

Aus dem Institut für Hygiene und Umweltmedizin

(Direktor: Prof. Dr. med. A. Kramer)

der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

Antiseptische Wirksamkeit alkoholbasierter Antiseptika mit Zusatz von

PVP-Iod oder Chlorhexidindigluconat auf die anaerobe und aerobe

Hautflora der Schulterregion

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2019

vorgelegt von

Dorothea Daniela Dörfel

geboren am 11. September 1994

in München

Dekan: Prof. Dr. med. K. Endlich

1. Gutachter: Prof. Dr. med. A. Kramer

2. Gutachter: Prof. Dr. M. Exner

Ort, Raum: Universitätsmedizin Greifswald, Raum J02.17

Tag der Disputation: 05.03.2021

Die vorliegende Arbeit entstand in der Zeit von Juni 2016 bis Juni 2018 am Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Universitätsmedizin Greifswald und führte zur Erarbeitung folgender Publikation:

Dörfel D, Daeschlein G, Müller G, Hudek R, Assadian O, Maiwald M, Kampf G, Kohlmann T, Kramer A.

Antimicrobial efficacy of commercially available alcohol-based skin antiseptics containing either povidone iodine or chlorhexidine against aerobic and anaerobic bacterial skin flora in the shoulder region.

Veröffentlicht im Antimicrob. Resist Infect Control, 2021; 10:17

„Staunen ist der erste Schritt zu einer Erkenntnis.“

Louis Pasteur (1822-1895), franz. Chemiker und Mikrobiologe

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	1
1.1	Problemstellung.....	1
1.2	Einfluss antiseptisch remanent wirksamer Zusätze zu Alkohol basierten Formulierungen auf die SSI-Rate.....	4
1.3	Anhaltspunkte zur unterschiedlichen antiseptischen Tiefenwirkung von CHG, PVP-Iod und Alkoholen	6
1.4	Für die Hautantiseptik wichtige Eigenschaften von <i>C. acnes</i>	7
1.5	Testhierarchie zur Listung und Zulassung von Hautantiseptika	8
1.6	Zugrundeliegende Arbeitshypothesen.....	9
2	Eigene Untersuchungen.....	12
2.1	Methoden.....	12
2.1.1	<i>Testdesign</i>	12
2.1.2	<i>Ethikvotum</i>	12
2.1.3	<i>Auswahl der Probanden</i>	13
2.1.4	<i>Geprüfte Hautantiseptika</i>	14
2.1.5	<i>Versuchsdurchführung</i>	15
2.1.6	<i>Mikrobiologische Nachweistechiken</i>	20
2.1.7	<i>Statistik</i>	21
2.2	Verwendete Materialien und Chemikalien	21
2.3	Ergebnisse.....	23
2.3.1	<i>Subjektive Verträglichkeit der Antiseptik</i>	23
2.3.2	<i>Vorwerte</i>	23
2.3.3	<i>Aerobe Flora</i>	23
2.3.4	<i>Anaerobe Flora</i>	26
2.4	Diskussion.....	30
2.4.1	<i>Methode</i>	30
2.4.2	<i>Ergebnisse</i>	36
3	Schlussfolgerung.....	42

4	Zusammenfassung	44
5	Literaturverzeichnis	46
6	Anhang	59
6.1	Probandeninformation zur Teilnahme an der Studie.....	74
6.2	Selbsteinschätzungsbogen zur Hautverträglichkeit.....	79
6.3	Fotodokumentation.....	81
7	Eidesstattliche Erklärung	84
8	Lebenslauf	85

Abkürzungsverzeichnis

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V.
C.	<i>Cutibacterium (ehemals Propionibacterium)</i>
CHG	Chlorhexidindigluconat
cm	Zentimeter
d	Tag
h	Stunde
IL	Interleukin
IPA	Isopropanol-Alkohol
KbE	Koloniebildende Einheiten
KNS	Koagulase-negative Staphylokokken
KRINKO	Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert-Koch-Institut
MCT	<i>medium-chain triglycerides</i>
min	Minute
ml	Milliliter
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
NW	Nachwert

PVP-I	Povidon-Iod (oder <i>Poly(vinylpyrrolidone)-Iod</i>)
RF	Reduktionsfaktor
s	Sekunde
SD	<i>Standard deviation</i> (dt. Standardabweichung)
spp.	<i>species pluralis</i>
SSI	<i>surgical site infection</i> (dt. postoperative Wundinfektion)
SW	Sofortwert
TNF- α	Tumornekrosefaktor alpha
v/v	Volumenkonzentration
VAH	Verbund für angewandte Hygiene e.V.
w/v	Massenkonzentration
WHO	<i>World Health Organisation</i> (dt. Weltgesundheitsorganisation)

1 Einleitung und Problemstellung

1.1 Problemstellung

Unsere Haut, unser größtes Organ, stellt die „Grenze“ zur Umwelt dar. Neben Sinnesfunktionen, der Regulation von Temperatur und Wasserhaushalt, der Speicherung von Fett als Energiereserve und der Synthese von Vitamin D und der Kommunikation über Pheromone, dient die Haut der körperlichen Integrität und bildet eine Schutzbarriere vor chemischen und physikalischen Noxen sowie vor Krankheitserregern. Diese Schutzbarriere besteht nicht nur aus Hautschichten wie Epidermis und Dermis, sondern beherbergt zahlreiche kommensale Mikroorganismen, die auf Grund antimikrobiell antagonistischer Wirkungen ebenfalls vor dem Eindringen von Krankheitserregern schützen (Byrd et al, 2018). Diese physiologische Hautflora wird unterteilt in die transiente, residente und passager residente Flora (Price 1938). Zur residenten Flora gehören vor allem koagulase-negative Staphylokokken (KNS). Des Weiteren finden sich Corynebakterien, *Malassezia furfur* und *Acinetobacter spp.* Den Hauptanteil der anaeroben physiologischen Flora der Haut stellt *Cutibacterium acnes* (*C. acnes*; alte Nomenklatur *Propionibacterium acnes*; eine Untergruppe der Familie der *Propionibacteriaceae*) dar (Funke et al. 1997).

Das Mikrobiom der Haut beherbergt neben apathogenen auch potentiell pathogene Mikroorganismen. Beispielsweise zählt *Staphylococcus aureus* teils zur passager residenten Flora und kann als Kolonisation vorliegen oder aber schwere Haut- und Wundinfektionen hervorrufen. Gleiches gilt für *C. acnes* (Dréno et al,

2018). Somit können Vertreter der Hautflora bei Unterbrechung der Intaktheit der Haut z.B. nach chirurgischer Durchtrennung ein Problem darstellen. Es ist gesichert, dass Species der physiologischen Hautflora des Patienten eine maßgebliche Quelle für *Surgery Site Infections* (SSI) darstellen (Kramer et al. 2016). Oft wird die körpereigene Flora sogar als Hauptursprungsort für SSI beschrieben (Mangram et al. 1999; Bitkover et al. 2000; Kühme et al. 2007).

Seit Jahren ist bekannt, dass die tiefe Hautflora für die Hautantiseptik schwer zugänglich ist (Ulmer et al. 2014). Besonders in den Haarfollikeln finden sich anaerobe Bakterien, insbesondere *C. acnes*, die sich als ein Hauptproblem hinsichtlich Infektionen nach orthopädischen Eingriffen an der oberen Extremität herausgestellt haben (Singh et al. 2012). Aufgrund der Lokalisation in der Tiefe der Haut stellen gerade Cutibakterien in der Ätiologie von SSI ein Problem dar, was sich darin zeigt, dass sie für die meisten SSI nach Schulterrevisionsoperationen verantwortlich sind (Kelly et al. 2009, Lee et al. 2014). Kelly et al. zeigten, dass 6 von 8 intraoperativ positiv getesteten Kulturen bei Schulterrevisionsoperationen Cutibakterien aufwiesen. MRSA und CNS wurden nur in je einer der 8 intraoperativen positiven Kulturen bei insgesamt 28 Schulterrevisionsoperationen nachgewiesen. Lee et al. konnten zeigen, dass bei 7 von 10 Probanden nach Hautantiseptik mit ChlorPrep (2 % CHG in 70 % Isopropanol) Cutibakterien in der Stanzbiopsie der präparierten Haut nachweisbar waren. Auch nach perioperativer Antibiotikaprophylaxe und Hautantiseptik mit 2 % CHG in Kombination mit 70-prozentigem Isopropanol wiesen 26 von 50 Patienten an der eröffneten Schulter Propionibakterien auf (Phadnis et al. 2016). Koh et al. (2016) konnten nachweisen,

dass auch nach korrekt durchgeführter Hautantiseptik mit CHG-haltigen Antiseptika einschließlich Chloraprep® keine Eradikation von *C. acnes* gelang. Das ist insofern relevant, da bei SSI nach Schulterprothesenimplantation Cutibakterien als Haupterreger beschrieben wurden (Achermann et al. 2013). Auch vor Revisionsoperationen bei Schulterarthroplastien wurde *C. acnes* am häufigsten isoliert (Kim u. Kim 2014). Aber auch bei den im Vergleich dazu seltenen Infektionen nach Hüftendoprothesenimplantation spielt *C. acnes* eine Rolle (Tunney et al. 1999).

Cutibakterien sind nicht nur ein Problem für SSI nach Schulteroperationen und Hüftendoprothesenimplantationen, sondern auch epidurale Katheter können kolonisiert sein (Bauer et al. 1979); nach epiduraler Katheterisierung ist das Auftreten von Spondylodiscitiden durch *C. acnes* beschrieben (Halkic et al. 2001; Hernandez-Palazon et al 2003; André u. Sabej 2017). Nach einer Lumbalpunktion entwickelte sich eine Osteomyelitis durch *C. acnes* (Abolnik et al. 1995). Des Weiteren spielen die Erreger offenbar auch bei Cornea-Infektionen eine Rolle (Morel et al. 1996) und können postoperativ eine Endophthalmitis auslösen (Benz et al. 2004). Zárate et al. beschrieben 2009 einen Hirnabszess nach Resektion eines Glioblastoms, der *C. acnes* als Leitspecies aufwies. Das ist kein Einzelfall, da auch andere Autoren ZNS-Infektionen mit *C. acnes* nach neurochirurgischen Operationen beschrieben haben (Critchley u. Strachan 1996; Ghalayini et al. 2004). Selbst als Erreger einer Endokarditis wurde *C. acnes* identifiziert (Günthard et al. 1994).

Cutibakterien sind vor allem in der Tiefe der Talg- und Schweißdrüsen lokalisiert (Lange-Asschenfeldt et al. 2011) und werden im Rahmen der alkoholischen

Hautantiseptik offenbar nur unzureichend erfasst, wofür ihre Bedeutung in der Ätiologie von SSI spricht. Allerdings konnte bei der Literaturrecherche in Medline und PubMed nur eine Studie gefunden werden, in der gezielt der Einfluss der Hautantiseptik auf die Elimination von *C. acnes* in vivo untersucht wurde (Lee et al. 2014).

Da die Bedeutung derartiger Untersuchungen angesichts der Relevanz von *C. acnes* für die Ätiologie von SSI außer Zweifel steht, sollte in der vorliegenden Arbeit die Wirksamkeit von alkoholbasierten Hautantiseptika mit Gehalt an CHG bzw. PVP-Iod auf die aerobe und vor allem die anaerobe Flora verglichen werden. Für die Studie sollten Schulterabstriche gewählt werden, da es bei Schulteroperationen im Gegensatz zu Hüftoperationen vergleichsweise häufig zu SSI kommt. Als Teilfragestellung sollte der Einfluss der Einwirkzeit berücksichtigt werden.

1.2 Einfluss antiseptisch remanent wirksamer Zusätze zu Alkohol basierten Formulierungen auf die SSI-Rate

Remanente Zusätze verbessern die Wirksamkeit alkoholischer Hautantiseptika. Schon 1988 konnte Christiansen zeigen, dass bei Kontamination des Oberarms mit *S. epidermidis* der Zusatz von Octenidindihydrochlorid zur alkoholischen Formulierung zu wesentlich besseren Reduktionsraten der Hautflora führte. Dem liegt zugrunde, dass von Alkoholen nach der Verdunstung keine weitere Wirkung ausgeht, während Zusätze wie CHG und Octenidindihydrochlorid durch Bindung an die Zellmatrix und allmähliche Freisetzung eine sog. remanente Wirkung entfalten

(Larson 1988; Müller u. Kramer 2007, Koburger 2010; Swenson 2010; Maiwald 2012; Müller et al. 2014, Kramer 2015). Bei PVP-Iod wird die nachhaltige Wirkung dadurch erreicht, dass das Iod als Reaktion 2. Ordnung aus dem PVP nach dem Auftragen auf die Haut freigesetzt wird (Kramer et al. 2018). Daher sind Alkohole in Kombination mit CHG oder PVP-Iod wirksamer in Bezug auf die Prävention von SSI als ohne den Zusatz (Reichel et al. 2009, Harnoss et al. 2018). Dagegen sind wässrige Lösungen von PVP-Iod und CHG nicht ausreichend wirksam und gelten inzwischen als obsolet zur präoperativen Hautantiseptik (Arata et al. 1993; Darouiche et al. 2010; Uppal et al. 2017). CHG und PVP-Iod sind derzeit die meist genutzten Zusätze zu alkoholischen Formulierungen im chirurgischen Setting zur präoperativen Hautantiseptik (Zhang et al. 2017). Der Zusatz von 0,5 %, 1 % oder 2 % CHG erzielte in Studien wesentlich bessere Reduktionswerte als die alleinige Verwendung von Alkohol (Adams et al. 2005; Ulmer et al. 2014). Besonders die Rekolonisationsrate wurde durch Zusatz von 0,5 % CHG gesenkt (Reichel et al. 2009). Der Zusatz von 2 % CHG zu 70%igem IPA erwies sich als effektiver in der Vermeidung der Kontamination von peripheren venösen Kathetern gegenüber der alleinigen Verwendung des Alkohols (Small et al. 2008). Die sequentielle Antiseptik mit PVP-Iod-Alkohol und nachfolgend CHG-Alkohol erwies sich als signifikant wirksamer zur Prävention der Wundkontamination als die sequentielle Antiseptik nur mit PVP-Iod-Alkohol (Patrick et al. 2017). In klinischen Studien mit dem Endpunkt SSI wurde die SSI-Rate durch die Kombination von CHG mit Isopropanol im Vergleich zum Alkohol allein signifikant herabgesetzt (Bazzi et al. 2016; Harnoss et al. 2018). Wichtigster

Faktor für die Hautantiseptik bleibt allerdings der Alkohol, wobei Propanol wirksamer ist als Ethanol (Reichel et al. 2009).

1.3 Anhaltspunkte zur unterschiedlichen antiseptischen

Tiefenwirkung von CHG, PVP-Iod und Alkoholen

Auch wenn es nach der Händedesinfektion mit Ethanol, Propan-1-ol und Propan-2-ol zu einem Anstieg des Serumspiegels kommt (Kramer et al 2007, Below et al. 2012, Gessner et al. 2016), ist auf Grund der geringen Konzentration (im Serum bis maximal 1,7 mg/l) keine mikrobiozide Wirkung in der Tiefe der Haut zu erwarten. Gestützt wird diese Annahme dadurch, dass Ethanol, Propan-1-ol und Propan-2-ol $\leq 30\%$, $\leq 13\%$ bzw. $\leq 30\%$ nicht mehr mikrobiozid wirksam sind, auch die mikrobiostatische Wirksamkeit ist erst ab 10% bzw. 5% gegeben (Kramer et al. 2008).

Für CHG konnte außer bei Neonaten keine dermale Resorption nachgewiesen werden (Kramer et al. 2008). In Übereinstimmung dazu konnte an exzidiierter Haut mit Hilfe einer Diffusionskammer gezeigt werden, dass CHG nur gering in tiefere Hautschichten gelangt (Karpanen et al. 2008). Die signifikante Herabsetzung der SSI-Rate durch den Zusatz von CHG zu Propan-1-ol dürfte demzufolge auf der remanenten Wirkung von CHG gegen die oberflächlich lokalisierte Hautflora beruhen (Müller et al. 2014).

