2nd and D. G. Green (1976). "Correlation of light-induced changes in retinal extracellular potassium concentration with c-wave of the electroretinogram." J Neurophysiol **39**(5): 1117-1133.
- Oshima, Y., K. Kadonosono, H. Yamaji, M. Inoue, M. Yoshida, H. Kimura, M. Ohji, F. Shiraga, T. Hamasaki and G. Japan Microincision Vitrectomy Surgery Study (2010). "Multicenter survey with a systematic overview of acute-onset endophthalmitis after transconjunctival microincision vitrectomy surgery." Am J Ophthalmol **150**(5): 716-725 e711.

- Palczewski, K. (2006). "G protein-coupled receptor rhodopsin." Annu Rev Biochem **75**: 743-767.
- Park, J. C., B. Ramasamy, S. Shaw, R. H. Ling and S. Prasad (2014a). "A prospective and nationwide study investigating endophthalmitis following pars plana vitrectomy: clinical presentation, microbiology, management and outcome." Br J Ophthalmol **98**(8): 1080-1086.
- Park, J. C., B. Ramasamy, S. Shaw, S. Prasad and R. H. Ling (2014b). "A prospective and nationwide study investigating endophthalmitis following pars plana vitrectomy: incidence and risk factors." Br J Ophthalmol **98**(4): 529-533.
- Pathengay, A., H. W. Flynn, Jr., R. F. Isom and D. Miller (2012). "Endophthalmitis outbreaks following cataract surgery: causative organisms, etiologies, and visual acuity outcomes." J Cataract Refract Surg **38**(7): 1278-1282.
- Pelletier, J. S., K. Stewart, W. Trattler, D. C. Ritterband, S. Braverman, C. M. Samson, B. Liang and J. A. Capriotti (2009). "A combination povidone-iodine 0.4%/dexamethasone 0.1% ophthalmic suspension in the treatment of adenoviral conjunctivitis." Adv Ther **26**(8): 776-783.
- Penn, R. D. and W. A. Hagins (1969). "Signal transmission along retinal rods and the origin of the electroretinographic a-wave." Nature **223**(5202): 201-204.
- Perlman, I. (1995). The Electroretinogram: ERG. In: H. Kolb, E. Fernandez und R. Nelson. Webvision: The Organization of the Retina and Visual System. Salt Lake City (UT).
- Perlman, I. (2009). "Testing retinal toxicity of drugs in animal models using electrophysiological and morphological techniques." Doc Ophthalmol **118**(1): 3-28.
- Pijl, B. J., T. Theelen, M. A. Tilanus, R. Rentenaar and N. Crama (2010). "Acute endophthalmitis after cataract surgery: 250 consecutive cases treated at a tertiary referral center in the Netherlands." Am J Ophthalmol **149**(3): 482-487 e481-482.
- Reibaldi, M., A. Pulvirenti, T. Avitabile, V. Bonfiglio, A. Russo, C. Mariotti, C. Bucolo, R. Mastropasqua, G. Parisi and A. Longo (2017). "Pooled Estimates of Incidence of Endophthalmitis after Intravitreal Injection of Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Agents with and without Topical Antibiotic Prophylaxis." Retina Online-Publikation vor Print
- Reimer, K., W. Fleischer, B. Brogmann, H. Schreier, P. Burkhard, A. Lanzendorfer, H. Gumbel, H. Hoekstra and W. Behrens-Baumann (1997). "Povidone-iodine liposomes--an overview." Dermatology **195 Suppl 2**: 93-99.

- Rosenfeld, P. J., D. M. Brown, J. S. Heier, D. S. Boyer, P. K. Kaiser, C. Y. Chung, R. Y. Kim and M. S. Group (2006). "Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration." N Engl J Med **355**(14): 1419-1431.
- Rosenfeld, S. I., S. R. Waltman, R. J. Olk and M. Gordon (1986). "Comparison of intraocular irrigating solutions in pars plana vitrectomy." Ophthalmology **93**(1): 109-115.
- Sadaka, A., M. L. Durand and M. S. Gilmore (2012). "Bacterial endophthalmitis in the age of outpatient intravitreal therapies and cataract surgeries: host-microbe interactions in intraocular infection." Prog Retin Eye Res **31**(4): 316-331.
- Samant, P. and S. Ramugade (2014). "Successful use of intravitreal and systemic colistin in treating multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* post-operative endophthalmitis." Indian J Ophthalmol **62**(12): 1167-1170.
- Samuel, M. A., U. R. Desai, I. Strassman and M. Abusamak (2003). "Intraocular irrigating solutions. A clinical study of BSS Plus and dextrose bicarbonate fortified BSS as an infusate during pars plana vitrectomy." Indian J Ophthalmol **51**(3): 237-242.
- Schmitz, S., H. B. Dick, F. Krummenauer and N. Pfeiffer (1999). "Endophthalmitis in cataract surgery: results of a German survey." Ophthalmology **106**(10): 1869-1877.
- Schraermeyer, U., S. Julien, A. Biesemeier, K. U. Bartz-Schmidt and H. Wolburg (2015). "A new kind of labyrinth-like capillary is responsible for leakage from human choroidal neovascular endothelium, as investigated by high-resolution electron microscopy." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **253**(5): 681-689.
- Schreier, H., G. Erdos, K. Reimer, B. Konig, W. Konig and W. Fleischer (1997). "Molecular effects of povidone-iodine on relevant microorganisms: an electron-microscopic and biochemical study." Dermatology **195 Suppl 2**: 111-116.
- Schwartz, S. G., H. W. Flynn, Jr., T. Das and W. F. Mieler (2016). "Ocular Infection: Endophthalmitis." Dev Ophthalmol **55**: 176-188.
- Scott, I. U., H. W. Flynn, Jr., N. Acar, S. Dev, S. Shaikh, R. A. Mitra, J. F. Arevalo, A. Kychenthal and A. Kunselman (2011). "Incidence of endophthalmitis after 20-gauge vs 23-gauge vs 25-gauge pars plana vitrectomy." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **249**(3): 377-380.
- Scott, I. U., H. W. Flynn, Jr., S. Dev, S. Shaikh, R. A. Mitra, J. F. Arevalo, A. Kychenthal and N. Acar (2008). "Endophthalmitis after 25-gauge and 20-gauge pars plana vitrectomy: incidence and outcomes." Retina **28**(1): 138-142.