Dagegen wird PVP-Iod dermal ausgeprägt resorbiert; nach einmaliger präoperativer Hautantiseptik mit PVP-Iod wurde bei Patienten ein 7-facher Anstieg der Urin-Iod-Exkretion gemessen (Below et al. 2007). Es konnte gezeigt werden,

dass aus den Povidon (PVP)-Molekülen freigesetztes Iod in relevanten Konzentrationen zeitabhängig in alle Hautschichten eindringt (Nesvadbova et al. 2015).

Daher entschieden wir uns für den Vergleich von zwei kommerziell erhältlichen alkoholbasierten Hautantiseptika mit Zusatz von CHG (ChlorPrep®) bzw. PVP-Iod (Betaseptic®). Da die derzeit allgemein übliche Einwirkzeit der präoperativen Hautantiseptik von 2,5 min weder experimentell noch epidemiologisch begründet ist, sollte die momentan übliche Standardeinwirkzeit von 2,5 min mit der auf 30 min verlängerten Einwirkdauer mit dem Ziel verglichen werden, dadurch ggf. insbesondere die Tiefenwirkung zu verbessern.

1.4 Für die Hautantiseptik wichtige Eigenschaften von *C. acnes*

Der Gram-positive Kommensale *C. acnes* ist vor allem in den tiefen Haarfollikeln lokalisiert und bevorzugt ein anaerobes Milieu (Kirschbaum u. Kligman, 1963). Cove et al. (1983) konnten allerdings zeigen, dass *C. acnes*, wenn auch mit reduzierter Vermehrung, Sauerstoffsättigungen bis 100 % toleriert.

C. acnes wurde intensiv von Immunologen erforscht, da der Erreger das retikuloendotheliale System zu stimulieren vermag (Adlam u. Scott, 1973). Als Träger zahlreicher Pathogenitätsfaktoren kann er beispielsweise der Phagozytose entgehen und intrazellulär in Makrophagen persistieren (Webster et al. 1985). *C. acnes* produziert darüber hinaus zahlreiche Enzyme und Metaboliten, die Gewebe direkt schädigen können (Hoeffler 1977; Kabongo Muamba 1982, Allaker et al. 1987, Holland et al. 1993). Neben der Induktion von proinflammatorischen Zytokinen und

Interleukinen wie IL-8 und TNF- α (Vowels et al. 1995) scheint *C. acnes* auch das Komplementsystem auf dem klassischen sowie alternativen Weg aktivieren zu können (Webster et al. 1978). Die Summe dieser Eigenschaften dürfte für die Ätiopathogenese von SSI bedeutsam sein.

Doch nicht nur als Erreger von SSI spielt *C. acnes* eine Rolle. Auch das sogenannte SAPHO-Syndrom (synovitis, acne, pustolosis, hyperostosis and osteitis) scheint mit *C. acnes* assoziiert zu sein (Schaeferbeke et al. 1998). Ebenfalls konnte die DNA von *C. acnes* durch Eishi et al. (2002) in Lymphknoten von Patienten mit Sarkoidose nachgewiesen werden, was einen Zusammenhang möglich macht. Allerdings konnte später gezeigt werden, dass *C. acnes* auch in mediastinalen Lymphknoten und peripherem Lungengewebe vorkommt (Ishige et al. 2005).

1.5 Testhierarchie zur Listung und Zulassung von Hautantiseptika

Die Wirkungsanforderungen an Antiseptika sind in der Testhierarchie der europäischen Prüfnormen definiert. Die Wirksamkeitsprüfung von Hautantiseptika durchläuft folgende Stufen (Desinfektionsmittelkommission im VAH 2015):

- Phase 1: qualitativer Suspensionstest ohne Belastung

Testorganismen: *E. coli* K12, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*

Anforderung: kein Wachstum nach 48 h

- Phase 2, Stufe 1: quantitativer Suspensionstest mit hoher Belastung

Testorganismen: *S. aureus*, *E. hirae*, *E. coli* K12, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*,

C. albicans

Anforderung: bakterizide Wirkung 5 lg, levurozide Wirkung 4 lg¹

- Phase 2, Stufe 2: Wirksamkeit auf der Haut (Oberarm, Stirn) bei Probanden

Testanforderung: mind. 20 Probanden, davon bei mind. 18 auswertbare Ergebnisse, Vorwerte im Mittel > 2 lg, Testung gegen Referenzprodukt (70 Vol.-% Propan-2-ol)

Anforderung: Die Mittelwerte der Reduktion dürfen nicht kleiner sein als für die Referenz, wobei der Unterschied mindestens eines Mittelwerts signifikant sein muss für die Ablehnung; soll ein 24-Stundenwert gelistet werden, muss das Prüfprodukt an talgdrüsenarmer und –reicher Haut signifikant besser sein als die Referenz.

Außerdem sollen Hautantiseptika keine Resistenzentwicklung aufweisen und kein Risiko für toxische, allergische und anaphylaktische Nebenwirkungen einschließlich Langzeitnebenwirkungen wie Mutagenese, Karzinogenese und Teratogenese besitzen. Zu beachten gilt auch, dass ihre Anwendung mit hoher Akzeptanz verbunden sein soll, das betrifft z.B. fehlende Schmerzempfindung, kein störender Geruch und fehlende Austrocknung der Haut. Schließlich ist im oder am Gewebe eine gewisse Stabilität als Voraussetzung für die Wirksamkeit erwünscht.

1.6 Zugrundeliegende Arbeitshypothesen

Der Studie wurden folgende Arbeitshypothesen zugrunde gelegt:

¹ Reduktion um eine Logstufe (lg) entspricht einer Reduktion um eine Zehnerpotenz

- Durch Zusatz von CHG oder PVP-Iod zu alkoholischen Formulierungen ist eine höhere Wirkung als durch die Alkohole allein zu erwarten. Begründung: Durch Zusatz von 0,2% Mecetroniumetilsulfat, einem remanenten Wirkstoff, zu 65% w/w Propan-2-ol wurde die Wirksamkeit, die der Referenzalkohol 70% v/v Propan-2-ol % auf talgdrüsenreicher Haut nach 10 min erreicht, bereits nach 3 min erreicht (Hübner et al. 2011a). Die Kombination von 2% CHG mit 70% v/v IPA übertraf IPA im Prüfkörpertest signifikant an Wirksamkeit (Adams et al. 2005). Auch am Endpunkt SSI (Harnoss et al. 2018) und der Kolonisation peripherer Venenkatheter (Small et al. 2008) war die Kombination 2% CHG mit 70% v/v IPA wirksamer als IPA allein.
- Es ist davon auszugehen, dass die transiente Flora leichter zu entfernen ist als die anaerobe residente Flora in den tiefen Haarfollikeln, Schweiß- und Talgdrüsen (Larson 1988, Edwards et al. 2004, Gardlund 2007).
- PVP-Iod dürfte auf Grund der höheren dermalen Eindringtiefe CHG an Wirksamkeit auf die residente Hautflora übertreffen. Der Wirkungsunterschied dürfte sich besonders auf die tief gelegene anaerobe Flora auswirken.
- Als Prüfregion sollte ein Areal ausgewählt werden, in dem eine Kolonisation mit Anaerobiern typisch ist. Da nach chirurgischen Eingriffen im Schulterbereich SSI mit anaerober Ätiologie wiederholt beschrieben worden sind (Hudek et al. 2014, Kadler et al. 2016, Brolin 2017), sollte nicht die Stirn, wie in der Methode der Desinfektionsmittelkommission des VAH (2015)

vorgesehen, sondern die Schulter im Zugangsbereich für Arthroskopie und Schulterchirurgie als Prüfareal ausgewählt werden.

2 Eigene Untersuchungen

2.1 Methoden

2.1.1 Testdesign

Die Untersuchung erfolgte an 16 gesunden, freiwilligen Probanden im Cross-over-Design. Dabei wurden folgende Anwendungen verglichen:

- Applikation von Chloraprep® (Katalognummer 272815, Zulassungsnummer 71388.00.00) gefärbt mittels Applikators (30 s mechanische Applikation, anschließend 2 min benetzt halten)
- Applikation von Chlorhexidindigluconat 2 % in IPA (identische Rezeptur wie Chloraprep®) anstatt mit Applikator mittels Kornzange und Tupfer (initiale mechanische Antiseptik für 30 s, anschließend 29,5 min benetzt halten)
- Applikation von Betaseptic® mittels Kornzange und Tupfer (mechanische Antiseptik über 30 s, anschließend 2 min benetzt halten)
- Applikation von Betaseptic® mittels Kornzange und Tupfer (mechanische Antiseptik über 30 s, anschließend 29,5 min benetzt halten)

2.1.2 Ethikvotum

Das Ethikvotum wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Greifswald unter der internen Registrierungsnummer BB 071/13a unter dem Studientitel „Einfluss der Einwirkdauer zweier Hautantiseptika auf die Eindringtiefe

und auf die Elimination von Propionibakterien und Gesamtkoloniezahl der Hautflora“ erteilt.

2.1.3 Auswahl der Probanden

Die Studie erfolgte an 16 freiwilligen Probanden (7 männliche, 9 weibliche, alle kaukasischer Ethnie; davon zwei weibliche mit Akne im Schulterbereich). Der Altersdurchschnitt betrug 31,3 Jahre (Spanne zwischen 22 bis 74 Jahren).

Folgende Einschlusskriterien wurden definiert:

- Vollendetes 18. Lebensjahr
- Bestehen der allgemeinen persönlichen Geschäftsfähigkeit
- Einverständniserklärung nach Aufklärung
- Bereitschaft und Fähigkeit, die Anforderungen des Prüfplans zu erfüllen.

Die Ausschlusskriterien wurden wie folgt definiert:

- makroskopisch sichtbare Läsionen der Haut im vorgesehenen Applikationsareal
- floride Infektionen der Körperoberfläche im vorgesehenen Applikationsareal
- bekannte vorbestehende systemische Hauterkrankung
- Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb der letzten 30 Tage
- Schwangerschaft oder Stillzeit
- Schilddrüsenfunktionsstörung
- Dermatitis herpetiformis Duhring

- Überempfindlichkeit gegen Iod
- Alter unter 18 Jahre
- Radioiodtherapie
- antiseptische Maßnahme im vorgesehenen Applikationsareal der Haut innerhalb der letzten 7 Tage
- letzte Gabe systemischer Antibiotika vor ≤ 7 Tagen.

Nur Probanden, die die Einschlusskriterien erfüllten und keine Ausschlusskriterien aufwiesen, wurden in die Studie aufgenommen und fortlaufend, beginnend mit 1, nummeriert. Die Nummern wurden auf den Prüfbögen notiert, sodass die Proben anonymisiert einem Probanden zuordenbar blieben.

2.1.4 Geprüfte Hautantiseptika

Die Versuche wurden mit folgenden drei zugelassenen Hautantiseptika durchgeführt:

ChloroPrep® gefärbt: Enthält 2 % w/v Chlorhexidindigluconat in IPA 55 % w/v (70 % v/v) und den Lebensmittelfarbstoff Gelborange S (E110) (Hersteller: CareFusion, Leawood, USA, Artikelnummer 272815, Chargennummer 85412). Die Anwendung des 26 ml Applikators (für eine Fläche bis zu 50 x 50 cm vorgesehen) erfolgte gemäß Herstellerangabe. Zu Beginn wurde der Applikator nach unten gehalten und die Ampulle durch Eindrücken des vorgesehenen Zackens geöffnet, wodurch sich der Schwamm durch leichte mechanische Applikation auf der Haut vollständig mit dem Hautantiseptikum füllte. Es erfolgte die mechanische Abreibung

des vorgesehenen Schulterareals über 30 s. Anschließend wurde der Bereich für 2 min mit dem Antiseptikum benetzt gehalten.

Chlorhexidin 2 % in IPA: Enthält 2 % w/v Chlorhexidindigluconat in IPA 55 % w/v (70 % v/v) (Hersteller: B.Braun Schweiz, REF: 19534). Das Antiseptikum wurde parallel im Cross-over Design mittels steriler Kornzange und sterilem Schlinggaze-Pflaumentupfer mechanisch für 30 s appliziert. Anschließend wurde das Applikationsareal mittels steriler benetzter Auflage für 29,5 min ohne Mechanik benetzt gehalten.

Betaseptic®: Enthält 3,24 % w/v PVP-I, 38,9 % w/v IPA und 37,3 % w/v Ethanol (Hersteller: Mundipharma, Limburg, Deutschland, PZN-04426670). Die Anwendung erfolgte zum einen analog zur Antiseptik mit Chlorhexidin 2% IPA. Zusätzlich erfolgte die Durchführung einer 30 s mechanischen Antiseptik, gefolgt von einer Einwirkdauer von 2 min.

2.1.5 Versuchsdurchführung

Entsprechend der Zugänge für die Schulterarthroskopie wurde die Antiseptik delto-pektoral bzw. antero-lateral durchgeführt (Abbildung 1). Die Antiseptik erfolgte, wie es der Standard vorsieht, zunächst mittels mechanischer Applikation und anschließender Benetzung mit dem Hautantiseptikums (Ulmer et al. 2014).



Abbildung 1: Beprobtes Hautareal

2.1.5.1 Probengewinnung

Die Probenentnahme erfolgte gemäß der ASTM-Methode (E1874-14, ASTM 2014), die maßgeblich von Williamson und Klingman (1965) entwickelt wurde und auch die tiefe Hautflora erfasst. Hierzu wurde ein steriler Metallzylinder auf die intakte Haut gedrückt und mit 1 ml steriler 0,9% NaCl-Lösung gefüllt. Daraufhin erfolgte das Abreiben der Hautoberfläche mit einem sterilen Glasstab für 60 s, um Teile der tiefen Hautflora freizusetzen. Hiervon wurden jeweils 0,4 ml entnommen und in 3,6 ml Enthemer (Lipofundin MCT 20% für die chlorhexidinhaltigen Prüfpräparate und 3 % Tween 80, 0,3 % Lecithin, 0,1% L-Histidin, 0,5% Natriumthiosulfat für die PVP-iodhaltigen Antiseptika) überführt. Die erste

Verdünnung stellte somit 10^{-1} dar. Hiervon wurde je 1 ml in 9 ml sterile NaCl 0,9 % - Lösung gegeben, um Verdünnungen bis 10^{-3} herzustellen.

Die Effektivität der Neutralisation wurde separat in Vorversuchen von Dr. Gerald Müller gemäß ASTM E1054-08 (ASTM 2013) validiert und als Grundlage für die Wirkungsprüfung in Dörflinger et al. (submitted) in die Methodendarstellung aufgenommen.

2.1.5.2 Ablauf der Probenentnahme

Vor jeder Antiseptik wurde zunächst eine Probe zur Ermittlung des Vorwerts von der Probandenschulter genommen. Diese wurde, wie später die Proben für die Sofort- und Nachwerte (3h-Werte), in Enthemmer überführt, und es erfolgten die oben beschriebenen Verdünnungen sowie das Ausplattieren auf Schädler- sowie Columbia-Agar.

Direkt nach der Hautantiseptik wurde der sogenannte Sofortwert nach beschriebener Methode generiert. Vor Entnahme wurde ein Bereich des antiseptisch behandelten Areals mit einem sterilen Duschpflaster abgedeckt. Nach Ablauf von 3 h wurde das Duschpflaster entfernt und von der steril abgedeckten Stelle nach beschriebenenem Verfahren der sogenannte 3h-Wert gewonnen.

2.1.5.3 Durchführung der Hautantiseptik

Die Reihenfolge der Antiseptik wurde, dem Cross-over-Design entsprechend, variiert, so begannen einige Probanden an Tag 1 mit den Verfahren mittels Betaseptic® und die antiseptischen Verfahren mit ChloraPrep® sowie Chlorhexidin 2 % in IPA erfolgten am Tag 4. Andere erhielten am Tag 1 die halbstündige

Antiseptik mit Chlorhexidin 2 % in IPA sowie die halbstündige Antiseptik mittels Betaseptic® und an Tag 4 die Antiseptik mit ChloraPrep® mittels Applikators sowie die 2,5-minütige Antiseptik mit Betaseptic®. Exemplarisch ist im Folgenden der Ablauf für Proband 1 skizziert (nähere Beschreibung siehe Tabelle 5 im Anhang).

Im Cross-over-Design wurde bei Proband 1 am Tag 1 auf einer Schulter zunächst mit ChloraPrep® mittels Applikator die Antiseptik mit einer Einwirkzeit von 2 min durchgeführt sowie auf der anderen Schulter die Antiseptik mit CHG 2 % in IPA mit einer Einwirkzeit von 30 min. Hierfür wurde das Hautareal zunächst 30 s mit sanftem Druck abgerieben und anschließend für die entsprechende Einwirkzeit benetzt gehalten. Im Anschluss wurde das Antiseptikum trocknen gelassen und es erfolgte die Probengewinnung für den Sofortwert, der wie jeder generierte Wert verarbeitet und ausgewertet wurde (siehe oben und siehe mikrobiologische Nachweistechiken). Noch vor der Entnahme erfolgte ohne Kontakt zur antiseptisch behandelten Haut die Applikation eines Duschpflaster auf einem 4x4 cm großen Areal, um den Wert nach 3 h ohne Kontamination seitens Kleidung und umliegender Haut zu erhalten. Für die verlängerte Einwirkzeit wurde eine sterile Auflage, die mit dem Antiseptikum getränkt war, für 30 min auf der Schulter belassen.

In Vorversuchen wurde getestet und sichergestellt, dass die Schulter während dieser Zeit feucht mit dem Antiseptikum benetzt bleibt.

Nach 29,5 min wurde die mit dem Antiseptikum benetzte Auflage entfernt und das Antiseptikum 30 s trocknen lassen, woraufhin dann die Abnahme des

Sofortwerts erfolgte. Auch hier wurde vor Abnahme wieder ein Duschpflaster ohne Berührung der umliegenden Haut zur Generierung des 3-h-Wertes appliziert.

Am Tag 4 wurde die noch ausstehende Antiseptik mit Betaseptic® durchgeführt. Hier wurde nach Abnahme des Vorwerts ebenfalls für 30 s mittels Kornzange und Tupfer eingerieben und es erfolgte mit der sterilen Auflage wieder das Benetzthalten eines Hautareals für 29,5 min. Nach 30 s Lufttrocknung wurde das sterile Duschpflaster appliziert und der Sofortwert entnommen. Die andere Schulter des Probanden wurde an Tag 4 für 30 s mechanisch antiseptisch mit Betaseptic® behandelt und danach für die Dauer von 2 min mittels steriler Auflage feucht gehalten. Nach 30 s trocknen lassen erfolgte wiederum, wie beschrieben, die Applikation eines Duschpflasters und die Generierung des Sofortwerts.

Unabhängig vom Vorgehen wurde jeder Proband jeweils 3 h nach initialer Antiseptik wieder einbestellt und nach beschriebenem Verfahren der 3-Stunden-Wert abgenommen. Dieser Wert wurde aus einem Gebiet abgenommen, das initial antiseptisch behandelt worden war und direkt nach der Einwirkzeit mit einem sterilen Duschpflaster wie beschrieben abgedeckt wurde, sodass eine dreistündige Situation unter aseptischen Bedingungen simuliert wurde.

2.1.5.4 Probandenbefragung

Die Probanden erhielten einen Fragebogen (siehe Anhang), in dem angegeben werden sollte, ob Hautirritationen wie Jucken oder Rötung aufgetreten waren. Die Probanden wurden angehalten, auf Symptome bis 24 h nach der Applikation zu achten. Falls Hautirritationen oder Symptome auftreten sollten, wurde um

Rückmeldung gebeten, und es wurde die Verifizierung und Untersuchung sowie ggf. Therapie durch den Prüfarzt angeboten.

2.1.6 Mikrobiologische Nachweistechiken

Die Verdünnungen von 10^{-1} bis 10^{-3} wurden auf Columbia-Agar für die aerobe Bebrütung und auf Schädler-Agar für die anaerobe Bebrütung mit je 0,1 ml ausplattiert. Somit ergaben sich sechs Platten (drei aerobe Columbia-Agar-Platten und drei Schädler-Agar-Platten für die anaerobe Bebrütung) pro generiertem Wert.

Die Bebrütung des Columbia-Agars erfolgte für 2 d bei 37 °C im Brutschrank.

Der Schädler-Agar wurde für 7 d bei 37 °C in Anaerobierboxen bebrütet, um insbesondere das Wachstum der Cutibakterien zu gewährleisten. Die Kontrolle des anaeroben Milieus erfolgte mittels Indikatorstäbchen (Anaerotest®).

Die aeroben Platten wurden nach Ablauf der zweitägigen Bebrütungszeit visuell ausgezählt.

Die anaeroben Platten wurden dem Labor nach anaerober Kultivierung und visueller Auszählung anonymisiert übergeben. Von den koloniebildenden Einheiten (KbE) wurden Gram-Färbungen von mir angefertigt, ausgewertet und dem Laborleiter (Prof. Dr. Georg Daeschlein) zur Nachkontrolle anonymisiert übergeben. Zusätzlich erfolgten VITEK®-Analysen der anaeroben KbE verblindet von einem unabhängigen Untersucher (Prof. Dr. med. Georg Daeschlein).

Die Verifizierung der Propionibakterien erfolgte somit mittels Gram-Färbung und damit verbundener Mikroskopie sowie VITEK®-Analyse.

2.1.7 Statistik

Die statistische Auswertung der Rohdaten erfolgte mittels GraphPad Prism® (GraphPad, La Jolla, CA, USA). Als statistisch signifikant wurde ein $p \leq 0,05$ bei einem alpha von 5 % im Mann-Whitney- oder Wilcoxon-Test angesehen. Die Fallzahlkalkulation basierte auf 2-seitigem, gepaartem t-Test mit $p = 0,05$. Die Kalkulation ergab, dass eine Anzahl von 11 bis 16 Probanden nötig war, um Unterschiede mit einer Power von 80 % zu detektieren.

2.2 Verwendete Materialien und Chemikalien

- Columbia-Agar mit 5% Schaf-Blut (VWR International GmbH; Ref. 100253ZF)
- Schädler-Agar mit 5% Schafsblut (BioMérieux; Ref. 43401)
- Lipofundin MCT 20% (B. Braun, PZN: 3200001)
- Tween 80 BioChemica (AppliChem GmbH, Ref. A1390,0500)
- Lecithin (AppliChem GmbH, Ref. A2218)
- L-Histidin (Carl Roth GmbH + Co. KG, Ref. 1696.1)
- Natriumthiosulfat mit 5 H₂O (Merck KGaA, Ref. 106516.0500)
- Indikatorstäbchen *Mikrobiology Anaerotest* (Merck KGaA, Ref. 115112.0001)
- GENbox anaer, Packungen á 10 Generatoren (BioMérieux, Ref. 96124)
- Anaerobierbeutel *Mikrobiology Anaerocult A mini* (Merck KGaA, Ref. 101611.0001)
- sterile Auflagen *Zetuvit® Saugkompressen 20x40 cm* (Paul Hartmann AG, Ref. 413704)

- VITEK®-Karten ANC (BioMérieux, Ref. 21347)
- sterile NaCl-Lösung (0,9%), Ecotainer® 1000 ml (B. Braun Melsungen AG, Ref. 3570160)
- sterile Duschpflaster *Hydrofilm® Transparentverband 12x25 cm* (Paul Hartmann AG, Ref. 6857640)
- sterile Schlinggazetupfer (Fuhrmann GmbH, Ref. 32010)
- sterile Glasstäbchen (hitzesterilisierbar)
- sterile Metallzylinder (dampfsterilisiert)
- sterile Kornzangen (dampfsterilisiert)
- Einmal-Ausplattier-Spatel L-Form (VWR International GmbH, Ref. 612-1561P)
- GENbox Anaerobiertopf 7,0l (BioMérieux Ref. 96128)
- sterile Tubes *13 ml, 95 x 16,8 mm, Rundboden, Polystyren* (Sarstedt AG & Co. KG, REF 55.468.005)
- Objektträger 76 x 26 mm (VWR International GmbH, Ref. 631-1550)
- Gramfärbe-Set (Hersteller: BD, BBL Gram Crystal Violet REF: 212525, BBL Gram Iodine Stabilized REF: 212542, BBL Gram Decolorizer REF: 212527, BBL Gram Safranin REF: 212531)
- Stopp-Uhr.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Subjektive Verträglichkeit der Antiseptik

Jede Form der Antiseptik wurde unabhängig von der Einwirkzeit von allen Probanden reizlos toleriert und es kam zu keinerlei negativen Erscheinungen. Das Hautbild veränderte sich nicht, d.h. es traten insbesondere keinerlei Rötungen, Schuppungen oder Ähnliches auf. Eine Probandin mit Akne im Schulterbereich berichtete, dass sich durch die Antiseptik mit dem Chlorhexidin haltigen alkoholischen Antiseptikums über 30 min subjektiv das Hautbild im behandelten Schulterbereich für einige Tage gebessert hatte.

2.3.2 Vorwerte

Wie für ein Cross-over-Design erforderlich, unterschieden sich die an Tag 1 bzw. an Tag 4 erhobenen Vorwerte weder bei den aeroben noch bei den anaeroben Vorwerten signifikant. Der Mittelwert der aeroben Werte an Tag 1 betrug 2,2 log (SD 0,8), an Tag 4 2,2 log (SD 0,88). Der Mittelwert der anaeroben Werte an Tag 1 betrug 3,7 log (SD 1,47), an Tag 4 3,8 log (SD 1,44).

2.3.3 Aerobe Flora

Die aerobe Flora bestand zu $\geq 70\%$ aus koagulase-negativen Staphylokokken (hauptsächlich *S. saprophyticus* und *S. lugdunensis*). Vereinzelt fanden sich *Micrococcus luteus*, *S. aureus* und *Malassezia furfur*.

Bezüglich der nach der Hautantiseptik verbleibenden aeroben Kolonisation ließ sich kein signifikanter Unterschied in der Einwirkzeit oder Wahl des Antiseptikums nachweisen.

Sofortwerte ohne jegliche aerobe Kolonisation waren nach Anwendung des Chloraprep®-Applikators bei 13 der 16 Probanden zu finden, nach halbstündiger Antiseptik mit dem chlorhexidinhaltigen Antiseptikum bei allen Probanden (Tabelle 1 sowie Tabelle 6 und Tabelle 8 im Anhang).

Bei Betaseptic® unterschied sich der Einfluss insofern, als dass direkt nach der kurzen Einwirkzeit von 2,5 min die oberflächliche Flora komplett eliminiert war, während nach 30 min Einwirkzeit im Sofortwert bei einem Probanden eine KbE nachweisbar war (Tabelle 1, Tabelle 7 und Tabelle 9 im Anhang).

Die Elimination der aeroben Flora gelang bei allen Prüfpräparaten unabhängig davon, wie viele koloniebildende Einheiten initial nachweisbar waren. Das heißt, jedes der vier getesteten antiseptischen Verfahren vermochte auch eine massive aerobe Kolonisation selbst nach kurzer Antiseptik zu eliminieren.

Nach 3 h war bei keinem der Antiseptika ein signifikantes Wiederauftreten der aeroben Hautflora nachweisbar. Bezüglich der aeroben Sofortwerte erwies sich die Antiseptik mittels des PVP-Iod-haltigen Alkohols über 2,5 min als statistisch signifikant besser wirksam als die Antiseptik über 2,5 min mittels des CHG-Alkohols ($p = 0,035$). Weitere Unterschiede in den erreichten Reduktionsfaktoren ließen sich zwischen den Verfahren und Antiseptika nicht finden. Die verlängerte Einwirkzeit führte weder bei der PVP-Iod-haltigen noch bei der CHG-haltigen Antiseptik zu statistisch signifikant besseren Ergebnissen ($p = 0,087$ und $p = 0,3726$).

Table 1: Wirksamkeit der Antiseptik auf die aerobe Flora (log₁₀ KbE je ml und 5 cm²):

Alkoholische Antiseptik mit	Einwirkzeit (min)	Vorwerte (log ₁₀)	Sofortwerte (log)		Nachwerte (log)	
			RF*	n**	RF*	n**
CHG	2,5	2,26±0,93	1,94±0,91	13	1,74±1,08	10
	30	2,17±0,73	2,17±0,73	16	1,93±0,92	13
PVP-I	2,5	2,55±0,75	2,55±0,75	16	2,25±1,05	13
	30	2,20±0,87	2,11±0,93	15	1,94±1,11	13

* Mittelwert und Standardabweichung

** Probanden ohne Nachweis von KbE

Table 2: p-Werte der aeroben Flora (gerundet)

Vergleich PVP-I- Alkohol mit CHG- Alkohol	CHG + Alkohol 2.5 min Einwirkzeit		CHG + Alkohol 30 min Einwirkzeit	
	Sofortwert	Nachwert	Sofortwert	Nachwert
PVP-I + Alkohol 2,5 min Einwirkzeit	0,035	0,08	0,13	0,14

PVP-I + Alkohol	0,78	0,53	0,54	0,95
30 min Einwirkzeit				

2.3.4 Anaerobe Flora

Auf den anaeroben Platten bildeten leicht erhabene rosa-weißliche koloniebildende Einheiten die dominierenden KbEs. Mikroskopisch handelte es sich um Gram-positive Stäbchenbakterien, die bei jedem Probanden die führende Species darstellten und bei jedem Probanden nachweisbar waren. Vereinzelt waren initial ebenfalls kleine weiße Kolonien kultivierbar (diese stellten sich als KNS heraus); allerdings fanden sich diese nicht mehr auf den Platten der Sofort- bzw. 3h-Werte.

Die Auswertung der VITEK®-Analysen der anaeroben KbE bestätigte auf allen Platten das Vorhandensein von *C. acnes*; diese waren bei 12 von 16 Probanden die einzigen vorliegenden KbE und stellten bei allen Probanden die vorherrschende anaerobe Flora dar.

Bei den anaeroben Werten ließ sich hinsichtlich der Sofortwerte zeigen, dass das Auftragen des PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums mit Kornzange und Tupfer sowohl mit der Einwirkzeit von 2,5 min als auch von 30 min statistisch signifikant wirksamer im Hinblick auf die Reduktion der anaeroben Hautflora (*C. acnes*) war als das chlorhexidinhaltige alkoholische Hautantiseptikum bei den gleichen Einwirkzeiten (Tabelle 3Tabelle 4). Nach Anwendung des PVP-Iod-haltigen

alkoholischen Antiseptikums für 2,5 min bzw. 30 min waren bei 12 bzw. 13 von 16 Probanden im Sofortwert keine Anaerobier nachweisbar (Tabelle 3). Dagegen waren nach Anwendung des chlorhexidinhaltigen alkoholischen Antiseptikums für die Dauer von 2,5 min bzw. 30 min nur bei 6 bzw. 7 von 16 Probanden im Sofortwert keine Anaerobier nachweisbar (siehe Tabelle 3). In Bezug auf die anaeroben Sofortwerte ließ sich nicht zeigen, dass es durch die Verlängerung der Einwirkzeit des chlorhexidinhaltigen alkoholischen Antiseptikums zu einer signifikant höheren Reduktion der anaeroben Hautflora kommt ($p = 0,36$).

Die Duschpflaster über dem Entnahmeareal für den 3-h-Wert waren nach Ablauf der 3 h bei allen Probanden festklebend am Ursprungsort sitzend und nicht sichtbar verrutscht, perforiert oder abgelöst.

In Hinblick auf die 3-h-Werte ließ sich zeigen, dass das Einwirken des PVP-Iodhaltigen alkoholischen Antiseptikums über 29,5 min nach initialem Einreiben mit Kornzange und Tupfer statistisch zu einer signifikant höheren Reduktion der anaeroben Hautflora, insbesondere von *C. acnes*, im Vergleich zu Chloraprep® mit 2,5 min Einwirkzeit führt (Tabelle 3 Tabelle 4). Auch die Benetzung mit dem identischen chlorhexidinhaltigen alkoholischen Antiseptikums für 29,5 min nach initialem Einreiben mit Kornzange und Tupfer anstatt mit dem Applikator war signifikant schlechter wirksam als das 29,5-minütige Einwirken des PVP-Iodhaltigen Antiseptikums mit gleichem Auftragungsmodus hinsichtlich der Reduktion der anaeroben Hautflora. Nach Antiseptik mit dem chlorhexidinhaltigen alkoholischen

Antiseptikum über 2,5 min waren bei 4 von 16 Probanden im Nachwert (nach 3h) keine Anaerobier nachweisbar; bei Anwendung über 29,5 min waren bei 7 der 16 Probanden keine Anaerobier im Nachwert nachweisbar. Nach Anwendung des PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums waren nach 2,5 min Anwendungsdauer bei 4 von 16, nach 29,5 min Anwendungsdauer bei 10 der 16 Probanden im Nachwerte keine Anaerobier nachweisbar (Tabelle 3).