- Shah, R. E. and O. Gupta (2012). "The microsurgical safety task force: guidelines for minimizing endophthalmitis with vitrectomy surgery." Curr Opin Ophthalmol **23**(3): 189-194.
- Sharma, S., R. U. Desai, A. B. Pass and N. A. Saffra (2010). "Vancomycin-resistant enterococcal endophthalmitis." Arch Ophthalmol **128**(6): 794-795.
- Sheyman, A. T., B. Z. Cohen, A. H. Friedman and J. M. Ackert (2013). "An outbreak of fungal endophthalmitis after intravitreal injection of compounded combined bevacizumab and triamcinolone." JAMA Ophthalmol **131**(7): 864-869.
- Shi, X. Y., H. S. Zhao and W. B. Wei (2013). "Analysis of post-operative endophthalmitis after pars plana vitrectomy: a 10-year experience at a single center." Chin Med J (Engl) **126**(15): 2890-2893.
- Shimada, H., T. Hattori, R. Mori, H. Nakashizuka, K. Fujita and M. Yuzawa (2013). "Minimizing the endophthalmitis rate following intravitreal injections using 0.25% povidone-iodine irrigation and surgical mask." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **251**(8): 1885-1890.
- Shimada, H., H. Nakashizuka, T. Hattori, R. Mori, Y. Mizutani and M. Yuzawa (2008). "Incidence of endophthalmitis after 20- and 25-gauge vitrectomy causes and prevention." Ophthalmology **115**(12): 2215-2220.
- Shirodkar, A. R., A. Pathengay, H. W. Flynn, Jr., T. A. Albin, A. M. Berrocal, J. L. Davis, G. A. Lalwani, T. G. Murray, W. E. Smiddy and D. Miller (2012). "Delayed- versus acute-onset endophthalmitis after cataract surgery." Am J Ophthalmol **153**(3): 391-398 e392.
- Sickel, W. (1965). "Respiratory and Electrical Responses to Light Simulation in the Retina of the Frog." Science **148**(3670): 648-651.
- Sickel, W. (1966). The isolated retina maintained in a circulating medium; combined optical and electrical investigation of metabolic aspects of the generation of the electroretinogram. . In. Clinical Electroretinography, Proceedings of the Third International Symposium. Oxford, UK, Pergamon Press: 115-124.
- Sigford, D. K., S. Reddy, C. Mollineaux and S. Schaal (2015). "Global reported endophthalmitis risk following intravitreal injections of anti-VEGF: a literature review and analysis." Clin Ophthalmol **9**: 773-781.
- Simunovic, M. P., R. B. Rush, A. P. Hunyor and A. A. Chang (2012). "Endophthalmitis following intravitreal injection versus endophthalmitis following cataract surgery: clinical features, causative organisms and post-treatment outcomes." Br J Ophthalmol **96**(6): 862-866.
- Sivak, J. G. H., K. L.; Segal, L. (1994). "Ocular lens organ culture as a measure of ocular irritancy: The effect of surfactants." Toxicol. Methods **4**(1): 56-55.