Tabelle 3: Wirksamkeit der Antiseptik auf die anaerobe Flora (log₁₀KbE je ml und 5 cm²)

Alkohol mit	Einwirkzeit (min)	Vorwerte (log ₁₀)	Sofortwerte (log ₁₀)		Nachwerte (log ₁₀)	
			RF*	n**	RF*	n**
CHG	2,5	3,99±1,52	1,74 ¹ ±1,24	6	1,46 ^{3,4} ±1,23	4
	30	3,55±1,52	1,38 ² ±1,16	7	1,59 ⁵ ±1,85	7
PVP-I	2,5	4,24±1,27	3,96 ¹ ±1,46	12	2,14 ⁴ ±1,65	4
	30	3,50±1,40	3,14 ² ±1,20	13	2,71 ^{3,5} ±1,36	10

* Mittelwert und Standardabweichung

** Probanden ohne Nachweis von KbE

Tabelle 4: *p*-Werte für die Reduktion der anaeroben Flora

Vergleich von PVP-I- Alkohol mit CHG- Alkohol	CHG + Alkohol 2.5 min Einwirkzeit		CHG + Alkohol 30 min Einwirkzeit	
	Sofortwert	Nachwert	Sofortwert	Nachwert
PVP-I + Alkohol 2,5 min Einwirkzeit	<0,0001	0,30	<0,0001	0,28
PVP-I + Alkohol 30 min Einwirkzeit	0,0043	0,0077	0,0002	0,0346*

*Vergleich der Nachwerte ohne Nachweis von KbE

Die Reduktion der anaeroben Hautflora mit vorrangig *C. acnes* unterschied sich nach Anwendung von ChloroPrep® für 2,5 min und dem chlorhexidinhaltigen alkoholischen Antiseptikums für 29,5 min nicht ($p = 0,87$). Auch die Verlängerung der Einwirkzeit des PVP-I-haltigen Alkohols führte nicht zu einem statistisch signifikant höheren Reduktionsfaktor ($p = 0,24$), jedoch zu tendenziell mehr Probanden ohne Nachweis von KbE (Tabelle 3).

Bei 6 der 16 Probanden gelang mit dem chlorhexidinhaltigen Antiseptikum weder bei der Einwirkzeit von 2,5 noch von 30 min die komplette Elimination von *C. acnes* auf der Hautoberfläche. Dagegen erreichte die Hautantiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen alkoholischen Präparat über 30 min bei allen 6 Probanden Sofortwerte, die frei von anaeroben KbE waren. Bei 3 dieser Probanden waren auch bei der Erhebung der Nachwerte nach 30 min keine Anaerobier kultivierbar.

2.4 Diskussion

2.4.1 Methode

Als Standardverfahren der präoperativen Hautantiseptik mit alkoholischen Antiseptika haben sich das initiale Einreiben des Antiseptikums mittels Kornzange und Tupfer für 30 s und die nachfolgende Benetzung des OP-Felds mit dem Antiseptikum für 2 min etabliert (Ulmer et al. 2014). Mit der Einführung von Chloraprep® kann die Applikation mit Kornzange und Tupfer durch einen Applikator ersetzt werden, wodurch die Standardisierbarkeit der Applikation verbessert wird. Sowohl die KRINKO-Empfehlung „Prävention postoperativer Wundinfektionen“ (2018) als auch die Leitlinie „Postoperative Wundinfektionen: Strategien zur Prävention“ des Arbeitskreises Krankenhaus- und Praxishygiene der AWMF empfehlen zur präoperativen Hautantiseptik alkoholbasierte Formulierungen mit Zusatz eines remanenten Wirkstoffs (genannt werden Octenidin und CHG) oder mit Zusatz von PVP-Iod, abgeleitet aus der Studie von Swenson et al. (2009) jeweils unter Beachtung der vom Hersteller angegebenen Einwirkzeit, die gemäß Desinfektionsmittel-Liste des VAH (2018) auf talgdrüsenreicher Haut länger ist als auf talgdrüsenarmer Haut. Grundlage für die Empfehlung der längeren Einwirkzeit auf talgdrüsenreicher Haut sind auf der Stirn generierte Prüfergebnisse im Vergleich zum Oberarm als Testareal. Das Referenzprodukt Propan-2-ol 70 Vol.-% wird für 10 min geprüft. Je nach Wirksamkeit ergeben sich für die Handelsprodukte in der aktuellen Desinfektionsmittel-Liste Einwirkzeiten von 1; 2; 2,5; 3 bzw. 10 min. Für zwei Produkte ist die kürzere Einwirkzeit von 2,5 bzw. 3 min nicht nur gutachterlich

belegt, sondern auch publiziert worden (Kampf et al. 2007; Hübner et al. 2011b). Im Prüfmodell der Hautantiseptik des VAH wird allerdings nur aerob bebrütet, sodass keine Aussage zur Elimination der anaeroben Hautflora möglich ist. Hinzu kommt, dass die Hautflora nur durch Abstrich von der Hautoberfläche gewonnen, aber nicht aus der Tiefe mobilisiert wird. Damit bleibt offen, ob es zu einer Beeinflussung der tiefer gelegenen residenten Hautflora kommt.

Klinische Studien zur Effektivität einer 10 bzw. 30 min Einwirkzeit zur präoperativen Antiseptik auf talgdrüsenreicher Haut konnten wir nicht recherchieren. Ebenfalls fehlen bisher Studien, die die anaerobe tiefe Hautflora bei unterschiedlichen Einwirkzeiten untersucht haben.

Wir entschieden uns, als Prüfregion für die Hautantiseptik die Schulterregion zu wählen, weil aus der Literatur bekannt ist, dass der Schulterbereich aufgrund der hohen Dichte an Haarfollikeln und den damit assoziierten Talgdrüsen besonders dicht mit *C. acnes* kolonisiert ist (Patel et al. 2009).

Da bisher nicht untersucht wurde, ob eine Verlängerung der derzeit üblichen Praxis der präoperativen Hautantiseptik von 2,5 min Einwirkzeit zu höherer Effektivität in Bezug auf die Reduktion tieferer Anteile der Hautflora führt, entschlossen wir uns, die Einwirkzeit nach 30 s mechanischer Antiseptik mittels Benetzung auf 29,5 min zu verlängern und mit der Benetzungszeit von 2,5 min zu vergleichen. Dem lag der Gedanke zugrunde, dass eine derart drastische Verlängerung der Einwirkzeit möglicherweise zur zeitweiligen kompletten

Elimination der anaeroben tiefen Hautflora führt und dadurch *C. acnes* als Problemerreger für SSI speziell in der Schulterchirurgie eliminiert wird. Aufgrund der Aussage von Dr. med. Robert Hudek (Klinik für Schulterchirurgie, RHÖN-KLINIKUM AG in Bad Neustadt a.d. Saale), dass eine auf 30 min verlängerte Einwirkzeit klinisch vertretbar ist, sofern dadurch eine signifikant höhere Wirksamkeit erreichbar ist, entschieden wir uns für die Prüfung 2,5 min vs. 30 min. Abhängig vom Ergebnis können Nachfolgestudien gezielt Einwirkzeiten zwischen 2,5 und 30 min untersuchen.

Aufgrund der von uns angenommenen Tiefenwirkung des aus dem PVP freigesetzten Iods entschieden wir uns, zusätzlich zu dem von der WHO empfohlenen chlorhexidinhaltigen alkoholischen Hautantiseptikum die Kombination von PVP-Iod mit Alkohol (Betaseptic®) zu testen. Da alkoholische Formulierungen, wie eingangs erläutert, unerlässlich zur Erreichung einer ausreichenden antiseptischen Wirksamkeit sind, verzichteten wir darauf, die Zusätze CHG und PVP-Iod zusätzlich in wässriger Lösung zum Vergleich zu testen.

Zur Antiseptik verwendeten wir die forcierte mechanische Applikation, da sie sich in bisherigen Studien als überlegen gegenüber der oberflächlichen Benetzung gezeigt hat (Ulmer et al. 2014). Des Weiteren erschien es uns wichtig, den 3-h-Wert (Nachwert) nach Applikation zu generieren, da es kaum Publikationen gibt, die zeigen, ob und inwiefern die tiefe Hautflora und auch die oberflächliche Hautflora nach initial erfolgreicher Antiseptik während einer Operation wieder in Erscheinung

tritt. Bei Anwendung nicht mit einem Antiseptikum imprägnierter Inzisionsfolie wurde die Rekolonisation über einen Zeitraum von 60 min beobachtet (Fleischmann et al. 1996, Falk-Brynhildsen et al. 2013). Im Ergebnis zeigten sich signifikant mehr positive Kulturen bei der Verwendung der Folie als ohne Abdeckung, was zu der Vermutung führte, dass Inzisionsfolien die Rekolonisation beschleunigen. Die erhöhte Rekolonisation war mit einem Anstieg von SSI verbunden (Webster u. Alghamdi 2013). Ist die Inzisionsfolie mit Iod imprägniert, ist die SSI-Rate im Vergleich zum Einsatz nicht imprägnierter Folie signifikant geringer (Bejko et al. 2015). Insofern erschien auch unter diesem Gesichtspunkt der Einsatz eines Alkohols mit Zusatz von PVP-Iod aussichtsreich, um die Rekolonisation zu reduzieren.

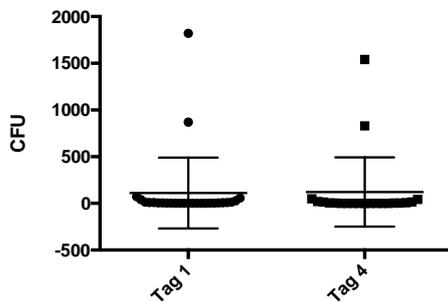
Die Bedeutung der Freisetzung der körpereigenen physiologischen Flora über 3 h Stunden an die Hautoberfläche liegt auf der Hand, weil Operationen oft diese Zeitdauer erreichen oder überschreiten.

Da Cutibakterien, wie eingangs erläutert, schwer verlaufende SSI hervorrufen können, entschieden wir uns, die anaerobe Hautflora als Hauptzielgröße bei der Untersuchung der Wirksamkeit der Antiseptika und deren Einwirkzeit zu wählen, zumal hierzu Daten fehlen.

Wir gingen davon aus, dass die körpereigene Flora 3 d nach der Antiseptik der Schulter vollständig generiert ist, da die Rekolonisation der Haut bereits 60 min nach Abtrocknung eines alkoholischen Hautantiseptikums einsetzt (Falk-Brynhildsen et al. 2013) und nach etwa 24 h wieder annähernd das Ausgangsniveau erreicht

(Dettenkofer et al. 2002). Vor diesem Hintergrund entschieden wir uns, die Versuche an Tag 1 und 4 durchzuführen. Im Verlauf der Studie bestätigte sich diese Annahme, da die an Tag 1 generierten Vorwerte nicht signifikant niedriger waren als die an Tag 4 erhobenen Vorwerte (Abbildung 2).

Vergleich der aeroben Vorwerte an Tag 1 und Tag 4



Vergleich der anaeroben Vorwerte an Tag 1 und Tag 4

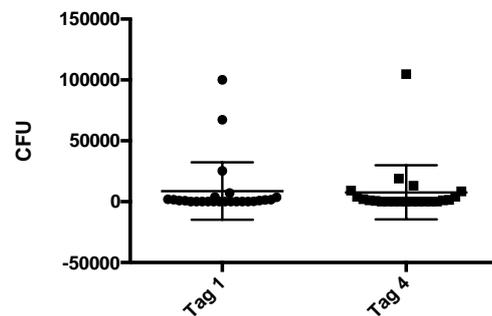


Abbildung 2: Vergleich der erhobenen Vorwerte (CFU = KbE)

Das Cross-over-Design sollte dazu beitragen, systematische Unterschiede zu vermeiden. Für künftige Untersuchungen bietet es sich an, Probanden auszuwählen, die schon optisch Träger von *C. acnes* sind, sodass man vergleichbare Vorwerte erhält, obwohl auch Probanden mit blander Haut teils stärker als Akne-Patienten kolonisiert waren (beispielsweise fanden sich bei Proband 7 auf optisch blander Haut als anaerobe Vorwerte bis zu 930 KbE bei einer Verdünnung von 10^{-1} , die in der VITEK-Analyse als *C. acnes* bestätigt wurden).

Bei der Einwirkzeit von 30 min hätte man den Applikator für 30 s zum Einreiben nutzen und die restliche Einwirkzeit mittels steriler Wundauflage gewährleisten können. Da aber mit Kornzange und Tupfer eine vergleichbare Wirksamkeit erreicht wird (Ulmer et al. 2014), wurden bei der auf 30 min verlängerten Einwirkzeit beide Hautantiseptika in gleicher Weise aufgetragen, um vergleichbare Bedingungen zu schaffen.

Grundsätzlich wäre es möglich gewesen, mittels mikrobiologischer Verfahren alle koloniebildenden Einheiten mikrobiologisch zu diagnostizieren. Da *C. acnes* unter der anaeroben Flora den Problemerreger für SSI darstellt und zugleich den Hauptanteil der anaeroben Flora bei den Probanden darstellte, haben wir ihn als Hauptzielgröße auf den anaeroben Platten gewählt, um den analytischen Aufwand zu begrenzen.

Nicht untersucht haben wir, ob mit dem Entfernen des Duschpflasters eine Entfernung der oberflächlichen Hautflora einhergeht. Das wäre aber nur für die aerobe Flora vorstellbar, da nach 3 h bereits die Rekolonisation der anaeroben Flora eingesetzt hat.

2.4.2 Ergebnisse

Die anscheinend niedrige Anzahl der KbE lässt sich damit erklären, dass sich die Angaben der KbE nicht, wie üblich, auf 1 ml und 5 cm² beziehen, sondern auf 0,1 ml und eine Fläche von 2,5 cm². Das bedeutet, dass die Anzahl der KbE bezogen auf 1 ml und eine Fläche von 5 cm² (normiert) mit 20 multipliziert werden muss, um den Vergleich mit Angaben aus der Literatur zu bekommen. Dadurch erhält man mit der Literatur vergleichbare Werte (Besiedlungsdichte für Aerobier $3 \pm 0,9 \log_{10}$; Reichel et al. 2011).

Werte, die trotz Umrechnung unterhalb der physiologischen KbE-Anzahl liegen, können durch die Art der Probengewinnung bedingt sein, die nicht dem Standardverfahren entspricht, sondern die tiefe Flora gezielt mobilisieren sollte. Für die Berechnungen (Tabelle 1-4) normierten wir die Werte auf 1 ml und 5 cm².

Es zeigte sich, dass die 30-minütige Antiseptik mit PVP-Iod haltigen oder CHG haltigen alkoholischen Antiseptika keine Belastung für die Haut darstellt. Kein Proband empfand die Einwirkzeit als unangenehm und auch nach 24 h waren bei keinem Probanden Symptome wie störendes Jucken oder Hautirritationen aufgetreten. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass das Feuchthalten der Haut mittels eines Antiseptikums nach forcierter mechanischer Antiseptik kein Problem für die

intakte Haut mit sich bringt und z.B. durch mit dem Antiseptikum getränkte sterile Kompressen realisierbar ist.

Die Auswertung der aeroben Platten ergab, dass die aerobe Hautflora wenig resistent gegenüber beiden Hautantiseptika ist. Unabhängig davon, welches Antiseptikum verwendet wurde und über welche Zeitspanne es einwirkte, wurde das aerobe Erregerspektrum nach 2,5 min Einwirkzeit initial bei mindestens 13 von 16 Probanden und für 3 h bei mindestens 10 der 16 Probanden komplett eliminiert. Nach CHG-haltiger Antiseptik für 30 min waren alle Sofortwerte ohne Wachstum, was für eine erfolgreiche Antiseptik spricht. Das alkoholische PVP-Iod-haltige Antiseptikum war in der Wirkung vergleichbar dem CHG-Alkohol. Bei 49 von 64 Versuchen waren nicht nur die Sofortwerte, sondern auch die nach 3 h generierten Werte ohne Wachstum. Das lässt den Schluss zu, dass von der aeroben Flora der Haut ein vergleichsweise geringer perioperativer Eintrag in die OP-Wunde und damit ein geringes Risiko für SSI ausgeht. Bei 49 von 64 Versuchen waren nicht nur die aeroben Sofortwerte, sondern auch die nach 3 h generierten Werte ohne Wachstum.

Durch die Identifikation der anaeroben KbE mittels VITEK®-Analysen erfolgte die Bestätigung, dass alle Probanden mit Cutibakterien und davon dominierend mit *C. acnes* kolonisiert waren. Somit konnte bei allen Probanden die Reduktion der als Hauptzielgröße ausgewählten anaeroben Flora beurteilt werden.

Die Auswertung der anaeroben Flora ergab, dass PVP-Iod haltige alkoholische Antiseptika über 30 min effektiver gegen die tiefe Hautflora – besonders gegen

Cutibakterien – wirken als die CHG-haltige alkoholische Antiseptik. Die völlige Abwesenheit von KbE ließ sich durch die Antiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums bei 2,5 min Einwirkzeit beim Sofortwert bei 12 von 16 Probanden und beim Nachwert bei 4 von 16 Probanden erreichen. Nach 30 min Antiseptik mit PVP-Iod-haltigem Alkohol waren initial 13 von 16 Schulterabstrichen frei von KbE, nach 3 h 10 von 16. Das spricht für eine nachhaltige Reduktion der tiefen anaeroben Flora, die der Reduktion durch CHG-haltigen Alkohol tendenziell überlegen ist, da dieser selbst bei 30 min Einwirkzeit nur bei 7 von 16 Sofort- und Nachwerten eine vollständige Eradikation der tiefen anaeroben Hautflora erreichte. Das PVP-Iod-haltige alkoholische Antiseptikum ist demzufolge bei der Einwirkzeit von 30 min in Bezug auf die Reduktion der tiefen Hautflora dem CHG-haltigen alkoholischen Antiseptikum überlegen. Schon die 2,5-minütige Antiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums ist in Hinblick auf die anaeroben Sofortwerte effektiver als die Antiseptik mit dem CHG-haltigen Alkohol (6 vs. 13 von 16 Probanden mit Sofortwerten ohne KbE; siehe Tabelle 10Tabelle 13). Hinsichtlich der nachhaltigen Reduktion der anaeroben Hautflora über mindestens 3 h ist eine verlängerte Einwirkzeit des PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums wesentlich effektiver ($p = 0,009$) und sollte zur Reduktion der tiefen anaeroben Hautflora verlängert praktiziert werden. Die Antiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikums über 30 min schien in dieser Studie die effektivste Strategie zu sein, um die anaerobe Hautflora nachhaltig über 3 h zu inaktivieren (10 der 16 Nachwerte waren hier frei von KbE; bei den anderen

Verfahren nur 4 von 16 Nachwerten für die 2,5-minütige Antiseptik und 7 von 16 Nachwerten bei der halbstündigen Antiseptik mit CHG als remanentem Zusatz).

Erwiesen ist für Povidon-Iod, dass es gegen Bakterien, Viren, Pilze, einige Protozoen und bei längerer Einwirkdauer sogar gegen Bakteriensporen wirksam ist (König et al. 1997; Schreier et al. 1997; Sauerbrei u. Wutzler 2010). Die Kombination mit Povidon führt zu einer verlängerten Wirkung des Iods. Das dürfte die Erklärung dafür sein, dass die Nachwerte der Antiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen Alkohol nach 29,5 min Einwirkzeit eine signifikant höhere Reduktion der tiefen Hautflora im Vergleich zu den Sofortwerten zeigten. Gerade die 3h-Werte nach 30-minütiger Antiseptik mit dem PVP-Iod haltigen Alkohol waren signifikant geringer kolonisiert als nach Antiseptik mit CHG-haltigen Antiseptika über 2,5 bzw. 30 min.

Vermutlich dringt PVP-Iod bis tief in die Haarfollikel ein und kann dort seine antimikrobielle Wirksamkeit gegen *C. acnes* in Kombination mit dem Alkohol erzielen.

Beim CHG als remanentem Zusatz hatte die Einwirkzeit dagegen keinen Einfluss auf das Ausmaß der Reduktion der tiefen Hautflora. Hinsichtlich der 3-Stunden-Nachwerte sind die Ergebnisse für die verlängerte Einwirkzeit nur tendenziell besser ($p = 0,11$).

Erwartungsgemäß erwies sich die aerobe Hautflora im Vergleich zur anaeroben Flora als leichter eliminierbar. Die meisten Sofortwerte (60 von 64 Sofortwerten) waren unabhängig von der Art und Dauer der Antiseptik frei von koloniebildenden Einheiten und auch die Nachwerte waren in der Regel gering kolonisiert (49 von 64

Nachwerten ohne Wachstum), d.h. die aerobe Flora war über 3 h reduziert, unabhängig davon, welches Antiseptikum verwendet wurde. Für die Reduktion der aeroben körpereigenen Hautflora scheint es also irrelevant zu sein, ob ein CHG-haltiges oder ein PVP-Iod-haltiges alkoholisches Antiseptikum verwendet wird. Auch die gängige Dauer der Antiseptik von 2,5 min scheint hinsichtlich der aeroben Flora von ausreichender Dauer zu sein. Somit stellt die tiefe anaerobe Flora das Hauptproblem dar. Hier zeigte sich die verlängerte Einwirkzeit tendenziell effektiver. Die getesteten 2,5 min mit dem CHG-haltigen alkoholischen Antiseptikum erscheinen als zu kurz. Hinsichtlich der Ergebnisse für die 2,5-minütige Antiseptik mit dem PVP-Iod-haltigen alkoholischen Antiseptikum lässt sich sagen, dass eine PVP-Iod-haltige Antiseptik über 2,5 min zur Reduktion der anaeroben Flora in Hinblick auf die Sofortwerte effektiver ist als eine Antiseptik mit CHG-Alkohol. Um diese Reduktion langfristig über 3 h zu erhalten, sollte die Einwirkzeit auf 30 min verlängert werden. In der vorliegenden Studie war das getestete PVP-Iod-haltige Antiseptikum effektiver als das CHG-haltige Antiseptikum in Hinblick auf die sofortige und die längerfristige Reduktion der anaeroben Flora.

Einschränkend muss angemerkt werden, dass die Studie auf intakter Haut nicht mit den realen Bedingungen einer Operation vergleichbar ist.

Als nächster Schritt muss der Einfluss beider Präparate auf die SSI-Rate in Bereichen mit talgdrüsenreicher Haut untersucht werden. Hinsichtlich der hier gewonnenen Ergebnisse stellt sich die Frage, ob CHG-haltige alkoholische Antiseptika für die präoperative Antiseptik im Schulterbereich in Hinblick auf

Reduktion der tiefen anaeroben Hautflora (insbesondere Cutibakterien), wie sie von der WHO empfohlen werden, tatsächlich wirksamer sind als PVP-Iod-haltige alkoholische Antiseptika. In den Studien, die die WHO ihrer Empfehlung zum Einsatz CHG-haltiger alkoholischer Formulierungen zugrunde legte, wurden u.a. PVP-Iod-haltige Antiseptika mit einer Alkoholkonzentration von nur 23 % getestet, was unter dem geforderten Alkoholgehalt von 70 - 90 % liegt. Die höhere Wirkung des CHG ist dann eher dem höheren Alkoholgehalt in den CHG-haltigen alkoholischen Antiseptika mit 70 % IPA zuzuschreiben und verfälscht die Ergebnisse der Metaanalyse (Maiwald u. Chan 2012). Die Bevorzugung von CHG als remanenter Zusatz erscheint hinsichtlich unserer Studienergebnisse gegenüber PVP-Iod nicht gegeben. Vielmehr sprechen die Ergebnisse für die höhere Effektivität des PVP-Iod-haltigen Alkohols insbesondere in Hinblick auf die Reduktion der anaeroben Flora.

Im nächsten Schritt wäre es wünschenswert, klinische Studien zum Einfluss auf die SSI-Rate im Vergleich CHG-haltiger alkoholischer vs. PVP-Iod-haltiger alkoholischer Antiseptika speziell in der Schulterchirurgie durchzuführen, bei denen die Alkoholgehalte in beiden Gruppen gleich sind. Ebenfalls wäre eine klinische Testung des Vergleichs der Einwirkzeiten unter realen Operationsbedingungen erstrebenswert. Da als weitere Option einer Kombination von PVP-Iod mit Alkohol für die präoperative Hautantiseptik noch ein weiteres Handelsprodukt (Braunoderm®) zur Verfügung steht, sollte auch diese Kombination in künftige Testungen einbezogen werden.

3 Schlussfolgerung

Es wurde bestätigt, dass die transiente Flora leichter zu entfernen ist als die anaerobe residente Flora in den tiefen Haarfollikeln, Schweiß- und Talgdrüsen (Edwards et al. 2004, Gardlund 2007).

In Auswertung der Ergebnisse stellt sich die Frage, ob die Verwendung eines iodhaltigen alkoholischen Antiseptikums (insbesondere mit einer Einwirkdauer von 30 min) zur Inaktivierung der tiefen anaeroben Hautflora wirksamer ist als die momentan von der WHO favorisierte Antiseptik mit CHG-haltigen alkoholischen Antiseptika.

Eine Anfang 2018 veröffentlichte Studie zeigte, dass es im Vergleich zwischen iodhaltigen und chlorhexidinhaltigen Hautantiseptika keinen Unterschied in der Inzidenz des Auftretens von SSI in der Neurochirurgie gab (Ghobrial et al. 2018).

Iodhaltige alkoholische Antiseptika sind bereits nach einer Einwirkzeit von 2,5 min nach initialer mechanischer Antiseptik hinsichtlich der sofortigen Reduktion der Hautflora effektiver als CHG-haltige alkoholische Antiseptika.

Eindeutig ist die Überlegenheit des PVP-Iodhaltigen alkoholischen Antiseptikums bei 30 min Einwirkzeit im Vergleich zum CHG-haltigen Alkohol bei 2,5 und 30 min hinsichtlich der Sofortwerte und der nach drei Stunden erhobenen Werte. Eine Verlängerung der Einwirkdauer scheint bei iodhaltigen alkoholischen Antiseptika zu einer längerfristigen, den chlorhexidinhaltigen alkoholischen Antiseptika überlegenen, Reduktion der tiefen anaeroben Flora zu führen.

Zur Klärung der klinischen Relevanz ist eine klinische randomisierte kontrollierte Studie mit dem Endpunkt SSI erforderlich, wobei hierfür zunächst Operationen in talg- und schweißdrüsenreichen Regionen von besonderem Interesse sind.

Anmerkungen:

Diese Studie wurde von Mundipharma GmbH, Limburg, finanziell unterstützt. Des Weiteren stellten die jeweiligen Hersteller der Antiseptika ihre Produkte kostenfrei zur Verfügung. Die sterilen Kompressen und Duschpflaster wurden ebenfalls von Hartmann kostenlos ausgehändigt.

4 Zusammenfassung

Zielsetzung: *Cutibacterium (C.) acnes* ist Teil des anaeroben Haut-Mikrobioms.

Besonders in der Schulterchirurgie kommt es postoperativ häufig zu Infektionen mit *C. acnes* auf Grund der schwierigen Erreichbarkeit des Erregers durch das Hautantiseptikum in den Haarfollikeln der Haut.

Basierend auf der Hypothese, dass eine verlängerte Einwirkzeit des Hautantiseptikums in talgdrüsenreichen Arealen wie der Schulter das Eindringen in die Haarfollikel begünstigt und dadurch die antiseptische Wirksamkeit verbessert wird, sollte die Effektivität der derzeit üblichen Einwirkzeit von 2,5 min mit der Einwirkzeit von 30 min verglichen werden. Aufgrund der unterschiedlichen Eigenschaften von PVP-Iod und Chlorhexidindigluconat (CHG) sollten zwei handelsübliche alkoholische Hautantiseptika mit Gehalt an PVP-Iod bzw. CHG miteinander verglichen werden.

Methode: Im cross-over-Design wurde auf der Schulter von 16 gesunden, freiwilligen Probanden die Einwirkzeit von 2,5 min mit einer Einwirkzeit von 30 min jeweils mit einem PVP-I-haltigen Hautantiseptikum und einem CHG-haltigen Hautantiseptikum verglichen werden. Die Probenentnahmen erfolgten vor, direkt nach und 3h nach erfolgter Hautantiseptik. Analysiert wurde sowohl die aerobe als auch die anaerobe Hautflora.

Ergebnisse: Die aerobe residente Hautflora wurde durch beide Antiseptika bereits bei der kurzen Einwirkzeit effektiv eradiziert.

Die anaerobe residente Flora wurde hinsichtlich der Sofortwerte durch das PVP-I-haltige Antiseptikum sowohl bei der Einwirkungszeit von 2,5 min als auch von 30 min effektiver reduziert als durch das CHG-haltige Antiseptikum. Die nach 3 h erhobenen Werte zeigten dagegen nur die Tendenz der höheren Wirksamkeit bei der verlängerten Einwirkzeit des PVP-I-haltigen Antiseptikums. Die verlängerte Einwirkzeit hatte bei beiden Antiseptika keinen negativen Einfluss auf die intakte Haut, d.h. keiner der Probanden klagte über Hautirritationen oder Beschwerden.

Schlussfolgerung: Die alkoholische Zubereitung mit PVP-Iod ist dem CHG basierten Alkohol an Wirksamkeit gegen die anaerobe Flora im Sofortwert überlegen. Die klinische Relevanz dieser Studie sollte in einer randomisierten klinischen Studie mit dem Endpunkt SSI verifiziert werden.

5 Literaturverzeichnis

Abolnik IZ, Eaton JV, Sexton DJ. Propionibacterium acnes vertebral osteomyelitis following lumbar puncture: case report and review. Clin Infect Dis. 1995 Sep;21(3):694-5.

Achermann Y, Sahin F, Schwyzer HK, Kolling C, Wüst J, Vogt M. Characteristics and outcome of 16 periprosthetic shoulder joint infections. Infection. 2013 Jun;41(3):613-20. doi: 10.1007/s15010-012-0360-4. Epub 2012 Nov 3.

Adams D, Quayum M, Worthington T, Lambert P, Elliott T. Evaluation of a 2% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol skin disinfectant. J Hosp Infect 2005; 61(4): 287-90.

Adlam C, Scott MT. Lympho-reticular stimulatory properties of Corynebacterium parvum and related bacteria. J Med Microbiol. 1973 Aug;6(3):261-74.

Allaker RP, Greenman J, Osborne RH, Gowers JI. Cytotoxic activity of Propionibacterium acnes and other skin organisms. Br J Dermatol. 1985 Aug;113(2):229-35.

Allaker RP, Greenman J, Osborne RH. The production of inflammatory compounds by Propionibacterium acnes and other skin organisms. Br J Dermatol. 1987 Aug;117(2):175-83.

André R, Sabeh N. Post-operative spondylodiscitis due to Propionibacterium acnes: A case report. Neurochirurgie. 2017 May;63(2):96-98. doi: 10.1016/j.neuchi.2017.01.006. Epub 2017 May 8.

Arata T, Murakami T, Hirai Y. Evaluation of povidone-iodine alcoholic solution for operative site disinfection. Postgrad Med J. 1993;69 Suppl 3:S93-6.