- Sridhar, J., Y. Yonekawa, A. E. Kuriyan, A. Joseph, B. J. Thomas, M. C. Liang, N. Rayess, N. Relhan, J. D. Wolfe, C. P. Shah, A. J. Witkin, H. W. Flynn, Jr. and S. J. Garg (2016). "Microbiologic Spectrum and Visual Outcomes of Acute-Onset Endophthalmitis Undergoing Therapeutic Pars Plana Vitrectomy." Retina.
- Stockton, R. A. and M. M. Slaughter (1989). "B-wave of the electroretinogram. A reflection of ON bipolar cell activity." J Gen Physiol **93**(1): 101-122.
- Storey, P., M. Dollin, N. Rayess, J. Pitcher, S. Reddy, J. Vander, J. Hsu, S. Garg and T. Post-Injection Endophthalmitis Study (2016). "The effect of prophylactic topical antibiotics on bacterial resistance patterns in endophthalmitis following intravitreal injection." Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol **254**(2): 235-242.
- Stroh, E. M. (2012). "Quinupristin/dalfopristin in vancomycin-resistant Staphylococcus aureus endophthalmitis." Arch Ophthalmol **130**(10): 1323-1324.
- Tarrago, R., J. L. Olea, C. Ramirez and L. Escudero (2017). "Endophthalmitis after intravitreal injections. Incidence, management and prognosis." Arch Soc Esp Oftalmol **92**(3): 107-111.
- Tranos, P., N. Dervenis, A. N. Vakalis, S. Asteriadis, P. Stavrakas and A. G. Konstas (2016). "Current Perspectives of Prophylaxis and Management of Acute Infective Endophthalmitis." Adv Ther **33**(5): 727-746.
- Trost, L. W., M. Kivilcim, G. A. Peyman, E. Aydin and A. A. Kazi (2007). "The effect of intravitreally injected povidone-iodine on Staphylococcus epidermidis in rabbit eyes." J Ocul Pharmacol Ther **23**(1): 70-77.
- Vaziri, K., S. G. Schwartz, K. Kishor and H. W. Flynn, Jr. (2015). "Endophthalmitis: state of the art." Clin Ophthalmol **9**: 95-108.
- Whitacre, M. M. and R. S. Crockett (1990). "Tolerance of intravitreal povidone-iodine in rabbit eyes." Curr Eye Res **9**(8): 725-732.
- Wilson, S. L., M. Ahearne and A. Hopkinson (2015). "An overview of current techniques for ocular toxicity testing." Toxicology **327**: 32-46.
- Wu, L., M. H. Berrocal, J. F. Arevalo, C. Carpentier, F. J. Rodriguez, A. Alezzandrini, M. E. Farah, J. A. Roca, M. Maia, M. Saravia, V. Morales-Canton, F. Graue-Wiechers and J. A. Cardillo (2011). "Endophthalmitis after pars plana vitrectomy: results of the Pan American Collaborative Retina Study Group." Retina **31**(4): 673-678.
- Wykoff, C. C., M. B. Parrott, H. W. Flynn, Jr., W. Shi, D. Miller and E. C. Alfonso (2010). "Nosocomial acute-onset postoperative endophthalmitis at a university teaching hospital (2002-2009)." Am J Ophthalmol **150**(3): 392-398 e392.

Yannuzzi, N. A., N. Si, N. Relhan, A. E. Kuriyan, T. A. Albini, A. M. Berrocal, J. L. Davis, W. E. Smiddy, J. Townsend, D. Miller and H. W. Flynn, Jr. (2017). "Endophthalmitis After Clear Corneal Cataract Surgery: Outcomes Over Two Decades." Am J Ophthalmol **174**: 155-159.

8 Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in dem Forschungsinstitut für Augenheilkunde der Universitäts-Augenklinik Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. med. Kai Januschowski und Dr. med. Sebastian Müller durchgeführt.

Die elektronen- und lichtmikroskopischen Aufnahmen erfolgten unter Anleitung und Betreuung von Dr. rer. nat. Antje Biesemeier.

Sämtliche Versuche wurden von mir durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte durch mich. Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Die Abbildung 1: „Aufbau des Modells der isolierten und perfundierten Retina“ wurde von Frau Regina Ebenhoch im Department für Augenheilkunde entworfen.

Tübingen, den 12.12.2018

Mitkate

9 Danksagung

Ich danke meiner Familie, die mir das Studium ermöglicht und auch bei der Entstehung dieser Dissertation immer Beistand geleistet hat. Ein besonderer Dank gilt meinem Freund Nicolai Reith, der mich stets mit Rat und Tat unterstützte.

Herzlichen Dank an meine Betreuer Prof. Dr. med. Kai Januschowski und Dr. med. Sebastian Müller für den Auftrag dieses Forschungsthemas und das geschenkte Vertrauen. Ich habe eine außerordentliche Betreuung bekommen und bin dafür sehr dankbar.

Für die sehr kompetente Betreuung und die Freude am Mikroskopieren danke ich Dr. rer. nat. Antje Bieseimer. Bei Frau Dr. med. vet. Quindt vom Schlachthof Gärtringen möchte ich mich für die Bereitstellung der Gewebeproben bedanken.

Nicht zuletzt danke ich dem Laborleiter Dr. rer. nat. Sven Schnichels und allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung Klinische Forschung, die ich immer in positiver Stimmung erlebt und von denen ich viel gelernt habe.