- Arbeitsgruppe „Angewandte Desinfektion“ im VAH (2015). Zur Prüfmethodik und Anwendung viruswirksamer Desinfektionsmittel. HygMed; 40 (11):467-469.
- Bauer M, Knippenberger H, Kubli F, von Fournier D, Radacic A, Mehringer R. The bacterial contamination of epidural catheters with areobe and anaerobe germs in obstetrics. Geburtshilfe Frauenheilkd. 1979 Dec;39(12):1054-6.
- Bazzi A, Harris J, Morgan D, Pearlam MD, Reynolds R, Campbell DA, Uppal S. Chlorhexidine-alcohol compared with povidone-iodine für surgical-site antisepsis after abdominal heysterectomy. Am J Obstetr Gyn 2016, S463.
- Bejko J, Tarzia V, Carrozzini M, Gallo M, Bortolussi G, Comisso M, Testolin L, Guglielmi C, De Franceschi M, Bianco R, Gerosa G, Bottio T. Comparison of efficacy and cost of iodine impregnated drape vs. standard drape in cardiac surgery:study in 5100 patients. J Cardiovasc Transl Res 2015;8(7):431-7.
- Below H, Behrens-Baumann W, Bernhardt C, Völzke H, Kramer A, Rudolph P. Systemic iodine absorption after preoperative antisepsis using povidone-iodine in cataract surgery-- an open controlled study. Dermatology. 2006;212 Suppl 1:41-6.
- Below H, Brauer VFH, Kramer A. Absorption of iodine after antisepsis by iodophors and consequences to the risk assessment. 2007, GMS Hygiene and Infection Control.
- Below H, Partecke I, Huebner NO, Bieber N, Nicolai T, Usche A, Assadian O, Below E, Kampf G, Parzefall W, Heidecke CD, Zuba D, Bessonneau V, Kohlmann T, Kramer A. Dermal and pulmonary absorption of propan-1-ol and propan-2-ol from hand rubs. Am J Infect Control. 2012 Apr;40(3):250-7. doi: 10.1016/j.ajic.2011.03.009. Epub 2011 Jul 8.
- Benz MS, Scott IU, Flynn HW Jr, Unonius N, Miller D. Endophthalmitis isolates and antibiotic sensitivities: a 6-year review of culture-proven cases. Am J Ophthalmol. 2004 Jan;137(1):38-42.

Bitkover CY, Marcusson E, Ransjö U. Spread of coagulase-negative staphylococci during cardiac operations in a modern operating room. *Ann Thorac Surg.* 2000 Apr;69(4):1110-5.

Bodenschatz W. *Kompaktwissen Desinfektion: Das Handbuch für Ausbildung und Praxis.* 2012, Behr's Verlag.

Brolin TJ, Hackett DJ, Abboud JA, Hsu JE, Namdari S. Routine cultures for seemingly aseptic revision shoulder arthroplasty: are they necessary? *J Shoulder Elbow Surg* 2017; 26(11):2060-6.

Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA. The human skin microbiome. *Nat Rev Microbiol* 2018;16(3):143-55.

Christiansen B. The effectiveness of a skin disinfectant with a cation active additive. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B.* 1988 Jul; 186(4):368-74

Cove JH, Holland KT, Cunliffe WJ. Effects of oxygen concentration on biomass production, maximum specific growth rate and extracellular enzyme production by three species of cutaneous propionibacteria grown in continuous culture. *J Gen Microbiol.* 1983 Nov;129(11):3327-34.

Critchley G, Strachan R. Postoperative subdural empyema caused by *Propionibacterium acnes*--a report of two cases. *Br J Neurosurg.* 1996 Jun;10(3):321-3.

Darouiche RO, Wall MJ Jr, Itani KM, Otterson MF, Webb AL, Carrick MM, Miller HJ, Awad SS, Crosby CT, Mosier MC, Alsharif A, Berger DH. Chlorhexidine-Alcohol versus Povidone-Iodine for Surgical-Site Antisepsis. *N Engl J Med.* 2010 Jan 7;362(1):18-26. doi: 10.1056/NEJMoa0810988.

Desinfektionsmittelkommission im VAH (2015). Desinfektionsmittel-Liste des VAH: Eine kurze Einführung. *Krh InfVerh;* 37(4):152–153.

Desinfektionsmittelkommission im VAH (2015). Desinfektionsmittel-Liste des VAH. Mhp-Verlag GmbH: Wiesbaden. Stand 1.4.2014. (Online-Aktualisierung mit Stand 1.11.2014).

Desinfektionsmittelkommission im VAH (2015). Methoden und Anforderungen zur VAH-Zertifizierung von chemischen Desinfektionsverfahren. Mhp-Verlag GmbH: Wiesbaden. Stand 2.4.2015.

Dettenkofer M, Jonas D, Wiechmann C, Rossner R, Frank U, Zentner J, Daschner FD. Effect of skin disinfection with octenidine dihydrochloride on insertion site colonization of intravascular catheters. *Infection*. 2002 Oct;30(5):282-5.

Dréno B, Pécastaings S, Corvec S, Veraldi S, Khammari A, Roques C. Propionibacterium acnes) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *J Europ Acad Dermatol Venerol* 2018; 32 (S2)

Edwards PS, Lipp A, Holmes A. Preoperative skin antiseptics for preventing surgical wound infections after clean surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2004;(3):CD003949.

Eishi Y, Suga M, Ishige I, Kobayashi D, Yamada T, Takemura T, Takizawa T, Koike M, Kudoh S, Costabel U, Guzman J, Rizzato G, Gambacorta M, du Bois R, Nicholson AG, Sharma OP, Ando M. Quantitative analysis of mycobacterial and propionibacterial DNA in lymph nodes of Japanese and European patients with sarcoidosis. *J Clin Microbiol*. 2002 Jan;40(1):198-204.

Ishige I, Eishi Y, Takemura T, Kobayashi I, Nakata K, Tanaka I, Nagaoka S, Iwai K, Watanabe K, Takizawa T, Koike M. Propionibacterium acnes is the most common bacterium commensal in peripheral lung tissue and mediastinal lymph nodes from subjects without sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2005 Mar;22(1):33-42.

Falk-Brynhildsen K, Friberg O, Söderquist B, Nilsson UG. Bacterial colonization of the skin following aseptic preoperative preparation and impact of the use of plastic adhesive drapes. *Biol Res Nurs*. 2013 Apr;15(2):242-8. doi: 10.1177/1099800411430381. Epub 2012 Jan 24.

Falk-Brynhildsen K, Söderquist B, Friberg O, Nilsson UG. Bacterial recolonization of the skin and wound contamination during cardiac surgery: a randomized controlled trial of the use of plastic adhesive drape compared with bare skin. *J Hosp Infect*. 2013 Jun;84(2):151-8. doi: 10.1016/j.jhin.2013.02.011. Epub 2013 Apr 25.

Fleischmann W, Meyer H, von Baer A. Bacterial recolonization of the skin under a polyurethane drape in hip surgery. *J Hosp Infect*. 1996 Oct;34(2):107-16.

Funke G, Graevenitz A, Clarridge JE, Bernard KA. Clinical Microbiology of Coryneform Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 1997, p. 125–159.

Gårdlund B. Postoperative surgical site infections in cardiac surgery--an overview of preventive measures. *APMIS*. 2007 Sep;115(9):989-95.

Gessner S, Below E, Diedrich S, Wegner C, Gessner W, Kohlmann T, Heidecke CD, Bockholdt B, Kramer A, Assadian O, Below H. Ethanol and ethyl glucuronide urine concentrations after ethanol-based hand antisepsis with and without permitted alcohol consumption. *Am J Infect Control*. 2016 Sep 1;44(9):999-1003. doi: 10.1016/j.ajic.2016.02.021. Epub 2016 Apr 11.

Ghalayini SR, Likhith AM, Golash A. Propionibacterium acnes causing delayed subdural empyema - a case report and review of literature. *J Clin Neurosci*. 2004 Aug;11(6):677-9.

Ghobrial GM, Wang MY, Green BA, Levene HB, Manzano G, Vanni S, Starke RM, Jimsheleishvili G, Crandall KM, Dididze M, Levi AD. Preoperative skin antisepsis with chlorhexidine gluconate versus povidone-iodine: a prospective analysis of 6959 consecutive spinal surgery patients. *J Neurosurg*

Spine. 2018 Feb;28(2):209-214. doi: 10.3171/2017.5.SPINE17158. Epub 2017 Nov 24.

Görtz G. Local antiseptic and anti-endotoxin measures in intra-abdominal infections. *Langenbecks Arch Chir.* 1997;382(4 Suppl 1):S37-41.

Grosso MJ, Frangiamore SJ, Ricchetti ET, Bauer TW, Iannotti JP. Sensitivity of frozen section histology for identifying *Propionibacterium acnes* infections in revision shoulder arthroplasty. *J Bone Joint Surg Am.* 2014 Mar 19;96(6):442-7. doi: 10.2106/JBJS.M.00258.

Günthard H, Hany A, Turina M, Wüst J. *Propionibacterium acnes* as a cause of aggressive aortic valve endocarditis and importance of tissue grinding: case report and review. *J Clin Microbiol.* 1994 Dec;32(12):3043-5.

Halkic N, Blanc C, Corthesy ME, Corpataux JM. Lumbar spondylodiscitis after epidural anaesthesia at a distant site. *Anaesthesia.* 2001 Jun;56(6):602-3.

Harnoss JC, Assadian O, Kramer A, Probst P, Müller-Lantzsch C, Scheerer L, Bruckner T, Diener MK, Büchler MW, Ulrich AB. Comparison of chlorhexidine-isopropanol with isopropanol skin antisepsis for prevention surgical-site infection after abdominal surgery. *Brit J Surg.* 2018 Jun; 105(7): 893-899..

Hernández-Palazón J, Puertas-García JP, Martínez-Lage JF, Tortosa JA. Lumbar spondylodiscitis caused by *Propionibacterium acnes* after epidural obstetric analgesia. *Anesth Analg.* 2003 May;96(5):1486-8, table of contents.

Hoeffler U. Enzymatic and hemolytic properties of *Propionibacterium acnes* and related bacteria. *J Clin Microbiol.* 1977 Dec;6(6):555-8.

Holland KT, Holland DB, Cunliffe WJ, Cutcliffe AG. Detection of *Propionibacterium acnes* polypeptides which have stimulated an immune response in acne patients but not in normal individuals. *Exp Dermatol.* 1993 Feb;2(1):12-6.

- a) Hübner NO, Assadian O, Grohmann S, Diab-Elschahawi M, Kramer A. Efficacy of five alcohol-based skin antiseptics on sebaceous skin used at shorter application times than the current recommendation of 10 min. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2011; 30: 825–9.
- b) Hübner NO, Kellner NB, Partecke LI, Koburger T, Heidecke CD, Kohlmann T, Kramer A. Determination of antiseptic efficacy of rubs on the forearm and consequences for surgical hand disinfection. *J Hosp Infect* 2011;78(1):11-5.

Ingham HR, Sisson PR, Middleton RL, Narang HK, Codd AA, Selkon JB. Phagocytosis and killing of bacteria in aerobic and anaerobic conditions. *J Med Microbiol.* 1981 Nov;14(4):391-9.

Kabongo Muamba ML. Exoenzymes of *Propionibacterium acnes*. *Can J Microbiol.* 1982 Jul;28(7):758-61.

Kampf G, Pitten FA, Heeg P, Christiansen B. Efficacy of two ethanol-based skin antiseptics on the forehead at shorter application times. *BMC Microbiol.* 2007;7:85.

Kelly JD 2nd, Hobgood ER. Positive culture rate in revision shoulder arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res.* 2009 Sep;467(9):2343-8. doi: 10.1007/s11999-009-0875-x.

Kim SJ, Kim JH. Unexpected positive cultures including isolation of *Propionibacterium acnes* in revision shoulder arthroplasty. *Chin Med J (Engl).* 2014;127(22):3975-9.

Koh CK, Marsh JP, Drinković D, Walker CG, Poon PC. *Propionibacterium acnes* in primary shoulder arthroplasty: rates of colonization, patient risk factors, and efficacy of perioperative prophylaxis. *J Shoulder Elbow Surg.* 2016 May;25(5):846-52. doi: 10.1016/j.jse.2015.09.033. Epub 2015 Dec 15.

- Kramer A, Assadian O, Wilhelm M. Konsequenzen der Nutzen-Risiko-Bewertung von Desinfektionswirkstoffen. In: Kramer A, Assadian O,
- Exner M et al. (Hrsg) Krankenhaus-und Praxishygiene. München: Urban Fischer, 2012; 56–9
- Kramer A, Below H, Bieber N, Kampf G, Toma CD, Huebner NO, Assadian O. Quantity of ethanol absorption after excessive hand disinfection using three commercially available hand rubs is minimal and below toxic levels for humans. BMC Infect Dis. 2007 Oct 11;7:117.
- Kramer A, Dissemond J, Kim S, Willy C, Mayer D, Papke R, Tuchmann F, Assadian O. Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. Skin Pharmacol Physiol. 2018;31(1):28-58. doi: 10.1159/000481545. Epub 2017 Dec 21.
- Kramer A, Harnoss JC, Walger P, Heidecke CD, Schreiber A, Maier S, Pochhammer J. Hygiene in der Allgemein- und Viszeralchirurgie - Fachspezifische Maßnahmen zur Prävention von Surgical Site Infections (SSI). Zentralbl Chir. 2016 Dec;141(6):591-596. Epub 2016 Dec 12.
- Kramer A, Heidecke CD. Präoperative Hautantiseptik und Hautschutz. Trauma Berufskrankh 2015 · [Suppl 2]: 17:322–329.
- Kramer A, Müller G. Interaction of octenidine and chlorhexidine with mammalian cells and the resulting microbicidal effect (remanence) of the combinations. 2007, GMS Hygiene and Infection Control
- Kramer A, Reichwagen S, Widulle H, Heldt P. Guanidine und Biguanide. In: Kramer A, Assadian O (eds) Wallhäussers
- Praxis der Sterilisation. Stuttgart, Thieme, 2008, 788-98.
- Kirschbaum J, Kligman AM. The pathogenic role of corynebacterium acnes in acne vulgaris. Arch Dermatol. 1963 Dec;88:832-3.

- Koburger T, Hubner NO, Braun M, Siebert J, Kramer A. Standardized comparison of antiseptic efficacy of triclosan, PVP-iodine, octenidine dihydrochloride, polyhexanide and chlorhexidine digluconate. *J Antimicrob Chemother.* 2010;65:1712-9.
- König B, Reimer K, Fleischer W, König W. Effects of Betaisodona on parameters of host defense. *Dermatology.* 1997;195 Suppl 2:42-8.
- Kühme T, Isaksson B, Dahlin LG. Wound contamination in cardiac surgery. A systematic quantitative and qualitative study of the bacterial growth in sternal wounds in cardiac surgery patients. *APMIS.* 2007 Sep;115(9):1001-7.
- Lange-Asschenfeldt B, Marenbach D, Lang C, Patzelt A, Ulrich M, Maltusch A, Terhorst D, Stockfleth E, Sterry W, Lademann J. Distribution of bacteria in the epidermal layers and hair follicles of the human skin. *Skin Pharmacol Physiol.* 2011;24(6):305-11. doi: 10.1159/000328728. Epub 2011 Jul 15.
- Larson E. A causal link between handwashing and risk of infection? Examination of the evidence. *Inf Contr Hosp Epidemiol* 1988;9(1):28-36
- Larson E. Guideline for use of topical antimicrobial agents. *Am J Infect Control.* 1988 Dec;16(6):253-66.
- Lee MJ, Pottinger PS, Butler-Wu S, Bumgarner RE, Russ SM, Matsen FA 3rd. Propionibacterium persists in the skin despite standard surgical preparation. *J Bone Joint Surg Am.* 2014 Sep 3;96(17):1447-50. doi: 10.2106/JBJS.M.01474.
- Maiwald M, Assam PN, Chan ES, Dancer SJ. Chlorhexidine's role in skin antisepsis: questioning the evidence. *Lancet.* 2014 Oct 11;384(9951):1344-5. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61812-2.
- Maiwald M, Chan ES. Pitfalls in evidence assessment: the case of chlorhexidine and alcohol in skin antisepsis. *J Antimicrob Chemother.* 2014 Aug;69(8):2017-21. doi: 10.1093/jac/dku121. Epub 2014 Apr 28.

- Maiwald M, Chan ES. The forgotten role of alcohol: a systematic review and meta-analysis of the clinical efficacy and perceived role of chlorhexidine in skin antiseptics. *PLoS One*. 2012;7(9):e44277. doi: 10.1371/journal.pone.0044277.
- Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for prevention of surgical site infection, 1999. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 1999 Apr;20(4):250-78.
- Mimoz O, Villeminey S, Ragot S, Dahyot-Fizelier C, Laksiri L, Petitpas F, Debaene B. Chlorhexidine-based antiseptic solution vs alcohol-based povidone-iodine for central venous catheter care. *Arch Intern Med*. 2007 Oct 22;167(19):2066-72.
- Morel C, Harrabi S, Chaumeil C, Le Bourdon I, Scat Y, Haut J. Positive corneal findings of *Propionibacterium acnes* and keratitis. *J Fr Ophtalmol*. 1996;19(1):4-7.
- Müller G, Langer J, Siebert J, Kramer A. Residual antimicrobial effect of chlorhexidine digluconate and octenidine dihydrochloride on reconstructed human epidermis. *Skin Pharmacol Physiol*. 2014;27(1):1-8. doi: 10.1159/000350172. Epub 2013 Jul 24.
- Patel A, Calfee RP, Plante M, Fischer SA, Green A. *Propionibacterium acnes* colonization of the human shoulder. *J Shoulder Elbow Surg*. 2009 Nov-Dec;18(6):897-902. doi: 10.1016/j.jse.2009.01.023. Epub 2009 Apr 11.
- Patrick S, McDowell A, Lee A, Frau A, Martin U, Gardner E, McLorinan G, Eames N. Antisepsis of the skin before spinal surgery with povidone iodine-alcohol followed by chlorhexidine gluconate-alcohol versus povidone iodine-alcohol applied twice for the prevention of contamination of the wound by bacteria: a randomised controlled trial. *Bone Joint J*. 2017 Oct;99-B(10):1354-1365. doi: 10.1302/0301-620X.99B10.BJJ-2017-0291.R1.

- Phadnis J, Gordon D, Krishnan J, Bain GI. Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from the shoulder dermis despite skin preparation and prophylactic antibiotics. *Shoulder Elbow Surg.* 2016 Feb;25(2):304-10. doi: 10.1016/j.jse.2015.08.002. Epub 2015 Oct 9.
- Price PB. The bacteriology of normal skin. *J Infect Dis* 63:301–318, 1938.
- Reichel M, Heisig P, Kohlmann T, Kampf G. Alcohols for skin antiseptics at clinically relevant skin sites. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Nov;53(11):4778-82. doi: 10.1128/AAC.00582-09. Epub 2009 Sep 8.
- Reichel M, Heisig P, Kampf G. Identification of variables for aerobic bacterial density at clinically relevant skin sites. *J Hosp Infect* 2011;78(1):5-10
- Rotter ML, Koller W. A. European test for the evaluation of the efficacy of procedures for the antiseptic handwash. *Hyg Med* 1991;16:4-12.
- Rotter ML, Kramer A. Hygienische Händeantiseptik. In: Kramer A, Gröschel D, Heeg P, Hingst V, Lippert H, Rotter M, Weuffen W (Hrsg) *Klinische Antiseptik.* Berlin: Springer; 1993;67-82.
- Schaefferbeke T, Lequen L, de Barbeyrac B, Labbé L, Bébéar CM, Morrier Y, Bannwarth B, Bébéar C, Dehais J. *Propionibacterium acnes* isolated from synovial tissue and fluid in a patient with oligoarthritis associated with acne and pustulosis. *Arthritis Rheum.* 1998 Oct;41(10):1889-93.
- Schreier H, Erdos G, Reimer K, König B, König W, Fleischer W. Molecular effects of povidone-iodine on relevant microorganisms: an electron-microscopic and biochemical study. *Dermatology.* 1997;195 Suppl 2:111-6.
- Sauerbrei A, Wutzler P. Virucidal efficacy of povidone-iodine-containing disinfectants. *Lett Appl Microbiol.* 2010 Aug;51(2):158-63. doi: 10.1111/j.1472-765X.2010.02871.x. Epub 2010 May 14.

Singh JA, Sperling JW, Schleck C, Harmsen W, Cofield RH. Periprosthetic infections after shoulder hemiarthroplasty. *J Shoulder Elbow Surg.* 2012 Oct;21(10):1304-9. doi: 10.1016/j.jse.2011.08.067. Epub 2011 Dec 11.

Small H, Adams D, Casey AL, Crosby CT, Lambert PA, Elliott T. Efficacy of adding 2% (w/v) chlorhexidine gluconate to 70% (v/v) isopropyl alcohol for skin disinfection prior to peripheral venous cannulation. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Oct;29(10):963-5. doi: 10.1086/590664.

Swenson BR, Hedrick TL, Metzger R, Bonatti H, Pruett TL, Sawyer RG. Effects of preoperative skin preparation on postoperative wound infection rates: a prospective study of 3 skin preparation protocols. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009;30(10):964-71.

Swenson BR, Sawyer RG. Importance of alcohol in skin preparation protocols. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2010;31:977.

Tomoda C, Kitano H, Uruno T, Takamura Y, Ito Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Amino N, Kuma K, Miyauchi A. Transcutaneous iodine absorption in adult patients with thyroid cancer disinfected with povidone-iodine at operation. *Thyroid.* 2005;15(6):600-3.

Tunney MM, Patrick S, Curran MD, Ramage G, Hanna D, Nixon JR, Gorman SP, Davis RI, Anderson N. Detection of prosthetic hip infection at revision arthroplasty by immunofluorescence microscopy and PCR amplification of the bacterial 16S rRNA gene. *J Clin Microbiol.* 1999 Oct;37(10):3281-90.

Ulmer M, Lademann J, Patzelt A, Knorr F, Kramer A, Koburger T, Assadian O, Daeschlein G, Lange-Asschenfeldt B. New strategies for preoperative skin antisepsis. *Skin Pharmacol Physiol.* 2014;27(6):283-92. doi: 10.1159/000357387. Epub 2014 Jun 26.

Uppal S, Bazzi A, Reynolds RK, Harris J, Pearlman MD, Campbell DA, Morgan DM. Chlorhexidine-Alcohol Compared With Povidone-Iodine for Preoperative Topical Antisepsis for Abdominal Hysterectomy. *Obstet Gynecol*. 2017 Aug;130(2):319-327. doi: 10.1097/AOG.0000000000002130.

Vowels BR, Yang S, Leyden JJ. Induction of proinflammatory cytokines by a soluble factor of *Propionibacterium acnes*: implications for chronic inflammatory acne. *Infect Immun*. 1995 Aug;63(8):3158-65.

Webster GF, Leyden JJ, Norman ME, Nilsson UR. Complement activation in acne vulgaris: in vitro studies with *Propionibacterium acnes* and *Propionibacterium granulosum*. *Infect Immun*. 1978 Nov;22(2):523-9.

Webster GF, Leyden JJ, Musson RA, Douglas SD. Susceptibility of *Propionibacterium acnes* to killing and degradation by human neutrophils and monocytes in vitro. *Infect Immun*. 1985 Jul;49(1):116-21.

Webster J, Alghamdi A. Use of plastic adhesive drapes during surgery for preventing surgical site infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;(1):CD006353.

Williamson P, Kligman AM. A new method for the quantitative investigation of cutaneous bacteria. *J Invest Dermatol*. 1965 Dec;45(6):498-503.

Zárate MS¹, Yahni D, Guevara M, Smayevsky J. Post-surgery cerebral abscess due to *Propionibacterium acnes*. *Medicina (B Aires)*. 2009;69(1 Pt 2):170-2.

Zhang D, Wang XC, Yang ZX, Gan JX, Pan JB, Yin LN. Preoperative chlorhexidine versus povidone-iodine antisepsis for preventing surgical site infection: A meta-analysis and trial sequential analysis of randomized controlled trials. *Int J Surg*. 2017 Aug;44:176-184. doi: 10.1016/j.ijssu.2017.06.001. Epub 2017 Jun 3.

6 Anhang

Tabelle 5: Darstellung des Cross-over-Designs

Probandennummer	Tag 1	Tag 4
1	A,C	B,D
2	A,B	C,D
3	A,C	B,D
4	A,C	B,D
5	A,B	C,D
6	C,D	A,B
7	A,D	B,C
8	A,B	C,D
9	A,B	C,D
10	B,C	A,D
11	B,D	A,C
12	B,C	A,D
13	C,D	A,B
14	C,D	A,B
15	B,D	A,C
16	B,D	A,C

A: *ChloraPrep®* 2,5 min

B: *Betaseptic®* 30 min

C: *Chlorhexidin* 30 min

D: *Betaseptic®* 2,5 min

Tabelle 6: ChloraPrep® 2,5 min – Anzahl der aeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	2	0	0
2	58	0	0
3	9	0	4
4	5	0	0

6 - Anhang

5	2	0	0
6	2	0	0
7	1	0	0
8	14	5	24
9	2	0	0
10	1540	3	2
11	830	0	0
12	2	0	3
13	5	0	0
14	4	1	0
15	10	0	1
16	4	0	1

Tabelle 7: Betaseptic® 30 min – Anzahl der aeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	1	0	4
2	10	0	0
3	2	0	0
4	4	0	0
5	2	0	1
6	2	0	0
7	1	0	7
8	72	0	0
9	2	0	0
10	1820	0	0
11	40	0	0
12	4	0	0
13	42	0	2
14	15	0	0
15	11	1	0
16	2	0	0

Tabelle 8: Chlorhexidin 30 min – Anzahl der aeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	29	0	1
2	20	0	0
3	5	0	0
4	13	0	0
5	3	0	1
6	1	0	0
7	1	0	0

6 - Anhang

8	148	0	0
9	1	0	0
10	870	0	0
11	7	0	0
12	3	0	0
13	4	0	0
14	5	0	0
15	3	0	0
16	1	0	1

Tabelle 9: Betaseptic® 2,5 min – Anzahl der aeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	25	0	0
2	52	0	0
3	39	0	0
4	36	0	0
5	2	0	0
6	3	0	0
7	1	0	1
8	6	0	7
9	23	0	0
10	341	0	1
11	163	0	0
12	18	0	0
13	238	0	0
14	4	0	0
15	12	0	0
16	5	0	0

Tabelle 10: Chloraprep® 2,5 min – Anzahl der anaeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	7000	6	13
2	22	0	0
3	20	0	3
4	5	0	0
5	3	0	0
6	9000	112	1

6 - Anhang

7	930	112	630
8	6	34	17
9	6	0	0
10	25000	14200	1300
11	1010	0	1
12	8400	1000	6800
13	13000	300	340
14	20570	6730	71000
15	360	1	68
16	2090	6000	5000

Tabelle 11: Betaseptic® 30 min – Anzahl der anaeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	120	0	90
2	1	0	1
3	4	0	0
4	52	0	0
5	3	0	0
6	1380	0	0
7	600	1	0
8	73	0	0
9	6	0	0
10	18900	0	2
11	106	1	1
12	500	0	0
13	740	0	0
14	100000	70	1030
15	18	0	0
16	2000	0	4

Tabelle 12: Chlorhexidin 30 min – Anzahl der anaeroben KbE pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	3800	30	0
2	2	0	0
3	1	0	0
4	168	80	0
5	0	0	6

6 - Anhang

6	700	0	0
7	70	1	100
8	45	0	0
9	2	0	3
10	400	5000	2200
11	8	0	8
12	1530	1020	900
13	3500	580	0
14	100000	100000	100000
15	300	30	15
16	4000	2700	1700

Tabelle 13: Betaseptic® 2,5 min pro 0,1 ml und 2,5 cm²

Proband	Vorwert	Sofortwert	Nachwert
1	6560	0	113
2	4850	1	490
3	9290	2	0
4	6970	0	16
5	0	0	0
6	1	1	0
7	10	0	1
8	182	0	4
9	1660	0	0
10	2340	0	1380
11	5120	0	32
12	22	0	49
13	265	0	0
14	4800	0	1
15	3120	0	4390
16	20100	0	16

Tabelle 14: Reduktion der anaeroben Flora (in log-Stufen) auf den Sofortwerten im Vergleich zu den Vorwerten

Probandennummer	Betaseptic® 30 min	Betaseptic® 2,5 min	Chlorhexidin- haltiges alkoholisches Antiseptikum 30 min	Chlora-Prep® 2,5 min
1	3,41	5,12	2,10	3,07
2	1,30	3,69	1,60	2,64
3	1,90	3,67	1,30	2,60

4	3,02	5,14	0,32	2,00
5	1,78	kein Wachstum	1,90	1,78
6	4,44	KEINE	4,14	1,91
7	2,78	2,30	1,85	0,92
8	3,16	3,56	2,95	KEINE
9	2,08	4,52	1,60	2,08
10	5,58	4,67	KEINE	0,25
11	2,03	5,01	2,20	4,31
12	4,24	2,64	0,18	0,92
13	4,17	3,72	0,78	1,64
14	3,17	4,98	KEINE	0,57
15	2,56	4,80	1,00	3,14
16	4,60	5,60	0,17	KEINE

Tabelle 15: Reduktion der anaeroben Flora (in log-Stufen) auf den Nachwerten im Vergleich zu den Vorwerten

Probanden- nummer	Betaseptic® 30 min	Betaseptic® 2,5 min	Chlorhexidin- haltiges alkoholisches Antiseptikum 30 min	Chlora- Prep® 2,5 min
1	0,16	1,76	4,88	2,73
2	KEINE	1,00	1,60	2,64
3	1,90	5,27	1,30	0,82
4	3,02	2,63	3,53	2
5	1,78	kein Wachstum	KEINE	1,78

6	4,44	1,30	4,15	3,95
7	4,08	1,00	KEINE	0,17
8	3,16	1,66	2,95	KEINE
9	2,08	4,52	KEINE	2,08
10	3,98	0,23	0,26	1,28
11	2,03	2,2	KEINE	3,00
12	4,24	KEINE	0,23	0,09
13	4,17	3,72	4,85	1,58
14	3,02	3,68	KEINE	KEINE
15	2,56	KEINE	1,30	1,30
16	2,7	3,099	0,37	KEINE

Tabelle 16: Reduktion der aeroben Flora (in log-Stufen) auf den Sofortwerten im Vergleich zu den Vorwerten

Probandennummer	Betaseptic® 30 min	Betaseptic® 2,5 min	Chlorhexidin- haltiges alkoholisches Antiseptikum 30 min	ChloraPrep® 2,5 min
1	1,3	2,7	2,76	1,6
2	2,3	3,02	2,6	3,06
3	1,6	2,89	2	2,26
4	1,9	2,86	2,41	2
5	1,6	1,6	1,9	1,6
6	1,6	1,78	1,3	1,6
7	1,3	1,3	1,6	1,3
8	3,16	2,08	2,98	0,45
9	1,6	2,66	1,3	1,6
10	4,56	3,83	4,24	2,71
11	2,9	3,51	2,15	4,22
12	1,9	2,55	1,78	1,6
13	2,92	3,68	1,9	2
14	2,6	1,9	2	0,6
15	0,85	2,38	2,2	2,53
16	1,6	2	1,6	1,9

Mittelwert	2,11	2,55	2,17	1,94
------------	------	------	------	------

Tabelle 17: Reduktion der aeroben Flora (in log-Stufen) auf den Nachwerten im Vergleich zu den Vorwerten

Probandennummer	Betaseptic® 30 min	Betaseptic® 2,5 min	Chlorhexidin- haltiges alkoholisches Antiseptikum 30 min	Chlora- Prep® 2,5 min
1	keine Reduktion	2,7	1,46	1,6
2	2,3	3,02	2,6	3,06
3	1,6	2,89	2	2,26
4	1,9	2,86	2,41	2
5	1,6	1,6	0,6	1,6
6	1,6	1,78	1,3	1,6
7	keine Reduktion	keine Reduktion	1,6	1,3
8	3,16	keine Reduktion	2,98	keine Reduktion
9	1,6	2,66	1,3	1,6
10	4,56	2,53	4,24	2,89
11	2,9	3,51	2,15	4,22
12	1,9	2,55	1,78	keine Reduktion

13	1,32	3,68	1,9	2
14	2,6	1,9	2	1,9
15	2,45	2,38	2,2	1,23
16	1,6	2	0,3	0,6
Mittelwert	1,94	2,25	1,93	1,74

6.1 Probandeninformation zur Teilnahme an der Studie

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband!

Wir wären Ihnen dankbar, wenn Sie sich bereit erklären würden, an der oben genannten Studie teilzunehmen.

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig und kann jederzeit ohne Angabe von Gründen durch Sie beendet werden, ohne dass Ihnen hierdurch Nachteile entstehen. Sie können jederzeit die Einwilligungserklärung zurücknehmen. In diesem Fall werden Ihre bis dahin vorliegenden pseudoanonymisierten Daten komplett gelöscht. Die Widerspruchserklärung können Sie jederzeit telefonisch (03834-515542) oder per Email (kramer@uni-greifswald.de) an Prof. Kramer, den Studienverantwortlichen, übermitteln.

Derartige Studien sind notwendig, um verlässliche neue medizinische Forschungsergebnisse zu gewinnen. Unverzichtbare Voraussetzung für die Durchführung dieser Studie ist jedoch, dass Sie Ihr Einverständnis zur Teilnahme an dieser Studie schriftlich erklären. Bitte lesen Sie den folgenden Text als Ergänzung zum Informationsgespräch sorgfältig durch und zögern Sie nicht, Fragen zu stellen.

Bitte unterschreiben Sie die Einwilligungserklärung nur

- wenn Sie Art und Ablauf der Studie vollständig verstanden haben,

- wenn Sie bereit sind, der Teilnahme zuzustimmen und
- wenn Sie sich über Ihre Rechte als Teilnehmer an der Studie im Klaren sind.

Der Studienablauf, die Probandeninformation und Einwilligungserklärung wurden von der zuständigen Ethikkommission geprüft und positiv beurteilt.

Was ist der Zweck der Studie?

Nach Eröffnung der Schulter zur Implantation künstlicher Gelenke kommt es häufiger als bei analogen Eingriffen am Hüftgelenk zu einer postoperativen Wundinfektion. Als eine wesentliche Ursache wird die Verschleppung der Hautflora in die Tiefe der OP-Wunde angesehen. Da die zur Hautantiseptik verwendeten Alkohole innerhalb der derzeit üblichen Einwirkzeit von 2 min nicht in die Talgdrüsen und Haarfollikel, in denen sich der Hauptteil der körpereigenen Hautflora befindet, einzudringen vermögen, soll der Einfluss einer auf 30 min verlängerten Einwirkzeit auf die Effektivität der Hautantiseptik untersucht werden. Bisher ist diese Fragestellung in der geplanten Form weltweit nicht untersucht worden.

Wie läuft die Studie ab?

Zu Beginn der Studie wird für jeden Probanden ein Prüfbogen mit fortlaufender Nummer ohne Rückverfolgbarkeit der Identität des Probanden angelegt (Pseudoanonymisierung) d.h., Sie bekommen eine Nummer zugeordnet, die nur Ihnen bekannt ist und die Sie nur bei der Probennahme angeben die aber nicht mit Ihrem Namen verknüpft wird.

Die Studie erstreckt sich über 4 Tage, um zwischen den Anwendungen einen ausreichenden anwendungsfreien Zeitraum zu haben.

Es werden 3 unterschiedliche jeweils zugelassene übliche Verfahren der Hautantiseptik verglichen:

- ChloroPrep®: Hierbei wird das Hautantiseptikum mit einem Applikator für 30 s durch 30 sanfte Hin- und Herbewegungen auf dem Haut mittels Schablone gekennzeichneten Areal verteilt, anschließend wird die Haut für weitere 30 s einmalig benetzt.
- Die im Applikator enthaltene Lösung wird in herkömmlicher Weise mit Kornzange und Tupfer 30 s lang durch gleichmäßige Wischbewegungen aufgetragen; anschließend wird die Haut für 29,5 min fortlaufend benetzt.
- Anstelle der im Applikator enthaltenen Lösung wird das iodhaltige Hautantiseptikum Betaseptic® in gleicher Weise wie die im Applikator enthaltene Lösung angewendet.

Durchführung:

- Zunächst werden auf das Schulterareal zwei Schablonen aufgelegt, um die beiden Möglichkeiten für einen chirurgischen Zugang zu simulieren.

- Danach wird ein Metallzylinder auf die Haut aufgesetzt, der mit Kochsalzlösung gefüllt wird. Dann wird die innerhalb des Zylinders befindliche Haut für 60 s mit einem Glasspatel abgerieben und hiervon eine Flüssigkeitsprobe auf Agar kultiviert. In dieser wird nach Bebrütung im Labor die Hautflora quantitativ bestimmt (sog. Vorwert).

- Dann wird die Hautantiseptik wie oben beschrieben durchgeführt.

- 1 min nach Beendigung der Hautantiseptik wird eine weitere Flüssigkeitsprobe, wie zuvor beschrieben, gewonnen (sog. Sofortwert). Analog wird eine weitere Probe nach 3 Stunden genommen.

Zur Selbsteinschätzung Ihrer Haut erhalten Sie einen Fragebogen (Punkt 5 der Probandeninformation zur Einschätzung der subjektiven Empfindungen, Brennen, Jucken und Schmerz mittels Analogskala von 1-10 nach Auftragen des Antiseptikums. In Ergänzung dazu werden ggf. klinisch auftretende Symptome wie Erythem, Schuppung, Papelbildung, Rhagadenbildung und Hautrauigkeit durch den Prüfarzt (Bewertung anhand Analogskala 0-10, ggf. mit Fotodokumentation) erfasst.

3 Belastungen und Risiken durch die Studie

Das Auftragen eines Hautantiseptikums auf gesunde Haut ist nicht mit einem gesundheitlichen Risiko verbunden und ist bezüglich der Hautbelastung weniger aggressiv als eine Seifenwaschung.

Trotz der nicht gegebenen Gesundheitsgefährdung sind Sie auf Grund der bestehenden Betriebshaftpflichtversicherung abgesichert.

6.2 Selbsteinschätzungsbogen zur Hautverträglichkeit

Bewertung der Hautverträglichkeit am Ende der Einwirkzeit, nach 3 h und nach 24 h

Probanden-Nr.:

Einschätzung des subjektiven Empfindens

- 1:** keine Veränderung zu vorher **2:** kaum wahrnehmbar **3:** sehr gering
4: gering, nicht störend **5:** gering, aber störend **6:** mäßig
7: mäßig bis stark **8:** stark **9:** sehr stark
10: unerträglich

Bitte in die zutreffende Spalte ein Kreuz setzen.

Empfinden										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Ende Einwirkzeit</i>										
Brennen										
Jucken										
Schmerz										
<i>Nach 3 h</i>										
Brennen										

Jucken										
Schmerz										
<i>Nach 24 h</i>										
Brennen										
Jucken										
Schmerz										

6.3 Fotodokumentation

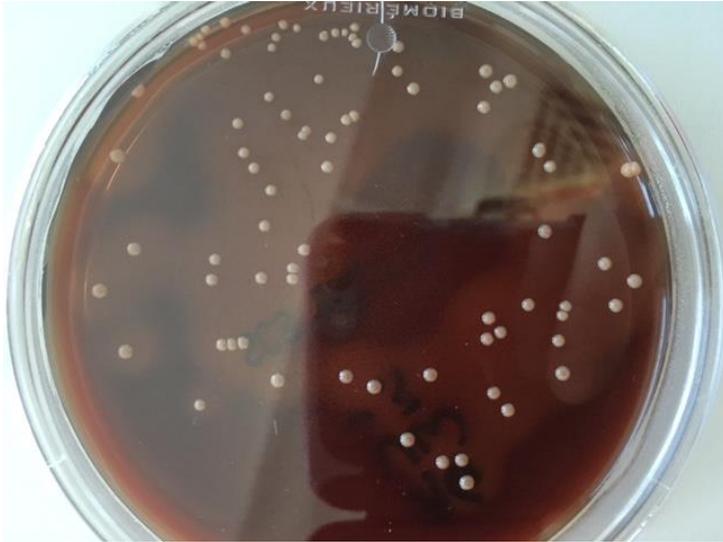


Abbildung 3: anaerobe Flora nach 7 Tagen Kultivierung, mikrobiologisch bestätigt Propionibakterien



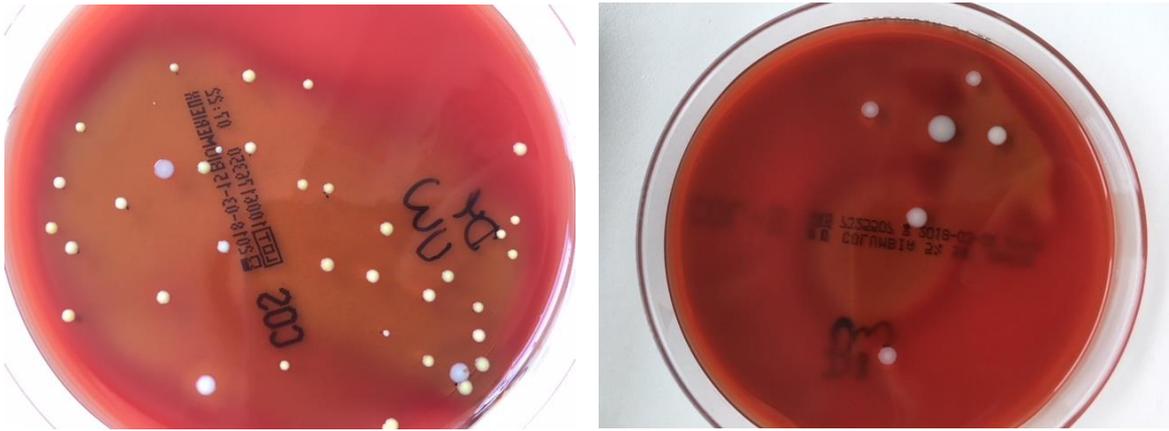


Abbildung 4: aerobe Flora nach 2 Tagen Kultivierung

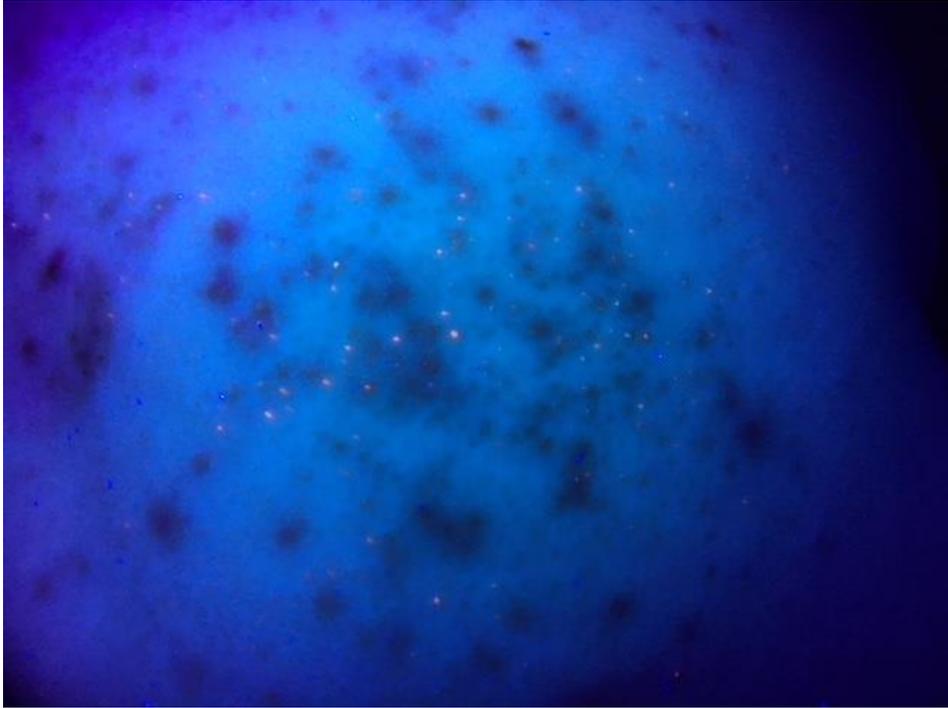


Abbildung 5: Sichtbarmachen der Kolonisation mit Propionibakterien mittels Fluoreszenzlampe

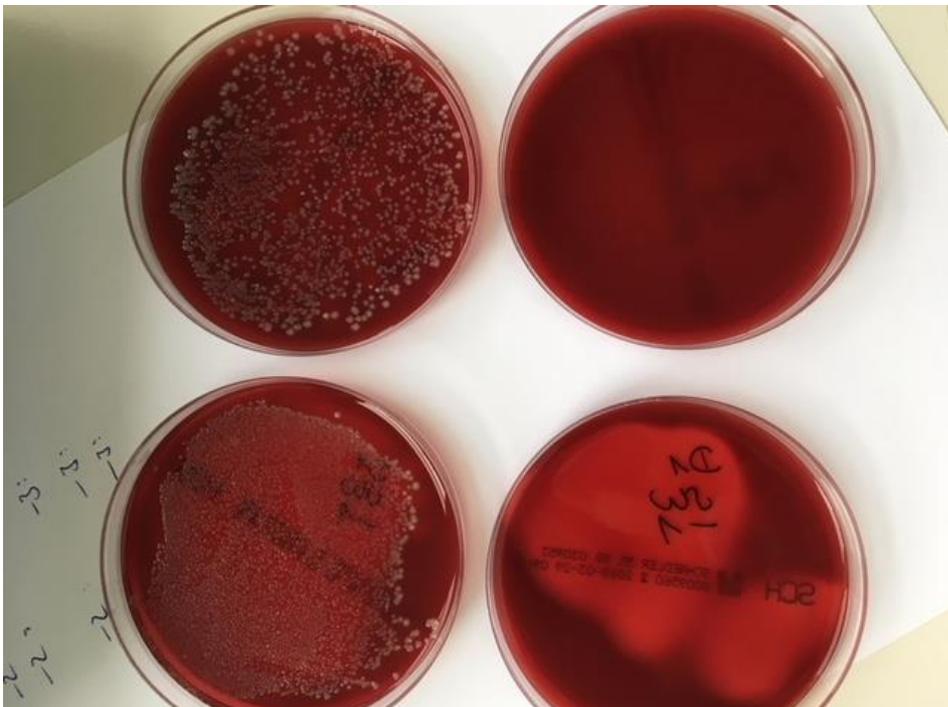


Abbildung 6: Vergleich anaerobe Vorwerte (links) mit anaeroben Sofortwerten (rechts)

7 Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät, keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Greifswald, 01.09.2019

Dorothea Daniela Dörfel

8 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Dorothea Dörfel
Anschrift: Pfarrer-Wachsmann-Str. 7
17489 Greifswald
E-Mail: dorothea.doerfel94@googlemail.com
Geburtsdatum und -ort: 11.09.1994; München
Familienstand: ledig

Schulische Laufbahn:

2001-2007 Grund- und Oberschule Glöwen
2007-2013 Marie-Curie-Gymnasium Wittenberge
Juni 2013 Allgemeine Hochschulreife (Durchschnittsnote 1,0)

Universitäre Laufbahn:

seit Oktober 2013 Studium der Humanmedizin in Greifswald
August 2015 Erstes Staatsexamen Humanmedizin (Durchschnittsnote 1,5)
Seit Juli 2016 Beginn der Dissertation im Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Universitätsmedizin Greifswald (Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. A. Kramer)
Mai-September 2018 Studentische Hilfskraft im Institut für Hygiene und Umweltmedizin der Universitätsmedizin Greifswald
Oktober 2018 Zweites Staatsexamen Humanmedizin (Note 2,0)
Seit November 2018 Praktisches Jahr (Wahlfach Anästhesie) an der Universitätsmedizin Greifswald
März 2019 Teilnahme am Sonographie-Grundkurs Anästhesie II (DEGUM) AFS-Modul 4 und 5 (DGAI) in Greifswald

Vorraus. Nov./Dez. 2019 Drittes Staatsexamen Humanmedizin und Approbation
als Ärztin

Sprachkenntnisse und Sonstiges:

Englisch fließend, schriftlich und mündlich

Französisch Grundkenntnisse, schriftlich und mündlich

Führerschein der Klasse B seit April 2012

Interessen und Hobbys:

Sport (Leichtathletik, Reiten, Wandern), Musik (Klavier), Kochen

Greifswald, 01.09.2019

Dorothea Daniela Dörfel